

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 533 030**

51 Int. Cl.:

**A23L 1/307** (2006.01)  
**A23L 2/40** (2006.01)  
**A61K 47/48** (2006.01)  
**A61P 3/04** (2006.01)  
**A23L 1/09** (2006.01)  
**A23L 1/22** (2006.01)  
**A23L 1/30** (2006.01)  
**C08B 37/16** (2006.01)  
**C08L 5/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2011 E 11743606 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.12.2014 EP 2547221**

54 Título: **Composiciones que enlazan grasa**

30 Prioridad:

**13.03.2010 US 313734 P**

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

**07.04.2015**

73 Titular/es:

**EASTPOND LABORATORIES LIMITED (100.0%)  
12 Mount Havelock  
Douglas, Isle of Man IM1 2QG, GB**

72 Inventor/es:

**SZENTE, LAJOS**

74 Agente/Representante:

**LAZCANO GAINZA, Jesús**

ES 2 533 030 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).

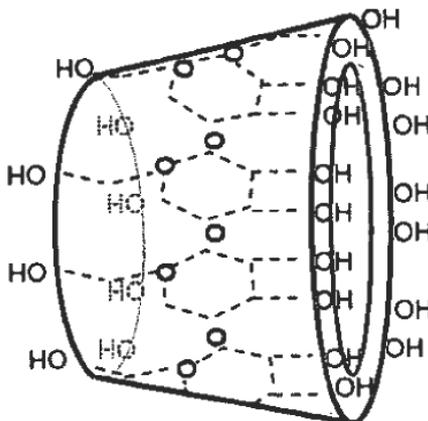
## DESCRIPCIÓN

Composiciones que enlazan grasa

Antecedentes

5 Un complejo de inclusión es un complejo químico formado entre dos o más compuestos, en donde un primer compuesto (también denominado como anfitrión) tiene una estructura que define un espacio en el cual una molécula de un segundo compuesto (también denominado como huésped) encaja y se asocia de manera no covalente con el primer compuesto. El complejo huésped-anfitrión resultante puede ser denominado como un compuesto de inclusión, un aducto o una molécula portadora. La molécula anfitriona puede enlazar a la molécula huésped reversible o irreversiblemente.

10 Las ciclodextrinas son moléculas anfitrionas que pueden formar complejos de inclusión con una variedad de diferentes compuestos huésped. Las ciclodextrinas son carbohidratos que pueden ser preparados a partir de almidón hidrolizado mediante la acción de la glicodextrin-glicosil transferasa, una enzima obtenible a partir de varios organismos tales como *Bacillus macerans* o cepas de *Bacillus* relacionadas. Las ciclodextrinas tienen una estructura de malto-oligosacárido cíclica con 6 o más unidades glucosa enlazadas a través de alfa-1,4. Las ciclodextrinas más comunes son alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina, y gamma-ciclodextrina con 6, 7, y 8 unidades glucosa enlazadas, respectivamente. Bajo condiciones acuosas, las ciclodextrinas pueden ser representadas topológicamente como toroides (como se muestra más abajo esquemáticamente para la gamma-ciclodextrina), con los grupos hidroxilo secundarios de la abertura más pequeña, y los grupos hidroxilo primarios de la abertura más grande, expuestos al solvente circundante. Debido a esta topología, el interior del toroide, a la vez que no es hidrófobo, es considerablemente menos hidrofílico que el ambiente acuoso circundante, y así es capaz de alojar (esto es enlazar) moléculas hidrófobas tales como grasas y ácidos grasos. En contraste, el exterior es suficientemente hidrofílico para impartir a las ciclodextrinas (y a sus complejos de inclusión) solubilidad en agua sustancial.



25 Las amilosas también son moléculas anfitrionas que pueden formar de la misma forma complejos de inclusión con compuestos huéspedes. La amilosa es uno de los dos componentes del almidón (siendo el otro la amilopectina), y pueden incluir cientos de miles de subunidades glucosa. Las moléculas de amilosa tienden a formar hélices, con seis subunidades de glucosa constituyendo una subunidad helicoidal completa. De la misma forma que las ciclodextrinas, la amilosa enlaza ácidos grasos para formar complejos de inclusión.

30 ARTISS ET AL: "The effects of a new soluble dietary fiber on weight gain and selected blood parameters in rats", METABOLISM, CLINICAL AND EXPERIMENTAL, W.B. SAUNDERS CO., PHILADELPHIA, PA, US, vol. 55, no. 2, 1 February 2006 (2006-02-01), páginas 195-202, discute que la  $\alpha$ -ciclodextrina tiene la capacidad de formar complejos con grasa dietaria en el estómago y permanece enlazada a la grasa, con lo cual se evita la absorción de la grasa en el intestino delgado.

35 La US2003/190402 A1 describe el uso de la beta-ciclodextrina para potenciar el sabor de los alimentos formando un complejo con un sabor de la liberación, solubilidad y dispersión controladas del sabor en un producto alimenticio. El complejo con ciclodextrina se agrega a alimentos con grasa reducida o sin grasa.

