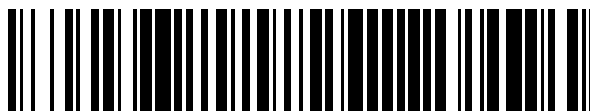


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 424 167**

51 Int. Cl.:

A61K 31/36	(2006.01)	A23K 1/16	(2006.01)
A23C 15/00	(2006.01)		
A23D 7/00	(2006.01)		
A23L 1/24	(2006.01)		
A61K 9/113	(2006.01)		
A61K 31/34	(2006.01)		
A23D 7/005	(2006.01)		
A61K 9/48	(2006.01)		
A61K 9/00	(2006.01)		
A23L 1/308	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.10.2007 E 07829030 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2013 EP 2070532**

54 Título: **Emulsión de aceite/agua/aceite que contiene un compuesto de lignano, y composición que contiene la anterior**

30 Prioridad:

04.10.2006 JP 2006272781

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

27.09.2013

73 Titular/es:

**SUNTORY HOLDINGS LIMITED (100.0%)
1-40, DOJIMAHAMA 2-CHOME, KITA-KU
OSAKA-SHI, OSAKA 530-8203, JP**

72 Inventor/es:

**NISHIUMI, TOSHIHIRO;
ONO, YOSHIKO;
TOMIMORI, NAMINO y
NAKAHARA, KOICHI**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 424 167 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

Emulsión de aceite/agua/aceite que contiene un compuesto de lignano, y composición que contiene la anterior

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a emulsiones aceite/agua/aceite que contienen compuestos de tipo lignano y composiciones que contienen los compuestos; más especialmente, la presente invención se refiere a composiciones que mejoran la cantidad de la absorción corporal de los compuestos de tipo lignano.

10

Antecedente de la invención

Se ha notificado que los compuestos de tipo lignano tienen una variedad de acciones in vivo. Por ejemplo, el documento USP 4427694 divulga la eficacia de la sesamina para aliviar los síntomas de la intoxicación por alcohol y/o de la abstinencia del alcohol y tabaco, y el documento JP 2-138120 divulga la eficacia de sesaminol y episesaminol en el tratamiento y prevención de la alergosis tal como el asma bronquial. Los cesionarios de la aplicación sujeto también confirmaron varias acciones fisiológicas de los compuestos de tipo lignano y, hasta la fecha, han divulgado efectos tales como la acción de disminución del colesterol en sangre (patente japonesa nº 3001589), la acción de inhibición de las enzimas con Δ^5 -insaturación (patente japonesa nº 3070611), la acción de mejora de la función hepática (patente japonesa nº 3075358), disminución del colesterol (patente japonesa nº 3075360), la acción de prevenir el mareo derivado de la bebida (patente japonesa nº 3124062), la acción de inhibir el metabolismo del colesterol y los ácidos biliares, así como de disminución del colesterol (patente japonesa nº 3283274), la acción de supresión de la carcinogénesis (patente japonesa nº 3183664), la acción de supresión del cáncer de mama (JP 05-043458 A), así como la acción de supresión de generación de peróxidos lípidos (JP 05-051388 A), y la acción secuestrante de oxígeno activo (JP 06-227977 A).

25

Sin embargo, los compuestos de tipo lignano son poco solubles en agua y, además, se disuelven únicamente en determinado grado en los disolventes orgánicos que se pueden usar en medicamentos o elementos. Estas sustancias muy poco solubles tienen el problema de no absorberse con facilidad por el cuerpo vivo.

30

Como método para mejorar la absorción corporal de sustancias solubles en grasa, se ha propuesto fabricar micelas más finas de sustancias solubles en grasa (convertirlas en partículas más finas). Esto aprovecha la naturaleza de las sustancias solubles en grasa de que cuanto más pequeño sea el tamaño de sus partículas, más ventajosas resultan en términos de absorción por el tracto digestivo. Para dar un ejemplo específico, el documento JP 2004-196781 A divulga una composición soluble en agua que contiene coenzima Q10 que comprende la coenzima Q10, una poliglicerina específica, monoéster de ácido graso, etc., y que mejora de manera importante la absorción corporal ajustando el tamaño promedio de partícula a 110 nm o inferior. En otro ejemplo, el documento JP 9-157159 A divulga otro ejemplo, una composición que contiene carotenoides que comprende una fase oleosa que tiene carotenoides disueltos en aceite o grasa y que está emulsionada en una fase acuosa que contiene un éster de ácido graso de poliglicerina, lecitina y poli(alcohol hidratado) y donde la absorción corporal de las sustancias muy poco solubles se mejora ajustando el tamaño promedio de las partículas de la fase oleosa hasta 100 nm o inferior.

35

40

Por otra parte, se adopta algunas veces un medio denominado emulsión doble (O/W/O; emulsión aceite-en agua-en aceite) con el fin de mejorar el aroma y la aceptabilidad o suprimir el deterioro de las sustancias solubles en grasa. Específicamente, el documento JP 5-130843 A, por ejemplo, divulga un composición de aceite o grasa emulsionada como aceite-en agua-en aceite que tiene yema de huevo y un sacárido incorporado en una fase acuosa como producto que puede resolver el problema (untuosidad) de la emulsión O/W convencional que solamente tiene yema de huevo incorporada. Además, el documento JP 7-313055 A muestra que si se incorpora un ADN susceptible al deterioro por oxidación a la fase oleosa interna de una emulsión O/W/O, el ADN queda recubierto por la película de la fase emulsionada para garantizar que queda suficientemente protegido contra el deterioro de la calidad para proporcionar un producto que tienen buen sabor y aceptabilidad. Además, el documento JP 2004-97113 muestra que mediante la formación de una emulsión O/W/O de vitaminas solubles en grasa, la actividad de las vitaminas se puede mantener para sobrevivir al almacenamiento durante un periodo de tiempo prolongado.

45

50

55

[Documento de patente 1] USP 4427694
 [Documento de patente 2] JP 2-138120 A
 [Documento de patente 3] Patente japonesa nº 3001589
 [Documento de patente 4] Patente japonesa nº 3070611
 [Documento de patente 5] Patente japonesa nº 3075358
 [Documento de patente 6] Patente japonesa nº 3075360
 [Documento de patente 7] Patente japonesa nº 3124062
 [Documento de patente 8] Patente japonesa nº 3283274
 [Documento de patente 9] Patente japonesa nº 3183664 (JP 04-159221 A)
 [Documento de patente 10] JP 05-043458 A
 [Documento de patente 11] JP 05-051388 A
 [Documento de patente 12] JP 06-227977 A

60

65

[Documento de patente 13] JP 2004-196781 A

[Documento de patente 14] JP 9-157159 A

[Documento de patente 15] JP 5-130843 A

[Documento de patente 16] JP 7-313055 A

5 [Documento de patente 17] JP 2004-97113 A

Divulgación de la invención

Problemas a resolver por la invención

10 Los presentes inventores han realizado estudios destinados a potenciar la absorción corporal de los compuestos de tipo lignano. Y han descubierto por vez primera que cuando una emulsión de aceite-en agua preparada mediante la emulsión en una fase acuosa de una fase oleosa que contiene disuelto un compuesto de tipo lignano se administra por vía oral, el tiempo hasta alcanzar el máximo nivel en sangre ($T_{m\acute{a}x}$) se acortó de forma importante comparado con cuando el compuesto de tipo lignano estaba simplemente disuelto en aceite o grasa (documento PCT/JP 2006/306845). Esta mejora en la velocidad de absorción corporal es especialmente útil en el caso en que el efecto del compuesto de tipo lignano se muestra deseablemente poco después de su ingestión. Por ejemplo, en el caso que se desea la eficacia para prevenir el mareo derivado de la bebida o la eficacia en el secuestro de oxígeno activo.