5 La US 5 532 009A describe composiciones útiles como sustitutos de grasa fortificadas con complejos de beta-caroteno con ciclodextrina, en donde los problemas con color, sabor y estabilidad asociados con dichos carotenoides son minimizados y el beta-caroteno está fácilmente biodisponible. AMBER VYAS ET AL: "Cyclodextrin based novel drug delivery systems", JOURNAL OF INCLUSION PHENOMENA AND MACROCYCLIC CHEMISTRY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DO, vol. 62, no. 1-2, 23 May 2008 (2008-05-23), páginas 23-42 describe las ventajas de formar complejos con agentes saborizantes y aceites volátiles con ciclodextrina, así como el uso de ciclodextrinas como vehículos para fármacos con el fin de incrementar la rata de disolución y la biodisponibilidad. La formación de complejos de inclusión competitiva con terceros componentes, tales como lípidos, para liberar el fármaco incluido está listada como uno de los posibles mecanismos que afectan la absorción y biodisponibilidad.

10 Resumen

La invención está definida en las reivindicaciones anexas. Una bebida u otro producto alimenticio ingerible que contiene una o más moléculas anfitrionas capaces de enlazar moléculas grasas permiten que la molécula anfitriona sea administrada al tracto gastrointestinal de los animales antes de formar un complejo de inclusión con una molécula grasa, de tal forma que la anfitriona pueda entonces enlazar estrechamente moléculas de grasa neutras en el tracto gastrointestinal del animal.

15 Sería deseable utilizar un complejo huésped-anfitrión preformado que incluye una molécula huésped débilmente asociada, de tal manera que la molécula huésped pueda ser reemplazada y/o desplazada por una molécula de grasa. En particular, cuando la molécula huésped débilmente asociada tiene beneficios nutricionales o saludables, o puede potenciar el sabor y/o aroma del producto alimenticio resultante, el producto alimenticio puede servir como un mecanismo de administración para la molécula huésped así como para proveer una anfitriona para enlazar moléculas de grasa, ofreciendo por lo tanto una  
20 multitud de propiedades ventajosas.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 ilustra el grado de agregación de la alfa-ciclodextrina disuelta en agua no carbonatada y agua carbonatada.

La Figura 2 es un diagrama de flujo que ilustra un método para preparar una composición de producto alimenticio de acuerdo con una realización seleccionada de la presente invención.

25 La Figura 3 es un diagrama de flujo que ilustra un método para reducir la grasa absorbida por el tracto digestivo de un animal, de acuerdo con una realización seleccionada de la invención.

Descripción detallada

La presente divulgación provee ejemplos de composiciones que enlazan grasa que incluyen un complejo de inclusión formado entre una molécula huésped y un componente de molécula anfitriona

30 Las composiciones que enlazan grasa pueden tomar la forma de una composición de producto alimenticio, en donde el producto alimenticio incluye un complejo de inclusión huésped-anfitrión de una molécula anfitriona que es una  $\alpha$ - o  $\beta$ -ciclodextrina, y una molécula huésped que es un suplemento dietario, un potenciador de sabor, o un potenciador de aroma. Al consumir el producto alimenticio, dado que la molécula huésped está débil y reversiblemente asociada con la molécula anfitriona, la molécula huésped es reemplazada bajo condiciones fisiológicas por una molécula de grasa que es entonces  
35 enlazada sustancialmente de manera irreversible a la molécula anfitriona.

La composición de producto alimenticio puede incluir una mezcla para la preparación de una bebida. Tal una composición de bebida puede incluir un complejo de inclusión huésped-anfitrión de una molécula anfitriona que es una  $\alpha$ - o  $\beta$ -ciclodextrina, y una molécula huésped que es un suplemento dietario, un potenciador de sabor, o un potenciador de aroma. De nuevo, la naturaleza de la huésped y la anfitriona es seleccionada de manera que la molécula huésped es débil y reversiblemente asociada con la molécula anfitriona, y bajo condiciones fisiológicas después del consumo, la molécula huésped es reemplazada por una molécula grasa que es entonces enlazada de manera sustancial irreversiblemente.

40 Las composiciones de productos alimenticios tales como los descritos más arriba pueden prepararse de acuerdo con un método, tal como se ilustra en el diagrama de flujo 10 de la Figura 2. El método de ejemplo incluye a) combinar la molécula anfitriona y la molécula huésped bajo condiciones adecuadas para formar el complejo de inclusión huésped-anfitrión, en 12; b) purificar y aislar el complejo de inclusión huésped-anfitrión, en 14; y c) combinar el complejo de inclusión huésped-anfitrión purificado con uno o más componentes adicionales para producir una composición de producto alimenticio en 16.

45 Las composiciones de productos alimenticios de la presente divulgación tienen sustancialmente utilidad para evitar que la grasa dietaria sea absorbida por el tracto digestivo del consumidor, y la convierte en un método para reducir la grasa

absorbida. Un método de ejemplo para evitar que la grasa dietaria sea absorbida se ilustra en el diagrama de flujo 18 de la Figura 3, en donde el método de ejemplo incluye: a) preparar un producto alimenticio que incluye un complejo de inclusión huésped-anfitrión de una molécula anfitriona que es una  $\alpha$ - o  $\beta$ -ciclodextrina, y una molécula huésped que es un suplemento dietario, un potenciador de sabor, o un potenciador de aroma, en 20; en donde la molécula anfitriona y la molécula huésped son seleccionadas de tal manera que dentro del tracto digestivo del animal la molécula huésped será liberada sustancialmente de la molécula anfitriona, y la molécula anfitriona formará un segundo complejo de inclusión huésped-anfitrión con una molécula grasa presente en el tracto digestivo; y b) proveer el producto alimenticio preparado a un animal para ingestión subsecuente, en 22; donde la ingestión del producto alimenticio da como resultado que la molécula grasa es sustancialmente enlazada de manera irreversible a la molécula anfitriona, y por lo tanto removida del tracto digestivo.

De utilidad particular son las composiciones de productos alimenticios y mezclas de bebidas como se divulga aquí que incluyen un complejo de inclusión huésped-anfitrión de una molécula anfitriona y una molécula huésped, en donde la molécula anfitriona es una ciclodextrina  $\alpha$ - o  $\beta$ -ciclodextrina, y la molécula huésped es un suplemento dietario, un saborizante, un potenciador de sabor, un componente aromático, o un potenciador de aroma. En particular, estos complejos pueden ser preparados de tal manera que la constante de enlazamiento del complejo de inclusión huésped-anfitrión es aproximadamente  $10\text{-}100\text{ M}^{-1}$ ; y la constante de enlazamiento del complejo de la misma molécula anfitriona y un ácido graso es aproximadamente  $500\text{-}5.000\text{ M}^{-1}$ .

Como se discute aquí, las moléculas anfitrionas son compuestos que enlazan estrechamente moléculas grasas bajo condiciones fisiológicas. Ejemplos de moléculas anfitrionas adecuadas incluyen moléculas de ciclodextrina y/o amilosa. La molécula anfitriona del complejo de inclusión actúa como un anfitrión para la molécula huésped, con la cual se asocia y queda al menos parcialmente dentro de la molécula anfitriona. La molécula huésped puede disociarse de la molécula anfitriona cuando el complejo de inclusión está en un ambiente acuoso, tal como bajo condiciones fisiológicas.

Ejemplos de productos y métodos para utilizar productos que contienen moléculas anfitrionas que enlazan estrechamente moléculas grasas se describen en: LAS Patentes de los Estados Unidos Nos. 6,890,549, 7,105,195, 7,166,575, 7,423,027, y 7,547,459; La publicación de solicitudes de Patente de los Estados Unidos Nos. 2004/0161526, 2007/0116837, 2008/0299166, y 2009/0023682; La solicitud de Patente Japonesa JP 60-094912; Suzuki y Sato, "Nutritional significance of cyclodextrins: indigestibility and hypolipemic effect of  $\alpha$ -cyclodextrin" J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo 1985; 31:209-223); y Szejtli et al., *Stärke/Starch*, 27(11), 1975, pp. 368-376.

La molécula huésped está típicamente asociada sólo débilmente con la molécula anfitriona, y puede también ser denominada como un agente formador de complejo débil. Por ingestión por parte de un animal, la molécula huésped puede disociarse de la molécula anfitriona, dejando por lo tanto una molécula anfitriona libre (esto es, no complejada) que está disponible para enlazar moléculas grasas y entidades químicas relacionadas diferentes a la molécula huésped en el tracto gastrointestinal del animal.

Las composiciones que enlazan grasa divulgadas aquí pueden contener opcionalmente otros componentes, tales como uno o más componentes saborizantes, componentes formadores de carbonatación (para uso en productos formadores de bebidas), y/o componentes nutricionales o potenciadores de sabor adicionales, que pueden o pueden no contener componentes grasos o derivados de grasas. La molécula anfitriona es una alfa-ciclodextrina o beta-ciclodextrina.

La molécula huésped puede incluir aminoácidos, vitaminas, saborizantes, algunos glicósidos, N-alquil-hidroxi-aminas, potenciadores del sabor y el aroma o cualquier otro compuesto adecuado que forme un complejo débil con la molécula anfitriona. El complejo débil resultante permite que la molécula anfitriona se disocie de él y forme complejos selectivamente con un agente químico grado o derivado de grasa antes, durante o después de la ingestión del producto alimenticio, según se desea. La presente divulgación también provee métodos para hacer bebidas y productos alimenticios que contienen estos complejos de inclusión.

Las composiciones de enlazamiento de grasa divulgadas aquí pueden ser provistas en una variedad de formas. Algunas composiciones que enlazan grasa pueden estar en la forma de, o incorporadas dentro de, un polvo sólido, tableta, cápsula, cápsula dura, gránulos, pella, galleta, polvo, polvo para bebida instantánea, polvo efervescente, o tableta efervescente. Algunas composiciones que enlazan grasa pueden estar en la forma de o incorporadas en bebidas acuosas y otros productos alimenticios. Estas composiciones que enlazan grasa pueden incorporar complejos de inclusión que permanecerán razonablemente estables durante el almacenamiento, de tal manera que la molécula anfitriona no se disocia de la molécula huésped y forma un complejo más fuerte con un compuesto hidrófobo, tal como una grasa o un ácido graso, antes de la ingestión por parte de un animal. Si la molécula anfitriona fuera a formar un complejo con un compuesto hidrófobo antes de la ingestión, a entonces la capacidad de la molécula anfitriona para enlazar grasas dentro del tracto gastrointestinal podría estar comprometida, reduciendo por lo tanto sus propiedades beneficiosas. Por ejemplo, algunos compuestos hidrófobos, tales como grasas o ácidos grasos, pueden ser selectiva y específicamente excluidos de la composición que enlazan grasas.