20 Por otra parte, la investigación de los presentes inventores ha revelado que el medio anteriormente descrito consigue mejorar la velocidad de absorción corporal pero no mejora la cantidad de absorción corporal. Para indicarlo de forma específica, cuando un compuesto de tipo lignano se administra por vía oral en forma de una emulsión de aceite-en agua o como una disolución simple en grasa o aceite, el área bajo la curva (ABC) concentración en sangre-tiempo sigue siendo el mismo (véase el [Ejemplo de referencia] en el presente documento).

25 Por tanto, la presente invención se centra especialmente en la cantidad de absorción corporal de compuestos de tipo lignano y está destinada a conseguir que sea más grande que en la técnica anterior.

Medio para resolver los problemas

30 Los presentes inventores han realizado estudios detallados para mejorar la cantidad de absorción corporal de compuestos de tipo lignano; como resultado, se ha descubierto, de forma sorprendente, que cuando un compuesto de tipo lignano disuelto en la fase oleosa interna de una emulsión O/W/O se administra por vía oral, la cantidad de su absorción corporal se puede mejorar comparada con la técnica anterior. De forma convencional, la doble emulsión se ha llevado a cabo con el fin de mejorar el sabor o la aceptabilidad o para suprimir el deterioro de las sustancias liposolubles y no se sabía de ninguna forma que era capaz de mejorar la absorción corporal de sustancias liposolubles.

40 En resumen, la presente invención proporciona un compuesto de tipo lignano doblemente emulsionado, más particularmente una composición en emulsión O/W/O que tiene al menos un compuesto de tipo lignano disuelto en una fase oleosa interna, así como un método para mejorar la cantidad de absorción corporal de compuestos de tipo lignano mediante una composición de ese tipo.

45 La presente invención también proporciona una composición en emulsión O/W/O que, cuando se administra por vía oral, permite al menos que un compuesto de tipo lignano se absorba con una ABC mayor (preferentemente con una ABC al menos 1,13 veces, más preferentemente al menos 1,25 veces, incluso más preferentemente al menos 1,5 veces, y lo más preferentemente al menos 1,6 veces) que cuando la misma cantidad de compuesto de tipo lignano se disuelve en el mismo aceite o grasa como la fase oleosa interna y se administra por vía oral en las mismas condiciones; la presente invención proporciona además un método para producir dicha composición en emulsión O/W/O.

50 Se puede diseñar un ensayo para comprobar si una composición en emulsión O/W/O determinada (preparación de ensayo) tiene una ABC superior a la de la preparación de referencia, tal como sea adecuado, por cualquier experto en la materia mediante el ajuste de los factores experimentales y otros factores similares.

Breve descripción de los dibujos

60 [FIG. 1] La FIG. 1 es un gráfico que muestra el curso temporal de la suma total de los niveles de sesamina y episesamina (nivel de sesamina + episesamina) en la sangre de ratas a las que se había administrado la composición de la presente invención o una composición comparativa.

[FIG. 2] La FIG. 2 es un gráfico que muestra la cantidad de absorción corporal (ABC) en ratas a las que se había administrado la composición de la presente invención o una composición comparativa.

65 [FIG. 3] La FIG. 3 es un gráfico que muestra el curso temporal de la suma total de los niveles de sesamina y episesamina (nivel de sesamina + episesamina) en la sangre de ratas a las que se había administrado la

emulsión de la presente invención (tamaño de partícula promedio \approx 100 nm) o una composición comparativa.

Mejor forma de llevar a cabo la invención

5 La composición de la presente invención se puede producir mediante un método que comprende las siguientes etapas.

1) disolver al menos un compuesto de tipo lignano en aceite o grasa para preparar un líquido disolvente de compuestos de tipo lignano;

10 2) emulsionar el líquido disolvente de compuestos de tipo lignano en una fase acuosa para formar una emulsión O/W; y

3) emulsionar adicionalmente la emulsión O/W en una fase oleosa para preparar una emulsión O/W/O.

Compuestos de tipo lignano

15 Los compuestos de tipo lignano a utilizar en la presente invención incluyen sesamina, sesaminol, episesamina, episesaminol, sesamolina, 2-(3,4-metilendioxfenil)-6-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-3,7-dioxabicyclo[3,3,0]octano, 2,6-bis-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-3,7-dioxabicyclo[3,3,0]octano, y 2-(3,4-metilenodioxifenil)-6-(3-metoxi-4-hidroxifenoxi)-3,7-dioxabicyclo[3,3,0]octano; estos compuestos se pueden usar bien solos o como una premezcla.

20 Los compuestos de tipo lignano anteriormente mencionados no están en ninguna forma limitados con respecto a su forma, su método de producción, y así sucesivamente. Por ejemplo, se puede usar el extracto de aceite de sésamo obtenido por un método conocido (tal como el método que comprende adición de metanol caliente al aceite de sésamo para extracción, extraer el metanol del extracto, añadir a continuación acetona al residuo para extracción (esté método se ha descrito en el documento JP 4-9331 A)) (conteniendo el extracto una elevada proporción de compuestos de tipo lignano o que se purifica opcionalmente); si se desea, también se puede utilizar aceite de sésamo comercial (en forma líquida). Sin embargo, si se utiliza aceite de sésamo, su aroma característico puede evaluarse a veces como desfavorable desde un punto de vista organoléptico, de forma que se prefiere utilizar el extracto inodoro e insípido de aceite de sésamo que contiene una proporción elevada de compuestos de tipo lignano o bien el producto purificado de ese tipo de extracto. Otro problema con el uso de aceite de sésamo es que el contenido en compuestos de tipo lignano es tan bajo que se pretende incorporar una cantidad preferida de compuestos de tipo lignano, la composición a formular que contiene la emulsión de aceite en agua que contiene el compuesto de tipo lignano debe ingerirse en una cantidad excesiva que podría causar algunos problemas en su ingestión. Por tanto, desde el punto de vista adicional de ingerir solamente una pequeña cantidad de la composición, se prefiere utilizar el extracto de aceite de sésamo que contienen una proporción elevada de compuestos de tipo lignano o bien la forma pura de compuestos de tipo lignano que se han aislado y purificado. Debe señalarse aquí que el extracto de semillas de sésamo y similares que contienen una elevada proporción de compuestos de tipo lignano tienen el buen aroma del sésamo, por lo que si se utiliza en el alimento o bebida para animales de acuerdo con la presente invención, el aroma del sésamo se transmitirá a los mismos.

40 Lo compuestos de tipo lignano también se pueden obtener por síntesis. Los métodos ilustrativos incluyen el método de Beroza y col. para sesamina y episesamina (J. Am. Chem. Soc., 78, 1242 (1956)), así como el método de Freudentberg y col. para pinosresinol (Chem. Ber., 86, 1157 (1953)) y el método de Freudentberg y col. para siringaresinol (Chem. Ber., 88, 16 (1955)).

45 Además, los compuestos de tipo lignano se pueden utilizar en la forma de glicósidos y, además, estos se pueden utilizar bien solos o en combinaciones adecuadas como componentes de la composición.

Composición de tipo emulsión O/W/O

50 De acuerdo con la presente invención, se proporciona una composición en emulsión de tipo O/W/O que contiene un compuesto de tipo lignano. El compuesto de tipo lignano se disuelve en al menos la fase oleosa interna. El compuesto de tipo lignano se puede disolver tanto en la fase oleosa interna como en la fase oleosa externa.

55 La expresión "fase oleosa interna" tal como se usa en el presente documento, significa salvo en un caso especial, la fase oleosa ubicada en la parte más interna de la composición en emulsión O/W/O. La fase oleosa interna algunas veces se denomina como la "fase oleosa más interna". Los ejemplos específicos de la "fase oleosa interna" en la presente invención incluye no solamente el aceite de sésamo y el extracto de aceite de sésamo que contiene una proporción elevada de compuestos de tipo lignano que permanecen disueltos en el aceite de sésamo (concentrado de aceite de sésamo) sino también un extracto de sésamo, así como los compuestos de tipo lignano refinados y otras formas pulverulentas (formas sólidas) de los compuestos de tipo lignano que se disuelven en aceite o grasa.