Alternativamente, la composición que enlaza grasas puede incluir pequeñas cantidades de tales compuestos hidrófobos, o puede incluir un complejo de inclusión que está bien físicamente separado de tales compuestos hidrófobos, o es seleccionado de tal manera que no se enlace a ninguno de tales compuestos hidrófobos presentes en la composición que enlaza grasas.

5 Ejemplos no limitantes de composiciones que enlazan grasa incluyen productos alimenticios farináceos, esto es productos alimenticios que contienen almidones derivados de granos de cereales o raíces almidonosas. Productos alimentos farináceos pueden incluir barras nutritivas, tentempiés en barra, cereales para desayuno, gofres, magdalenas, pastas rellenas de fruta, tortillas, hojuelas fritas de maíz, hojuelas de tortillas, tentempiés en galletas, panes, tortas, galletas, postres, etc. Ejemplos no limitantes de composiciones que enlazan grasa en la forma de productos alimenticios no farináceos pueden incluir patatas fritas, témpura, hamburguesas de vegetales, judías refritas, hummus, tahini, patatas fritas en hojuelas, productos lácteos (por ejemplo, leche, crema, pudines, mantequilla, helado, queso, productos de queso procesados, yogurt, productos de yogurt, etc.), productos de huevo y productos de carne (por ejemplo productos de carne de res, cordero, cerdo, aves, marinos preparados, salchichas tipo Frankfurt, tentempiés en rebanadas, salchichas, barras de pescado, dedos de pollo, etc.). Las composiciones que enlazan grasa también pueden estar en la forma de productos de confitería, incluyendo pero no limitándose a goma de mascar, chocolate y caramelos duros tales como piruletas, mentas para el aliento o mentas para después de la comida. Las composiciones que enlazan grasa también pueden estar en la forma de condimentos, incluyendo pero no limitándose a salsas espesas, salsas, aderezos para ensaladas, mayonesa, etc. Todos los anteriores ejemplos de productos alimenticios pueden selectivamente contener grasa, o pueden ser selectivamente bajos en grasa o sin grasa.

20 La presente divulgación también provee métodos para enlazar grasas ingeridas por un animal, tal como un humano. Por ejemplo, algunos métodos pueden incluir (a) preparar una bebida disolviendo un complejo de inclusión formado por una molécula huésped complejada con una molécula anfitriona capaz de disociarse de la molécula huésped y de formar un complejo de inclusión con una molécula hidrófoba cercana, tal como moléculas de grasa, bajo condiciones fisiológicas, y (b) hacer que el animal ingiera oralmente la bebida, con lo cual la molécula anfitriona se disocia de la molécula huésped y se enlaza apretadamente a una molécula hidrófoba cercana, tal como una grasa o un derivado de grasa, antes de que la grasa o el derivado de grasa sea absorbido en el tracto gastrointestinal del animal. La molécula huésped puede incluir uno o más aminoácidos, vitaminas, saborizantes, glicósidos, o N-alquil-hidroxilaminas, dado que exhiben las afinidades de enlazamiento requisito para tener utilidad como moléculas anfitriones según se describe en la presente divulgación.

#### 1. La molécula anfitriona

30 La molécula anfitriona de la invención reivindicada es una  $\alpha$ -ciclodextrina o  $\beta$ -ciclodextrina. De otra parte, realizaciones no reivindicadas de la molécula anfitriona pueden incluir cualquier molécula adecuada que sea capaz de (a) enlazar una molécula huésped para formar un primer complejo de inclusión, (b) disociarse fácilmente de la molécula huésped bajo condiciones fisiológicas, y (c) enlazarse apretadamente a una molécula hidrófoba para formar un segundo complejo de inclusión con una molécula hidrófoba cercana bajo condiciones fisiológicas. Ejemplos no incluyentes de moléculas anfitrionas pueden incluir amilosas, derivados de amilosa, ciclodextrinas (incluyendo, pero no limitándose a, alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina y gamma-ciclodextrina), derivados de ciclodextrina, o cualquier mezcla deseada de amilosas, ciclodextrinas o derivados de ciclodextrina. Se ha determinado que la alfa-ciclodextrina y la beta-ciclodextrina poseen particular utilidad como moléculas anfitriones de acuerdo con la presente divulgación.

40 Si la molécula anfitriona está en la forma de un componente de amilosa, el componente de amilosa puede contener unidades de glucosa expresadas como grado de polimerización (DP) en el rango de DP= 10-900, y más preferiblemente DP= 20-200, y lo más preferiblemente DP= 30-80. Los derivados de amilosa pueden incluir, pero no se limitan a, amilosas acetiladas. El componente de amilosa preferiblemente puede tener una estructura que incluye un enlace alfa-1,4-glicosídico enlazado a D-glucopiranosas en una disposición helicoidal que define una cavidad central para enlazar moléculas hidrófobas, tales como moléculas de grasa. Por ejemplo, la hélice del almidón A y B de la V-amilosa puede incluir una doble hélice paralela orientada hacia la izquierda que define una cavidad central. Las hélices de los complejos de inclusión de amilosa pueden ser estabilizados por las fuerzas hidrófobas creados por la interacción anfitrión-huésped, puentes de hidrógeno intermoleculares entre glucosas en amilosas adyacentes, y puentes de hidrógeno intramoleculares formados por los giros adyacentes de la hélice. Véase Hinrichs, W., et al., "An Amylose Antiparallel Double Helix at Atomic Resolution", Science, (1987), 238(4824): 205-208. Una molécula anfitriona de amilosa puede ser utilizada para formar composiciones que enlazan grasa, en donde la molécula huésped deseada tiene un peso molecular bajo y generalmente es más hidrófoba. Por ejemplo, una molécula anfitriona de amilosa puede ser utilizada para formar un complejo de inclusión con una molécula huésped que tiene un peso molecular bajo, a la vez que es más hidrofílica, tal como los ejemplos no limitantes de saborizantes, colorantes, vitaminas, aminoácidos, y/o aminos.

55 Composiciones que enlazan grasa que contienen moléculas anfitrionas de amilosa pueden incluir diversas concentraciones del componente de amilosa, dependiendo de la forma de la composición que enlaza grasa. Si la composición que enlaza

grasa que contiene una molécula anfitriona de amilosa está en forma sólida, el componente de amilosa preferiblemente puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 10-90% p/p, o aproximadamente 15-70% p/p, o aproximadamente 15-60% p/p. Más preferiblemente, el componente de amilosa puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 10-50% p/p, o aproximadamente 15-40% p/p. Lo más preferiblemente, el componente de amilosa puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 20-25% p/p. Si la composición que enlaza grasa que contiene la molécula anfitriona de amilosa está en la forma de una bebida acuosa, el componente de amilosa preferiblemente puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 0,1-75% p/v, o aproximadamente 1-50% p/v, o aproximadamente 1-25% p/v. Más preferiblemente, el componente de ciclodextrina puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 1-10% p/v. Lo más preferiblemente, el componente de ciclodextrina puede estar presente en un rango de concentración de 5-8% p/v.

Si la molécula anfitriona está en la forma de un componente de ciclodextrina, entonces la ciclodextrina puede ser seleccionada con base en sus propiedades de enlazamiento deseadas con moléculas huésped seleccionadas y con moléculas hidrófobas objetivo. Ejemplos no limitantes de ciclodextrinas aceptables pueden incluir formas comercialmente disponibles y aprobados por las regulaciones gubernamentales de alfa, beta y gamma-ciclodextrinas las cuales están compuestas de seis, siete u ocho unidades de glucosa enlazadas por enlaces  $\alpha$ -(1,4)-glicosídicos en una estructura toroidal que tiene una cavidad. El número de unidades de glucosa determina las dimensiones internas de la cavidad y su volumen. Los compuestos de ciclodextrina son típicamente capaces de formar complejos con diversas moléculas hidrófobas de tal manera que abarquen la molécula, o una parte de la misma, dentro de la cavidad de la ciclodextrina, y por lo tanto influyan en las propiedades físicoquímicas de la molécula huésped complejada. El componente de ciclodextrina puede ser seleccionado de tal manera que forme un primer complejo de inclusión con una molécula huésped seleccionada y, después de la disociación con el agente (tal como en un ambiente acuoso), forme un segundo complejo de inclusión con otras moléculas hidrófobas objetivo, tales como moléculas de grasa derivadas de grasa. Otras propiedades deseadas del componente de ciclodextrina pueden incluir formas altamente agregadas insolubles en agua de complejos de inclusión con ácidos grasos y otros lípidos bajo condiciones fisiológicas con el fin de alcanzar la inmovilización de la grasa.

En general, las ciclodextrinas de cavidad estrecha, tales como la alfa- y beta-ciclodextrinas, son las ciclodextrinas más efectivas para formar complejos con, e inmovilizar, ácidos grasos y glicéridos lineales. Aunque la gamma-ciclodextrina puede ser menos efectiva para la formación de complejos con e inmovilizando ácidos grasos saturados, la gamma-ciclodextrina forma complejos bien con ácidos grasos insaturados (esto es, ácidos grasos que tienen dos, tres o más dobles enlaces en la molécula de ácido graso). Tal como se utiliza aquí, formación del complejo se refiere a una interacción no covalente reversible entre las ciclodextrinas y la molécula huésped, un ajuste dimensional entre la cavidad de la ciclodextrina y la molécula huésped. La cavidad lipofílica de las moléculas de ciclodextrina provee un microambiente para una molécula orgánica geoméricamente compatible hidrófoba y forma un sistema supramolecular protector, estable, denomino aquí como complejo de inclusión. Se forman o rompen enlaces no covalentes durante la formación de un complejo de inclusión.

La principal fuerza impulsora de la formación de complejo se considera ser la liberación de entalpía con el desplazamiento de moléculas de agua desde la cavidad de la ciclodextrina. Las moléculas de agua son desplazadas por las moléculas anfitrionas más hidrófobas presentes en solución para alcanzar una asociación apolar-apolar y un descenso en la tensión del anillo de ciclodextrina que da como resultado compuestos de un estado de energía más baja, estables debido a esta formación de complejo molecular. Para la formación de complejo, debe haber una fuerza que guía la energía neta favorable que empuja la molécula huésped hacia la cavidad de la ciclodextrina. La formación de complejo de la molécula huésped dentro de la molécula anfitriona es un proceso dinámico en solución. La constante de enlazamiento es un parámetro significativo para determinar que también el complejo anfitrión-huéspedes se ajusta bien y el grado de interacciones moleculares específicas, tales como puentes de hidrógeno, interacciones hidrófobas, etc.