60 La grasa o el aceite donde se van a disolver los compuestos de tipo lignano no está limitada de ninguna forma completa y aquellos que se pueden añadir a alimentos o compuestos farmacéuticos y pueden disolver los compuestos de tipo lignano se pueden utilizar bien solos o en premezcla con dos o más especies. Los ejemplos específicos incluyen: aceites y grasas naturales como aceite de almendra, aceite de cártamo, aceite de almendra de

albaricoque, aceite de aguacate, aceite de onagra, aceite de germen de trigo, aceite de maíz, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de nuez, aceite de olive, aceite de ricino, aceite de almendra de kukui, aceite de semilla de uva, manteca de cacao, aceite de coco, aceite de soja, aceite de colza, aceite de cacahuete, aceite de arroz, aceite de sésamo, aceite de almendra de palma, aceite de palma, aceite de jojoba, aceite de nuez de macadamia, manteca de karité, manteca de mango, manteca de kokum, aceite de ballena, aceite de sardina y aceite de sepia; y aceites o grasas sintéticos tal como margarina; siempre que el aceite o grasa contenga como un ingrediente principal el diacilglicerol contenido en el aceite de oliva y similares anteriormente mencionados, así como el aceite o grasa que contenga como ingrediente principal el triglicérido de ácido graso de cadena intermedia (MCT) contenido en el aceite de almendra de palma y similares se pueden utilizar, aquellos aceites o grasas que contienen grandes cantidades de ácidos grasos saturados son especialmente preferidos porque no se oxidan fácilmente. Además, no solo las grasas o aceites que son líquidas a temperaturas normales, pero también se pueden utilizar los mezclados con manteca de cerdo, sebo, aceite de pescado hidrogenado, margarina, manteca, en estado semisólido o sólido. Cuando lo compuestos de tipo lignano o el extracto que contiene una elevada proporción de compuestos de tipo lignano se deben disolver, pueden, dependiendo de la necesidad, calentarse para su disolución o tratarse de cualquier otra forma.

La "fase acuosa" tal como se usa en el presente documento, significa salvo en un caso especial, la fase acuosa de la composición en emulsión O/W/O. La "fase acuosa" O/W/O no está limitada de ninguna forma concreta siempre que sea un medio acuoso; los ejemplos incluyen no solo agua y disoluciones acuosas sino también una amplia variedad de bebidas acuosas tales como bebidas comunes tales como bebidas de zumo, bebidas carbonatadas, leche de vaca, leche de soja, bebidas de cereales, café, té verde, etc., y bebidas alcohólicas.

Si se desea, se puede añadir un agente solubilizante a la fase acuosa con el fin de aumentar el contenido porcentual de la fase oleosa interna. Los ejemplos de dicho agente solubilizante incluye propilenglicol, etanol, monosacáridos o disacáridos, y alcoholes de azúcar (por ejemplo, sorbitol, xilitol, y manitol).

El término "fase oleosa" tal como se usa en el presente documento, significa salvo en un caso especial, la fase oleosa ubicada en la parte más externa de la composición en emulsión O/W/O. La fase oleosa puede denominarse algunas veces como la "fase oleosa más externa". Como la "fase oleosa" en la presente invención, se puede utilizar cualquier tipo sin limitación, siempre que sea un aceite o grasa que se pueda añadir a alimentos o medicinas y que pueden emulsionar la fase acuosa donde se ha emulsionado la fase oleosa (emulsión O/W); se puede usar un único tipo de fase oleosa solo, o bien se puede utilizar una pluralidad de tipos en premezcla. Específicamente, se pueden utilizar los diferentes tipos de aceite y grasa que se han descrito anteriormente en la explicación de la "fase interna oleosa".

Para producir el compuesto de tipo lignano que contiene la composición en emulsión O/W/O de la presente invención, se puede utilizar cualquier procedimiento conocido siempre que el compuesto de tipo lignano se disuelva en la fase oleosa interna, pero se prefiere adoptar el método de emulsión en dos etapas. Dentro de aceite o grasa que sirve como fase oleosa, una fase interna en forma de emulsión O/W que se ha preparado preliminarmente de la forma habitual se puede volver a emulsionar para obtener una composición en emulsión de tipo O/W/O. A partir de ahora en el presente documento, se describe el procedimiento para producir la composición en emulsión de tipo O/W/O mediante este procedimiento de emulsión en dos etapas.

[Primera etapa del tratamiento de emulsificación: emulsión O/W]

Para preparar la composición en emulsión O/W/O que contiene el compuesto de tipo lignano de la presente invención, se lleva a cabo la primera etapa del tratamiento de emulsificación para preparar una emulsión O/W.

La primera etapa del tratamiento de emulsificación se inicia preparando un líquido donde se disuelve el compuesto de tipo lignano (la fase oleosa interna). Como ya se ha mencionado un líquido que tiene aceite de sésamo o similar disuelto en su interior se puede utilizar como tal o, alternativamente, se puede añadir un compuesto de tipo lignano en forma pulverulenta al aceite o grasa disolvente y mezclarse, preferiblemente agitarse con calentamiento, de forma que se disuelva en su totalidad. La relación de mezclado entre el compuesto de tipo lignano y el aceite o grasa varía con el tipo de compuesto de tipo lignano y el aceite o grasa disolvente, y se puede ajustar adecuadamente teniendo en cuenta este hecho; por lo general, los compuestos de tipo lignano se disuelven en su totalidad cuando la relación de mezclado (en peso) entre el compuesto de tipo lignano y el aceite o grasa es tal que la relación entre el compuesto de tipo lignano y el disolvente es de aproximadamente 1:15-2000, preferentemente aproximadamente 1:15 a 100.

Mezclando esta fase oleosa interna con la fase acuosa y homogeneizando la mezcla para emulsionarla, se obtiene una emulsión de tipo O/W que tiene gotículas de aceite dispersadas en el agua.

La relación de mezclado (en peso) entre la fase oleosa interna y la fase acuosa se puede ajustar según sea adecuado; por ejemplo, la relación entre la fase oleosa interna y la fase acuosa se puede ajustar a 100:2-200, o alternativamente, a 100:5-50.

Las técnicas físicas para conseguir la homogeneización no están limitadas de forma alguna, y se pueden ilustrar por el método de emulsificación de membrana que usa una membrana porosa, y el método de agitación que utiliza un equipo como un emulsionador agitador, un homogeneizador de alta presión, un emulsionador ultrasónico, un ultramezclador, o un molino coloidal. De acuerdo con la revisión realizada por los presentes inventores, si no se forma una emulsión homogénea, es decir, si la estabilidad de la dispersión de las gotículas de aceite en la emulsión es mala, la ABC puede disminuir a veces. Para obtener una emulsión O/W homogénea, se puede añadir ventajosamente un tensioactivo a la fase acuosa y/o a la fase oleosa interna. Los tensioactivos se pueden seleccionar según sea adecuado para los tipos y cantidades de compuestos de tipo lignano, así como los aceites y grasas; los ejemplos incluyen ésteres de ácido graso de glicerina, ésteres de ácido graso de sacarosa, isobutirato acetato de sacarosa, ésteres de ácido graso de sorbitán, ésteres de ácido graso de propilenglicol, estearil lactato de calcio, saponina de soja, lecitina, proteína de trigo digerida, gelatina, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, goma arábiga, goma xantana, arabinogalactano, dextrina, caseína, y caseína de sodio; estos tensioactivos se pueden utilizar bien solos o en forma de premezcla. Los presentes inventores han confirmado que la composición en emulsión O/W/O se puede obtener mediante el uso de ésteres de ácido graso de glicerina, o bien lecitina de soja descompuesta enzimáticamente y que, en particular, se puede obtener una composición en emulsión O/W/O homogénea cuando se utiliza el éster del ácido decaglicerimonoláurico. [Véase el Ejemplo 1].

El tamaño de particular promedio de las gotículas de aceite en la fase oleosa interna no está limitado en ninguna forma particular siempre que sea eficaz para garantizar que la composición, cuando se administra por vía oral, permita que al menos uno de los compuestos de tipo lignano se absorba con una ABC mayor que cuando la misma cantidad de dicho compuesto de tipo lignano se disuelve en el mismo aceite o grasa que la fase oleosa interna y se administra por vía oral en las mismas condiciones; de acuerdo con la investigación realizada por los presentes inventores para estudiar la velocidad de absorción, se observó una absorción satisfactoria en cada una de las emulsiones con tamaños de partícula promedios de 100 nm, 130 nm, y de 250 nm. Al preparar la emulsión O/W/O mediante el método de emulsión en dos etapas, es importante que el primer sistema emulsionado sea suficientemente estable. Con este fin, se recomienda que las gotículas de aceite en la fase oleosa interna del primer sistema emulsionado tengan tamaños de partícula promedio no superiores a 1000 nm. Además, se prefiere que las gotículas de aceite en la fase oleosa interna se preparen de tal manera que su tamaño de partículas promedio sea inferior al tamaño de poro de la membrana porosa que se utiliza en la etapa de reemulsión. Además, se sabe por lo general que al disminuir el tamaño de partícula, el área superficial aumenta, contribuyendo de esta forma a aumentar la estabilidad electrostática y mejorar la estabilidad de la dispersión. De este modo, para obtener una emulsión homogénea, es también eficaz reducir el tamaño de partículas de las gotículas de aceite que componen la fase de dispersión (es decir, hacerlas más finas). Específicamente, el tamaño de partículas promedio de las gotículas de aceite se pueden ajustar a 1000 nm o menos, preferentemente 500 nm o menos, más preferentemente 300 nm o menos. A 300 nm o menos, la emulsión se puede dejar reposar a temperatura ambiente durante 2 días sin causar la segregación de la fase oleosa, mostrando de esta forma una estabilidad de la dispersión satisfactoria.

La emulsión O/W de la primera etapa se puede producir mezclando la fase oleosa interna con la fase acuosa y homogeneizar la mezcla; para producir una emulsión que contiene las gotículas de aceite finas anteriormente descritas con un tamaño de partículas promedio de 1000 nm o menos, preferentemente 500 nm o menos, más preferentemente 300 nm o menos, se puede emplear una membrana porosa que tiene un tamaño de poro uniforme para llevar a cabo el método de emulsión de membrana o, alternativamente, la emulsión preliminar que consiste en mezclar las fases oleosa y acuosa que pueden ir seguida por un medio de emulsión adicional (emulsión principal) hasta que el tamaño de partícula promedio de las gotículas de aceite queden comprendidas en los intervalos anteriormente mencionados.

El método de emulsificación de membrana es uno donde una membrana porosa se coloca entre un líquido (a) que proporciona una fase dispersa (fase oleosa interna) y un líquido (b) que proporciona una fase continua (fase acuosa) y el líquido (a) se fuerza al interior del líquido (b) a través de la membrana por dicho medio como nitrógeno gaseoso. La membrana porosa puede ser orgánica o inorgánica, siempre que tenga un tamaño de poro uniforme (el término "tamaño de poro uniforme" tal como se usa en el presente documento asume el caso donde el tamaño de poro es tal que el tamaño de poro (ϕ_{10}) para el que el volumen de poros representa el 10% del volumen total, dividido por el tamaño de poro (ϕ_{90}) para el que el volumen de poros representa el 90% del volumen total, sobre la curva de distribución de poros relativa acumulada está comprendida en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 1,5); los ejemplos que se pueden usar incluyen el vidrio poroso basado en $\text{CaO-B}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$ que se ha descrito en el documento JP 62-25618 B, el vidrio poroso basado en $\text{CaOB}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-Na}_2\text{O}$ y el vidrio poroso basado en $\text{CaO-B}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-Na}_2\text{O-MgO}$ que se ha descrito en el documento JP 61-40841 A (USP 4.657.875), y el vidrio microporoso (membrana SPG; membrana de vidrio poroso basado en $\text{CaO-Al}_2\text{O}_3\text{-B}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2$) que se ha descrito en el documento JP 2002-302414 A. El método de emulsificación de membrana, que se sabe que permite el tamaño de partículas a diseñar de acuerdo con el uso específico, es un procedimiento de producción que se puede utilizar ventajosamente en la presente invención. También se debe resaltar que si se utiliza una membrana de vidrio poroso de forma cilíndrica como la membrana porosa, la emulsión O/W también se puede preparar mediante un método tal donde el mientras el líquido (b) circula por el cilindro, el líquido (a) se fuerza se fuerza al interior desde el exterior con un medio tal como gas nitrógeno.

5 El tamaño promedio de los poros se puede seleccionar como el adecuado para el tamaño promedio de las partículas de la emulsión O/W a obtener, y habitualmente es de aproximadamente 0,1-10 μm , preferentemente aproximadamente 0,1-5 μm , y más preferentemente aproximadamente 0,1-0,3 μm . Otra consideración que se puede tomar es que el tamaño de las partículas en la emulsión a formar es generalmente igual al tamaño de poro de la membrana multiplicada por 3,25.

10 El espesor de la membrana porosa no está limitado en ninguna forma concreta, pero es habitualmente de aproximadamente 0,1-1,5 mm. En el método de emulsificación de membrana, la presión necesaria para forzar el líquido (a) se puede configurar según sea adecuado para el tipo de fase dispersa (fase oleosa interna), el tipo de fase continua (fase acuosa), el tipo y concentración del tensioactivo, etc. y es habitualmente de aproximadamente 20 Ka a aproximadamente 5 MPa.

15 La emulsificación por membrana se lleva a cabo preferentemente con calentamiento. Por ejemplo, en la presente invención se puede proporcionar una membrana SPG con tamaños de poro de aproximadamente 0,1-0,2 μm , y el componente de la fase acuosa se deja fluir en uno de sus lados a medida que se calienta; a la vez, el componente de la fase oleosa que compone el compuesto de tipo lignano (fase oleosa interna) se calienta a aproximadamente 80-90 °C y el componente de la fase oleosa calentado se presuriza de forma que se fuerza a la membrana SPG calentada a aproximadamente 80-90°C, de forma que se puede obtener una emulsión O/W (aceite-en-agua) que tiene tamaños de partícula de aproximadamente 0,3-0,8 μm . La emulsión que contiene el compuesto de tipo lignano
20 así obtenido no experimentará ningún cambio con el tiempo, tal como la cristalización de las partículas de la emulsión o la reunión de las partículas entre sí para variar su tamaño de partícula; en otras palabras, la emulsión tiene una estabilidad notablemente buena con el tiempo.

25 En el método de agitación, el equipo que se puede emplear no está limitado de ninguna forma particular siempre que sea capaz de una agitación de alta agitación y los ejemplos específicos incluyen los ya mencionados para el tratamiento de homogeneización y se han ilustrado por equipos tales como un emulsionador agitador, un homogeneizador de alta presión, un emulsionador ultrasónico, un ultramezclador y un molino coloidal. Las condiciones de agitación se pueden configurar según sea adecuado para el tipo y forma del equipo utilizado, así como las propiedades y cantidad del objeto a agitar (la mezcla de las fases oleosa y acuosa), y de forma típica son
30 aproximadamente 10-30 minutos a 5000-30000 rpm, preferentemente a 6000-20000 rpm.