En algunas realizaciones, el componente de ciclodextrina seleccionado puede estar compuesto principalmente de alfa-ciclodextrina, o un derivado de alfa-ciclodextrina, a la vista de su adecuabilidad geométrica para formar complejos de inclusión estables con ácidos grasos, así como mono y diglicéridos lineales. Ventajosamente, las alfa-ciclodextrinas en general, forman complejos insolubles con ácidos grasos y glicéridos.

Si la composición que enlaza grasa está en forma sólida, el componente de ciclodextrina puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 10-90% p/p, o aproximadamente 15-70% p/p, o aproximadamente 15-60% p/p. Preferiblemente, el componente de ciclodextrina puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 10-50% p/p, o aproximadamente 15-40% p/p. Más preferiblemente, el componente de ciclodextrina puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 20-25% p/p.

Si la composición que enlaza grasa está en la forma de una bebida acuosa, el componente de ciclodextrina puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 0.1-75% p/v, o aproximadamente 1-50% p/v, o aproximadamente 1-25 % p/v. Preferiblemente, el componente de ciclodextrina puede estar presente en un rango de

concentración de aproximadamente 1-10% p/v. Más preferiblemente, el componente de ciclodextrina puede estar presente en un rango de concentración de 5-8% p/v.

Los derivados de ciclodextrina pueden incluir derivados alquilados, hidroxialquilados, alcoxilalquilados, acetilados, sales de amonio cuaternarias, carboxialquilados, maltosilados, y glucosilados. Los grupos alquilo de los derivados de ciclodextrina pueden ser de cadena recta o ramificados, puede tener longitudes de cadena principal de uno a tres carbonos, y pueden tener un total de uno a seis, y preferiblemente de uno a tres átomos de carbono. Algunos ejemplos no limitantes de derivados de ciclodextrina pueden incluir beta-ciclodextrinas metiladas, beta-ciclodextrinas 2-hidroxipropiladas, polímeros de beta-ciclodextrina solubles en agua, alfa-, beta- y/o gamma-ciclodextrinas parcialmente acetiladas, alfa-, beta-, y/o gamma-ciclodextrinas etiladas, beta-ciclodextrinas carboxialquiladas, sales de amonio cuaternario de alfa-, beta-, y/o gamma-ciclodextrinas, alfa, beta -, y gamma-ciclodextrinas ramificadas (glucosiladas-maltosiladas), así como mezclas de cualquier combinación de estos derivados, juntos con o en combinación con una o más ciclodextrinas. Una mezcla de ejemplo de ciclodextrinas puede incluir una combinación de alfa-, beta- y gamma-ciclodextrina en un rango de relación de peso de aproximadamente 1:1:1 a 2:2:1, respectivamente. La ciclodextrina puede estar en una forma de hidrato cristalino y/o amorfa, incluyendo pero no limitándose a las formas de hidrato y/o amorfas de la alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina, gamma-ciclodextrina, y mezclas de las mismos.

Como se discutió anteriormente, las moléculas anfitriones pueden, en parte, ser seleccionadas con base en su afinidad por moléculas objetivo, tales como moléculas hidrófobas, que están localizadas en un ambiente objetivo, tal como en el tracto gastrointestinal de un animal y que sería deseable que enlazaran e inmovilizaran estas moléculas de tal manera que puedan salir del cuerpo del animal como un residuo sólido. Las moléculas anfitrionas seleccionadas para tal propósito pueden tener preferiblemente constantes de enlazamiento mínimas para el compuesto objetivo en el rango de aproximadamente 500-5,000 M<sup>-1</sup>, más específicamente en el rango de aproximadamente 600-1,000 M<sup>-1</sup>, y de manera preferible aproximadamente 800 M<sup>-1</sup> o más dentro de estos rangos.

## II. La molécula huésped

La molécula huésped puede ser seleccionada para formar un complejo de inclusión con una molécula anfitriona seleccionada, en donde la constante de enlazamiento para el complejo de inclusión es relativamente baja. La molécula huésped puede enlazarse a la molécula anfitriona como una molécula huésped en la cavidad de la molécula anfitriona, y/o puede formar un llamado complejo de esfera externa, en donde la molécula huésped seleccionada se enlaza a la molécula anfitriona en una posición en o alrededor del borde de la cavidad de la molécula anfitriona. Por ejemplo, la molécula huésped seleccionada puede estar enlazada a una molécula de ciclodextrina en o alrededor de los grupos hidroxilo primarios y/o secundarios en los bordes del toro de la ciclodextrina. La molécula huésped puede ser seleccionada de tal manera que se enlace a la molécula anfitriona seleccionada con una constante de enlazamiento en el rango de aproximadamente 10 a 800 M<sup>-1</sup>, preferiblemente 30 a 150 M<sup>-1</sup>, y más preferiblemente 40 a 100 M<sup>-1</sup>. La molécula huésped por lo tanto puede actuar como un marcador de posición en la cavidad de la molécula anfitriona, y puede tener la capacidad de disociarse de la misma, especialmente en un ambiente acuoso, con el fin de permitir que la ciclodextrina se enlace con los componentes grasos y derivados de grasa antes, durante y/o después de la ingestión, según se desee. Además, algunas moléculas huésped que forman un complejo de esfera externa con la ciclodextrina seleccionada pueden reducir o evitar la autoagregación de moléculas de ciclodextrina hidratadas disueltas destruyendo los puentes de hidrógeno intermoleculares que se forman entre dos moléculas de ciclodextrina vecinas en el agua.