35 En el método que implica el homogeneizador de alta presión, se pueden emplear homogeneizadores capaces de homogeneizar a, por ejemplo, 9,8 MPa (100 kgf/cm²) y superior [incluyendo, por ejemplo, MICROFLUIDIZER (nombre comercial de MIZUHO INDUSTRIAL CO., LTD.) y GORIN HOMOGENIZER (nombre comercial)]. Las condiciones para preparar la emulsión O/W usando estos equipos se puede seleccionar según sea adecuado y se preparan de manera deseable a una presión de, digamos, aproximadamente 9,8-245 MPa (100-2500 kgf/cm²), preferentemente aproximadamente 49-196 MPa (500-2000 kgf/cm²), a temperatura ambiente o con calentamiento opcional.

40 [Segunda etapa del tratamiento de emulsificación: composición en emulsión de tipo O/W/O]

45 Para preparar la composición en emulsión O/W/O que contiene el compuesto de tipo lignano de la presente invención, la primera etapa del tratamiento de emulsificación va seguida de una segunda etapa del tratamiento de emulsificación para preparar una emulsión O/W/O.

En la segunda etapa del tratamiento de emulsificación, la emulsión O/W obtenida en la primera etapa se mezcla con la fase oleosa y se emulsiona a continuación homogeneizando la mezcla, con lo que se obtiene una composición en emulsión O/W/O que tiene las gotículas de la emulsión O/W dispersadas en el aceite.

50 La relación de mezclado (en peso) entre la emulsión O/W y la fase oleosa se puede ajustar de manera adecuada; por ejemplo, la relación entre la emulsión de tipo O/W O y la fase oleosa se puede ajustar a 100:10-1000, o alternativamente, a 100:25-500.

55 Las técnicas físicas para conseguir la homogeneización no están limitadas de forma alguna, y se ilustran por el método de agitación usando un equipo tal como un emulsionador agitador, un homogeneizador de alta presión, un emulsionador ultrasónico, un ultramezclador o un molino coloidal; de forma alternativa, se puede proporcionar un líquido (c) que sirve como fase continua (fase oleosa externa) y la emulsión O/W se va a emulsionar en dicha fase mediante el método de emulsificación de membrana, mediante el que se puede preparar una emulsión O/W/O. Debe resaltarse aquí que el líquido (c) que sirve como la fase oleosa externa puede ser aceite o grasa, al que se puede
60 añadir un compuesto de tipo lignano o cualquier otro aditivo. En el método de emulsificación de membrana, la emulsión O/W previamente preparada se fuerza al interior del líquido (c) mediante el tipo de membrana porosa anteriormente descrita, mediante lo cual se puede obtener una emulsión O/W/O caracterizada por un tamaño uniforme de las partículas de la emulsión. En este caso, se puede utilizar el tipo de membrana porosa anteriormente descrito que tiene un tamaño de poro uniforme; si se va a utilizar una membrana de vidrio poroso como dicha
65 membrana, se debe tomar la siguiente precaución; la membrana de vidrio poroso es hidrófila inherentemente, por lo que en el caso de preparar la emulsión O/W/O, se suele someter a una variedad de tratamientos superficiales de

forma que su superficie se vuelva hidrófoba antes del uso.

El tamaño promedio de los poros se puede seleccionar según sea adecuado para el tamaño promedio de las partículas en la emulsión O/W/O a obtener, y es habitualmente de aproximadamente 0,15-30 mm, preferentemente de aproximadamente 0,3-5 mm, y más preferentemente de aproximadamente 0,5-3 mm. Otra consideración que se puede tener en cuenta es que el tamaño de las partículas de la emulsión a formar es por lo general igual al tamaño de poro de la membrana multiplicado por 3,25.

[Otros aditivos y similares]

Además del compuesto de tipo lignano anteriormente mencionado, aceite o grasa, disolvente acuoso y el tensioactivo, la composición en emulsión O/W/O de la presente invención puede contener, mezclados en la misma vitamina C, vitamina E, d-a-tocoferol, ácido elálgico, ácido eritórbito, eritorbato sódico, sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético, dibutil hidroxitolueno, L-ascorbato de sodio, fenol y similares como antioxidante con el fin de evitar la oxidación. Si es necesario, se puede añadir un edulcorante, un condimento, un agente agrio, un modificador del pH y similares.

En la composición en emulsión O/W/O de la presente invención, el uso de un aceite o grasa de elevado punto de fusión en la fase oleosa contribuye a conseguir una composición con buena retención de la forma, a la vez que el uso de un aceite de elevado punto de fusión en la fase oleosa interna contribuye a conseguir una composición caracterizada por unas supresión del sabor, olor, etc. de la fase oleosa interna.

Usos

La presente invención contribuye a mejorar la capacidad de absorción de los compuestos de tipo lignano en el organismo vivo. De este modo, la composición en emulsión O/W/O de la presente invención se puede utilizar en forma de diferentes composiciones alimenticias o composiciones farmacéuticas orales que se pueden beneficiar de la mejora en la cantidad de absorción de los compuestos de tipo lignano. Las composiciones alimenticias de la presente invención también incluyen aquellas que se encuentran en forma de bebidas. Las composiciones alimenticias de la presente invención se pueden formular como un alimento con reivindicación de nutriente, alimento para un uso sanitario específico, alimento sano, suplemento nutritivo, bebida saludable, cápsula blanda, etc.

La relación (en peso) a la que la composición en emulsión O/W/O de la presente invención se combina con la composición alimenticia o la composición farmacéutica oral se puede seleccionar adecuadamente para el fin de incorporar el compuesto de tipo lignano a una concentración deseada en una cantidad deseada, y puede estar comprendida de aproximadamente 1 a 100 % en peso. Además, la composición alimenticia o la composición farmacéutica oral de la presente invención puede utilizar una variedad de aditivos aceptables, tales como un excipiente, aglutinante, desintegrante, lubricante, agente de revestimiento, agente de suspensión, emulsionante, estabilizante, conservante y tampón.

En la composición farmacéutica de la presente invención, la cantidad de compuesto de tipo lignano como principio activo, la duración de su administración, y el intervalo entre administraciones, se pueden ajustar según sean adecuados al objeto, síntoma, edad y peso corporal específicos del sujeto a tratar, y según otros factores.

El sujeto al que se puede aplicar la composición alimenticia o la composición farmacéutica oral de la presente invención es un ser humano o un animal. El término "animales" se refiere a animales industriales, mascotas, y a animales de laboratorio; específicamente, el término "animales industriales" se refiere a animales que necesitan reproducirse con objetivos industriales, e incluyen animales de granja como ganado vacuno, caballos, suínidos, cabra, oveja, etc., aves de corral tales como pollos, patos, codornices, pavos, avestruces, etc., y peces tales como serviola adulta, alevín de serviola, pargo japonés, jurel del atlántico, carpa, trucha arcoíris, anguilas, etc.; el término "mascotas" se refiere a los denominados animales mascotas o animales de compañía tales como perro, gato, títí, pájaros de pequeño tamaño, hámster, peces de colores, etc.; el término "animales de laboratorio" se refiere a rata, cobaya, sabueso, cerdo en miniatura, mono Rhesus, macaco cangrejero, y otros animales que se someten a investigación en campos tales como medicina, biología, agronomía, farmacia, etc.

Método de evaluación

Si los compuestos de tipo lignano se administran por vía oral de acuerdo con la presente invención, la ABC mejora comparada con el caso donde simplemente se disuelve en grasa o aceite y se administra en las mismas condiciones. Dicha mejora en la capacidad de absorción en el cuerpo se puede evaluar midiendo el nivel de compuestos de tipo lignano en la sangre con el tiempo.

El nivel de compuestos de tipo lignano en la sangre se puede determinar mediante el siguiente procedimiento: la sangre se extrae y se somete a una operación de centrifugado para obtener una muestra de plasma, a la que se añade un patrón interno (por ejemplo, YUDESMIN producido por Funakoshi Corporation); a continuación, la fase sólida se extrae con un agente de empaquetamiento polimérico extractor en fase sólida (por ejemplo, Oasis HLB

producido por Waters Corporation) y el extracto líquido se concentra a vacío; el concentrado se suspende a continuación en metanol, se pasa por un filtro, y se somete a LC-MS/MS para cuantificar los compuestos de tipo lignano.

- 5 En el caso en que se utilice una pluralidad de compuestos de tipo lignano, la suma total de sus niveles sanguíneos se puede representar gráficamente frente al tiempo, y el ABC se puede determinar con fines de evaluación. A la vez que el ABC, se pueden determinar $C_{máx}$ y $T_{máx}$ también.

10 Se debe resaltar aquí que el término tamaño de partículas promedio tal como se usa en el presente documento, significa salvo en casos especiales, el tamaño promedio (el tamaño de partícula que corresponde al 50% de una curva de distribución de mallas apiladas; a veces denominada como el 50% del tamaño de partícula) y esto puede saberse por el método de medida de la distribución de tamaños de partícula mediante dispersión de luz. También se puede adoptar el método de medida de la distribución de tamaños de partícula mediante dispersión de luz dinámica.

- 15 En las páginas siguientes, la presente invención se describe de forma más específica mostrando ejemplos de trabajo y ejemplos comparativos, pero deberá entenderse que la presente invención no está limitada en forma alguna por los siguientes ejemplos de trabajo.

20 [EJEMPLO 1] Producción de una composición en emulsión O/W/O

Una porción de 0,1362 g de sesamina (producto de TAKEMOTO OIL & FAT Co., Ltd.; sesamina/episesamina = 51,1:48,2) se suspendió en 100 ml de aceite de oliva que se había calentado a 80 °C y la suspensión se agitó durante 20 minutos hasta que la sesamina se disolvió uniformemente. A continuación, con el método de emulsificación de membrana que utiliza una membrana hidrófila Shirasu Porous Glass (SPG) (producto de SPG TECHNOLOGY Co., Ltd.; tamaño de poro, 0,2 mm), 12 ml del aceite de oliva donde se había disuelto la sesamina (fase dispersa) se emulsionaron de forma continua en 20 ml de agua pura con un 1,0% en peso de un tensioactivo disuelto en la misma (fase continua), mediante lo cual se obtuvo una composición emulsionada soluble en agua que contenía sesamina (emulsión O/W). En este procedimiento, se aplicó una presión de extrusión de 0,6 Mpa. Adicionalmente, con el método de emulsificación de membrana que utiliza una membrana hidrófoba SPG (producto de SPG TECHNOLOGY Co., Ltd.; tamaño de poro, 1,3 mm), 15 ml de la composición emulsionada soluble en agua que contenía sesamina resultante (fase dispersa) se emulsionaron de forma continua en 15 ml de aceite de oliva que contenía un 1,0% en peso de un éster de hexaglicerina del ácido ricinoleico condensado (SUN SOFT N° 818SK; producto de Taiyo Kagaku Co., Ltd.) disuelto en el mismo (fase continua), mediante lo cual se obtuvieron 30 ml de una composición emulsionada liposoluble que contenía sesamina. En este procedimiento, se aplicó una presión de extrusión de 0,4 Mpa. A resaltar que el SPG (Shirasu Porous Glass) usado en este Ejemplo es un vidrio poroso fabricado con ceniza volcánica shirasu y que tiene una estructura porosa única donde muchos de los poros están entrelazados. Se caracteriza por un tamaño de poro uniforme que se puede controlar. Se utilizaron los siguientes cuatro tipos de tensioactivos para emulsionar la fase dispersa: éster de decaglicerina del ácido monoláurico (SUN SOFT Q-12S), éster de decaglicerina del ácido monomístico (SUN SOFT Q-14S), éster de pentaglicerina del ácido monooleico (SUN SOFT A-171E), y lecitina de soja descompuesta enzimáticamente (SUN LECITHIN A-1), todos ellos comercializados por Taiyo Kagaku Co., Ltd.

45 Las composiciones emulsionadas liposolubles que contenían sesamina así obtenidas se analizaron para comprobar su homogeneidad al microscopio e, independientemente del tensioactivo utilizado, se confirmó que se había formado una emulsión O/W/O. Particularmente en el caso en que se utilizó el éster de decaglicerina del ácido monoláurico, se obtuvo una emulsión O/W/O con un tamaño de partícula pequeño y gran uniformidad.

[EJEMPLO 2] Ensayo de absorción corporal de la sesamina en una emulsión O/W/O

- 50 Entre las emulsiones O/W/O fabricadas en el Ejemplo 1, la emulsión de tipo O/W/O que contiene sesamina producida mediante el uso de éster de decaglicerina del ácido monoláurico como tensioactivo se sometió al ensayo de absorción corporal de la sesamina (muestra de ensayo).

55 Para comparar, 0,1 g de sesamina (producto de TAKEMOTO OIL & FAT Co., Ltd.) se suspendió en 99,9 g de aceite de oliva que se había calentado a 80 °C y la suspensión se agitó durante 20 minutos hasta que la sesamina se disolvió uniformemente (muestra comparativa).

60 Se adquirieron ratas macho SD (IGS) (9 semanas de edad) de CHARLES RIVER LABORATORIES, JAPAN, INC., y se aclimataron en el entorno de ensayo durante una semana; los animales que demostraron un crecimiento normal se sometieron al ensayo. Las ratas, que ayunaron toda la noche, se dividieron en dos grupos, consistente cada uno en 6 animales, y mediante sonda gástrica, se les administró por vía oral la disolución acuosa que contenía el compuesto de tipo lignano finamente dividido como muestra de ensayo, o bien la sesamina disuelta en grasa o aceite de oliva como la muestra comparativa a una dosis de 9 mg/10 ml/kg. A 1, 3, 5, 7, 9 y 24 horas después del inicio de la administración, se extrajo sangre de la vena de la cola de cada animal, se introdujo en un tubo de extracción de sangre heparinizado, y se centrifugó (8000 rpm, 10 min) para obtener muestras de plasma. Después de añadir un patrón interno, la fase sólida se extrajo con Oasis HLB, y el extracto líquido se concentró a vacío; el

concentrado se suspendió en metanol, se pasó por un filtro, y se sometió a LC-MS/MS para cuantificar la sesamina y su isómero, la episesamina. De acuerdo con el método habitual, las cantidades de sesamina y de episesamina se determinaron a partir del cociente entre el área del pico de la sesamina o la episesamina y el área del pico del patrón interno, YUDESMIN (Funakoshi Corporation). Las condiciones del análisis mediante LC-MS/MS se muestran a

5 continuación.
(HPLC)
Columna: Develosil C30-UG-5 (5 μ m, 2,0 ϕ x 50 mm; producto de NOMURA CHEMICAL CO., LTD.)
Fase móvil: A, agua destilada; B, metanol; D, acetato de amonio 100 mM en agua
Caudal: 0,25 ml/min

10 Gradiente: gradiente lineal constituido por 2 minutos con un 55% de fluido B y un 10% de fluido D, seguido por 3 minutos con fluido B cambiando de 55% a 60% pero manteniendo el fluido D al 10%, a continuación 2 minutos con el fluido B cambiando de 60% a 85% pero manteniendo el fluido D al 10%.

(MS/MS)

Modo de medida: seguimiento de la reacción selectiva

15 Detección: sesamina (aproximadamente 5,0 min de tiempo de retención);

ion precursor, m/z = 372 ([M+NH₄]⁺), ion generado, m/z = 233.

: episesamina (aproximadamente 5.4 min de tiempo de retención);

ion precursor, m/z = 372 ([M+NH₄]⁺), ion generado, m/z = 233.