En una realización particular de la invención, la constante de enlazamiento del complejo de inclusión huésped-anfitrión es aproximadamente 10-100 M<sup>-1</sup>; y la constante de enlazamiento de un complejo de la molécula anfitriona y un ácido graso es aproximadamente 500-5,000 M<sup>-1</sup>.

Las moléculas huésped pueden incluir aminoácidos, diversas vitaminas, diversos saborizantes y compuestos relacionados, diversos colorantes y compuestos relacionados, algunos glicósidos, y N-alkil-hidroxilaminas, así como combinaciones o mezclas de estos agentes. Estos agentes pueden formar complejos débilmente con la molécula anfitriona de tal manera que tengan la capacidad de disociarse de la misma con el fin de permitir que la molécula anfitriona forme complejo con una un componente grasa o derivado de grasa antes, durante y/o después de la ingestión, si se desea. Moléculas huésped preferidas pueden incluir saborizantes, compuestos relacionados con saborizantes, y vitaminas solubles en agua incluyendo, pero no limitándose a, ácido ascórbico, niacina y niacinamida.

Ejemplos no limitantes de aminoácidos pueden incluir ácido aspártico, arginina, glicina, ácido glutámico, prolina, treonina, teanina, cisteína, cistina, alanina, valina, tirosina, leucina, isoleucina, asparagina, serina, lisina, histidina, ornitina, metionina, carnitina, ácido aminobutírico (isómeros alfa-, beta-, y gamma), glutamina, hidroxiprolina, taurina, norvalina, sarcosina, sales de las mismas, y mezclas de las mismas. También se incluyen los derivados C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> N-alkilo y C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> N-acilados de estos aminoácidos, y mezclas de cualquiera de los aminoácidos o derivados de los mismos.

Ejemplos no limitantes de vitaminas pueden incluir nicotinamida (vitamina B<sub>3</sub>) y clorhidrato de piridoxal (vitamina B<sub>6</sub>), ácido ascórbico, ésteres de ascorbilo comestibles, riboflavina, niacinamida, niacina, piridoxina, tiamina, vitamina B<sub>9</sub>, ácido fólico, folato, ácido pteroil-L-glutámico, pteroil-L-glutamato, sales de los mismos, y mezclas de los mismos.

5 Ejemplos no limitantes de saborizantes pueden incluir saborizantes manzana, albaricoque, plátano, uva, mora, frambuesa, melocotón, pera, piña, ciruela, naranja y vainilla. Ejemplos de compuestos relacionados con saborizantes incluyen acetato de butilo, isovalerato de butilo, butirato de alilo, valerato de amilo, acetato de etilo, valerato de etilo, acetato de amilo, maltol, acetato de isoamilo, etil maltol, isomaltol, diacetilo, propionato de etilo, antranilato de metilo, butirato de metilo, butirato de pentilo y pentanoato de pentilo.

10 Ejemplos no limitantes de potenciadores de sabor y gusto pueden incluir maltol, maltol etilado, inosinato-5'-monofosfato de disodio, 5' guanilato de sodio y/o potasio, glutamato de sodio y/o potasio, L-leucina.

15 Con respecto a saborizantes y compuestos relacionados apropiados, se anota que el Ejemplo 9 más adelante provee los resultados de mediciones de las constantes de enlazamiento aparentes para varios compuestos probados. Estas constantes de enlazamiento parecen ser apropiadas en general para indicar la formación de complejos débiles con ciclodextrinas seleccionadas. Así, es posible que estos compuestos probados sirvan tanto para el propósito de un componente saborizante como molécula huésped, aunque otros compuestos también pueden servir a estos dos propósitos. En este aspecto, un saborizante puede ser seleccionado de tal manera que se enlace débilmente con un componente de ciclodextrina seleccionado con una constante de enlazamiento en el rango de aproximadamente 10 a 800 M<sup>-1</sup>, preferiblemente 30 a 150 M<sup>-1</sup>, y más preferiblemente 40 a 100 M<sup>-1</sup>.

20 Ejemplos no limitantes de colorantes pueden incluir aquellos que son conocidos por ser más solubles en agua y menos lipofílicos. Ejemplos de colorante con esas propiedades son las betalainas, tales como betacianinas y betaxantinas, incluyendo vulgaxantina, miraxantina, portulaxantina e indicaxantina; antocianidinas, tales como aurantinidina, cianidina, delfinidina, europinidina, luteolinidina, pelargonidina, malvidina, peonidina, petunidina y rosinidina, así como las correspondientes antocianinas (o glucósidos) de estas antocianidinas; y colorantes tipo cúrcuma incluyendo curcuminoides fenólicos, tales como la curcumina, desmetoxicurcumina y bisdesmetoxicurcumina. Los colorantes lipofílicos deberían ser evitados porque tienden a evitar el enlazamiento a grasas deseadas formando complejos con las ciclodextrinas.

25 Ejemplos no limitantes de glicósidos pueden incluir rutina y betanina. Con respecto a la betanina, hay que anotar que es un colorante alimenticio glicosídico rojo que puede ser obtenido de las remolachas. Se reporta que la betanina exhibe propiedades antienvjecimiento potenciales, así como que protege contra los radicales libres.