: YUDESMIN (aproximadamente 2.6 min de tiempo de retención);

20 ion precursor, m/z = 369 ([M+NH₄]⁺), ion generado, m/z = 298.

Método de ionización: método ESI

La FIG. 1 muestra el curso temporal de la suma total de los niveles de sesamina y episesamina (nivel de sesamina + episesamina) en sangre. El valor máximo del nivel de sesamina + episesamina en sangre fue de 20 ng/ml en el grupo que ingirió la muestra comparativa, pero de 35 ng/ml en el grupo que ingirió la muestra de ensayo. El tiempo (T_{máx}) hasta el valor máximo (C_{máx}) fue de 5 horas tanto para el grupo que ingirió la muestra comparativa como para el grupo que ingirió la muestra de ensayo. Adicionalmente, la cantidad de absorción corporal (ABC) se determinó a partir de la FIG. 1 y se encontró que era aproximadamente 1,6 veces superior en el grupo que ingirió la muestra de ensayo que en el grupo que ingirió la muestra comparativa.

30 Como se muestra en lo anterior, el grupo que ingirió la muestra de ensayo (la composición de la presente invención) mostró una absorción mejorada de sesamina, sugiriendo por tanto su capacidad para una ingestión eficaz de sesamina.

[Ejemplo de referencia: ensayo de absorción-1>

35

Muestras

Un gramo de sesamina (producto de TAKEMOTO OIL & FAT Co., Ltd.; sesamina/episesamina = 51,1:48,2) se suspendió en 50 g de aceite de oliva que se había calentado a 80 °C y la suspensión se agitó durante 20 minutos hasta que la sesamina se disolvió uniformemente. La disolución resultante se enfrió a aproximadamente 70 °C y se vertió con agitación en una disolución acuosa preparada mezclando y disolviendo 25 g de lecitina descompuesta enzimáticamente (SUN LECITHIN VA-1; producto de Taiyo Kagaku Co., Ltd.; 33,3% de principio activo; obtenida a partir de soja) en 1000 ml de agua que se había calentado a 70 °C, y la mezcla se emulsionó a 6000 rpm durante 15 minutos con Distromix (producto de ATEC JAPAN Co., Ltd.). El líquido emulsionado se mantuvo a 50-60 °C y se procesó con un emulsionador agitador de alta velocidad (CLEAR MIX W-Motion, producto de M Technique) durante 40 minutos con la pieza del rotor girando a 20000 rpm y la pieza del tamiz a 12500 rpm, mediante lo cual se obtuvo una composición emulsionada soluble en agua que contenía sesamina (emulsión aceite-en agua que contiene sesamina) (muestra 1). El tamaño de partícula promedio de la emulsión aceite-en agua que contiene sesamina obtenida se determinó con el analizador de tamaño nanopartícula mediante dispersión de luz dinámica Modelo LB-550 de HORIBA, Ltd. y el resultado fue 97,8 nm.

50

Para comparar, 50 mg de sesamina (producto de TAKEMOTO OIL & FAT Co., Ltd.; sesamina/episesamina = 51,1:48,2) se suspendieron en 50 ml de aceite de oliva que se había calentado a 80 °C y la suspensión se agitó durante 20 minutos hasta que la sesamina se disolvió uniformemente (muestra comparativa).

55

Ensayo de absorción corporal de la sesamina

Se adquirieron ratas macho SD (IGS) (9 semanas de edad) de CHARLES RIVER LABORATORIES, JAPAN, INC., y se aclimataron en el entorno de ensayo durante una semana; los animales que demostraron un crecimiento normal se sometieron al ensayo. Las ratas, que ayunaron toda la noche, se dividieron en dos grupos, consistente cada uno en 4 animales, y mediante sonda gástrica, se les administró por vía oral la emulsión de aceite-en agua que contenía sesamina como la muestra 1, o bien la sesamina disuelta en grasa o aceite de oliva como la muestra comparativa a una dosis de 10 mg/10 ml/kg. A 1, 3, 5, 7, 9 y 25 horas después del inicio de la administración, se extrajo sangre de la vena de la cola de cada animal, se introdujo en un tubo de extracción de sangre heparinizado, y se centrifugó (8000 rpm, 10 min) para obtener muestras de plasma. Después de añadir un patrón interno, la fase sólida se extrajo con Oasis HLB, y el extracto líquido se concentró a vacío; el concentrado se suspendió en metanol, se pasó por un

65

filtro, y se sometió a LC-MS/MS para cuantificar la sesamina y su isómero, la episesamina. De acuerdo con el método habitual, las cantidades de sesamina y de episesamina se determinaron a partir del cociente entre el área del pico de la sesamina o la episesamina y el área del pico del patrón interno, YUDESMIN (Funakoshi Corporation). Las condiciones del análisis mediante LC-MS/MS se muestran a continuación.

5 (HPLC)

Columna: Develosil C30-UG-5 (5 µm, 2,0 φ x 50 mm; producto de NOMURA CHEMICAL CO., LTD.)

Fase móvil: A, agua destilada; B, metanol; D, acetato de amonio 100 mM en agua

Caudal: 0,25 ml/min

10 Gradiente: gradiente lineal constituido por 2 minutos con un 55% de fluido B y un 10% de fluido D, seguido por 3 minutos con fluido B cambiando de 55% a 60% pero manteniendo el fluido D al 10%, a continuación 2 minutos con el fluido B cambiando de 60% a 85% pero manteniendo el fluido D al 10%.

(MS/MS)

Modo de medida: seguimiento de la reacción selectiva

Detección: sesamina (aproximadamente 5,2 min de tiempo de retención);

15 ion precursor, m/z = 372 ([M+NH₄]⁺), ion generado, m/z = 233.

:episesamina (aproximadamente 5,6 min de tiempo de retención);

ion precursor, m/z = 372 ([M+NH₄]⁺), ion generado, m/z = 233.

: YUDESMIN (aproximadamente 2,8 min de tiempo de retención);

precursor ion, m/z = 404 ([M+NH₄]⁺), ion generado, m/z = 249.

20 Método de ionización: método ESI

La FIG. 3 muestra el curso temporal de la suma total de los niveles de sesamina y episesamina (nivel de sesamina + episesamina) en sangre. El valor máximo (C_{máx}) del nivel de sesamina + episesamina en sangre fue de 48 ng/ml en el grupo que ingirió la muestra 1, pero de 20 ng/ml en el grupo que ingirió la muestra comparativa. El tiempo (T_{máx}) hasta el valor máximo (C_{máx}) fue de aproximadamente una hora para el grupo que ingirió la muestra 1 pero de aproximadamente nueve horas para el grupo que ingirió la muestra comparativa. Adicionalmente, la cantidad de absorción corporal (ABC) se determinó a partir de la FIG. 3 y se encontró que no hubo diferencia en la cantidad absorbida.

30 [EJEMPLO 3] Formulaciones
(Preparación 1) Cápsulas

	Gelatina	60,0%
	Glicerina	30,0%
	Paraoxibenzoato de metilo	0,15%
35	Paraoxibenzoato de propilo	0,51%
	Agua	c.s.

Treinta mililitros de una composición emulsionada liposoluble que contenía sesamina al 1% (emulsión O/W/O) se obtuvieron de acuerdo con el método de preparación de muestras descrito en el Ejemplo 1, excepto en que se suspendieron 1,362 g de sesamina (producto de TAKEMOTO OIL & FAT Co., Ltd.; sesamina/episesamina = 51,1:48,2) en 100 ml de aceite de oliva que se había calentado a 80 °C. A continuación, la composición se introdujo en cápsulas blandas de carcasa de gelatina constituida por los ingredientes anteriormente mencionados según un método convencional para preparar cápsulas blandas, pesando cada una de ellas 250 mg. Las cápsulas blandas así preparadas contenían, cada una, 2,5 mg de sesamina.

45 (Preparación 2) Mayonesa

	Yemas de huevo	10
	Cloruro de sodio	16 g
50	Mostaza	25 g
	Pimienta	3 g
	Vinagre	150 cc

Tras agitar completamente los ingredientes anteriormente mencionados, se añadieron 1000 cc de una composición emulsionada liposoluble que contenía sesamina al 0,1% (emulsión O/W/O) y 500 cc de un aceite vegetal comestible se añadieron gota a gota a una fase acuosa con agitación, seguido de homogenización con un agitador para obtener la mayonesa que contenía sesamina

60 (Preparación 3) Mantequilla

Liposoluble que contiene sesamina al 1%

	Composición emulsionada (emulsión O/W/O)	5 g
	Grasa láctea	95 g
65	Acetato de tocoferol	1,2 g

ES 2 424 167 T3

A 95 g de grasa láctea separada de suero de mantequilla durante la etapa de batido de la fabricación de mantequilla, se añadieron, 5 g de la composición emulsionada liposoluble que contenía sesamina al 1% (emulsión O/W/O) y 1,2 g de acetato de tocoferol, y la muestra se trabajó hasta obtener una textura homogénea, proporcionando una mantequilla que contenía la composición de la presente invención.

- 5
(Preparación 4) Margarina
- | | | |
|----|---|---------------|
| 10 | Aceite o grasa vegetal (aceite de soja endurecido mezclado con aceite de algodón) | 72 % en peso |
| | Composición emulsionada liposoluble que contenía sesamina al 1% (emulsión O/W/O) | 10 % en peso |
| | Éster de glicerina de ácido graso | 0,2 % en peso |
| | Leche en polvo desnatada | 0,5 % en peso |
| | Agua | 17 % en peso |
| | Cloruro de sodio | 0,8 % en peso |
- 15 Al aceite o grasa vegetal fundido, se añadieron la composición emulsionada liposoluble que contenía sesamina al 1% (emulsión O/W/O) y el éster de glicerina de ácido graso, y posteriormente la mezcla se agitó, se añadieron gradualmente la leche en polvo desnatada y el cloruro de sodio disuelto en agua, y los ingredientes se agitaron con calentamiento a 50-60°C para formar una mezcla. La mezcla se inactiva para plastificarse, dando como resultado una margarina que contenía la composición de la presente invención.
- 20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición en emulsión O/W/O que tiene al menos un compuesto de tipo lignano disuelto en una fase oleosa interna.
2. La composición en emulsión O/W/O de acuerdo con la reivindicación 1, donde el compuesto de tipo lignano es sesamina y/o episesamina.
- 10 3. La composición en emulsión O/W/O de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde al menos una de la fase oleosa interna, fase acuosa y/o fase oleosa externa contiene un tensioactivo en una cantidad eficaz para emulsión.
- 15 4. La composición en emulsión O/W/O de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde la fase oleosa interna tiene un tamaño de partícula promedio de 1000 nm o inferior (preferentemente 500 nm o inferior, y más preferentemente 300 nm o inferior).
- 20 5. La composición en emulsión O/W/O de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 en forma de una composición alimenticia o una composición farmacéutica oral.
6. Una composición en emulsión O/W/O de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende una fase oleosa interna que está emulsionada en una fase acuosa para fabricar una composición en emulsión O/W que a su vez está emulsionada en una fase oleosa externa, conteniendo la fase oleosa interna al menos un compuesto de tipo lignano.
- 25 7. Una composición en emulsión O/W/O de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene al menos un compuesto de tipo lignano disuelto en una fase oleosa interna en una cantidad clínicamente eficaz, conteniendo opcionalmente dicha composición un tensioactivo en una cantidad eficaz para la emulsificación, dicha composición, cuando se administra por vía oral, potencia que al menos un compuesto de tipo lignano se absorba con un área bajo la curva concentración en sangre-tiempo (ABC) mayor que cuando la misma cantidad de dicho compuesto de tipo lignano se disuelve en el mismo aceite o grasa que la fase oleosa interna y se administra por vía oral en las mismas condiciones.
- 30 8. Un procedimiento para producir una composición que contiene un compuesto de tipo lignano que comprende las siguientes etapas:
- 35 1) disolver al menos un compuesto de tipo lignano en aceite o grasa para preparar un líquido que disuelve el compuesto de tipo lignano;
- 2) emulsionar el un líquido que disuelve el compuesto de tipo lignano en una fase acuosa para formar una emulsión O/W; y
- 3) emulsionar adicionalmente la emulsión O/W en una fase oleosa para preparar una emulsión O/W/O.
- 40 9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, donde el compuesto de tipo lignano es sesamina y/o episesamina.
- 45 10. La composición en emulsión O/W/O de acuerdo con la reivindicación 1 para usar en la mejora de la cantidad de absorción corporal de lo compuesto de tipo lignano.
11. La composición en emulsión O/W/O de acuerdo con la reivindicación 10, donde el compuesto de tipo lignano es sesamina y/o episesamina.

FIG. 1

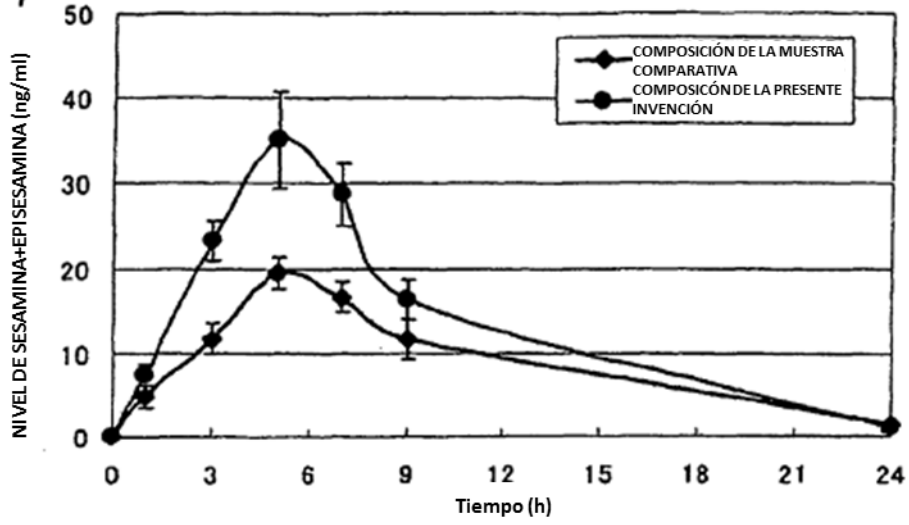


FIG. 2

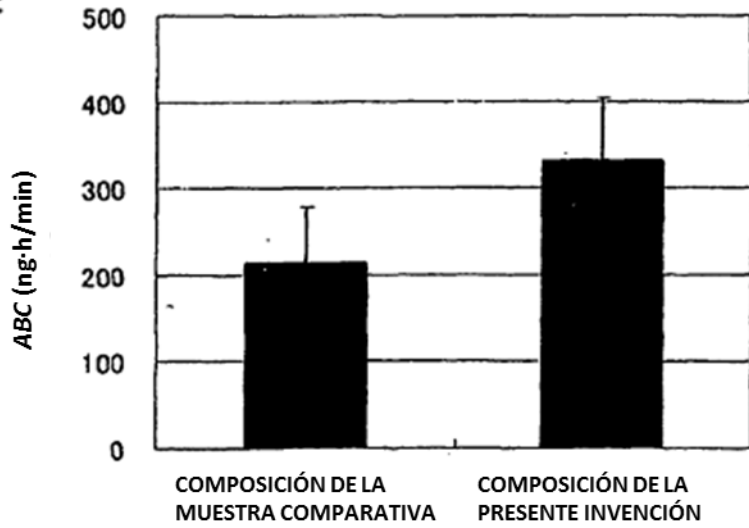


FIG. 3