30 Las N-alquil-hidroxilaminas pueden incluir compuestos en donde el grupo alquilo tiene de uno a cuatro átomos de carbono, los siguientes grupos alquilo: metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, 1-metilpropilo, 2-metilpropilo, n-butilo, y t-butilo. N-alquil-hidroxilaminas preferidas incluye N-t-butil-hidroxilamina y N-metil-hidroxilamina. Las N-alquil-hidroxilaminas han sido reportadas por exhibir actividad antioxidante ventajosa, así como efectos antienvjecimiento potenciales según se evidencia por su capacidad de retardar la senescencia de líneas celulares humanas *in vitro*. Atamna, H. et al, J. Biol. Chem., Vol. 275, No. 10, pp. 6741-6748, 2000; Carney et al., (1991), Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 88, pp. 3633-3636. El Ejemplo 10 más adelante describe la producción de un complejo de N-alquil-hidroxilamina/ciclodextrina que tiene una constante de enlazamiento dentro del rango preferido discutido más arriba.

40 Algunos ejemplos no limitantes de moléculas huéspedes pueden incluir uno o más de los siguientes: niacina y derivados de niacina (por ejemplo, niacinamida), vitamina B<sub>6</sub> (por ejemplo, en la forma de piridoxamina, piridoxal o piridoxina), ácido glutámico y sales del mismo (por ejemplo, Na-L-glutamato y ácido L-glutámico), ácido asparagínico (por ejemplo, ácido L-asparagínico), lisina y derivados de lisina (por ejemplo, L-lisina y N-metil-L-lisina), arginina (por ejemplo, L-arginina y N-guanidinometil-L-arginina), prolina (por ejemplo, L-prolina), ácido ascórbico, riboflavina, alanina (por ejemplo, L-alanina), creatina, carnitina (por ejemplo, L-carnitina), taurina, vitamina B<sub>9</sub>, ácido fólico, folato, betanina, rutina, saborizante de manzana, saborizante de albaricoque, saborizante de plátano, acetato de butilo, isovalerato de butilo, butirato de alilo, valerato de amilo, acetato de etilo, valerato de etilo, acetato de amilo y maltol. La molécula huésped también puede incluir derivados C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> N-alquilo y C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> N-acilados de los aminoácidos antes mencionados. Todos los anteriores ejemplos de aminoácidos, vitaminas, saborizantes y compuestos relacionados, glicósidos, y N-alquil-hidroxilaminas también pueden estar en formas de sal o hidrato apropiadas.

50 Con respecto a la taurina, además de ser una molécula huésped con alfa-, beta- y gamma-ciclodextrina, también inhibe la autoagregación de estas ciclodextrinas formando un complejo con las ciclodextrinas que interrumpe la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares entre ciclodextrinas adyacentes. La taurina también puede enlazarse a moléculas anfitrionas de amilosa hasta un grado menor, formando por lo tanto complejos con amilosa que tienen constantes de enlazamiento más bajas que los complejos, con taurina y alfa-, beta- o gamma-ciclodextrinas. La taurina puede ser una molécula huésped efectiva con otras moléculas anfitrionas también.

Nutricionalmente, la taurina ha demostrado evitar el estrés oxidativo inducido por el ejercicio. En un estudio de 2008, la taurina ha demostrado reducir la secreción de apolipoproteína B100 y lípidos en células HepG2. Yanagita et al., "Taurine reduces the secretion of apolipoprotein 8100 and lipids in HepG2 cells, *Lipids in Health and Disease* 2008 Oct 17;7:38. Concentraciones altas de lípidos y apolipoproteína B100 en el suero (un componente estructural esencial de las lipoproteínas VLDL y LDL) son factores de riesgo principales asociados con la aterosclerosis y enfermedades cardíacas coronarias. Por lo tanto, es posible que la suplementación con taurina sea beneficiosa para la prevención de estas enfermedades. En un estudio de 2003, se demostró que la taurina dietaria tenía un efecto hipocolesterolémico (de disminución de colesterol en la sangre) en adultos jóvenes con sobrepeso. Zhang et al., "Beneficial effects of taurine on serum lipids in overweight or obese non-diabetic subjects," *Amino Acids*, 2004 Jun;26(3):267-71. Además, Zhang et al. reportaron que el peso corporal también disminuyó significativamente en el grupo con suplemento de taurina. La taurina también demostró ayudar a las personas con fallo cardíaco congestivo incrementando la fuerza y efectividad de las contracciones del músculo cardíaco. Además, se ha demostrado que es efectiva en la remoción de depósitos de grasa en el hígado en ratas, evitando enfermedades del hígado, y reduciendo la cirrosis en animales probados. También hay evidencia de que la taurina es beneficiosa para presión sanguínea de humanos adultos y posiblemente, el alivio de otros malestares cardiovasculares. Por ejemplo, en pacientes que sufren de hipertensión esencial, la suplementación con taurina dio como resultado un descenso medible en la presión sanguínea. Choi et al., "The effect of dietary taurine supplementation on plasma and liver lipid concentrations and free amino acid concentrations in rats fed a high-cholesterol diet," *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2006; 583: 235-42.

Con respecto a la creatina, funcionalmente este compuesto parece ser una molécula huésped aceptable para las alfa-, beta- y gamma-ciclodextrinas y para la amilosa, aunque la creatina puede ser utilizada como una molécula huésped para otras moléculas anfitrionas también. De la misma manera que la taurina, la creatina inhibe la autoagregación de la ciclodextrina disuelta en agua inhibiendo la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares entre moléculas de ciclodextrina adyacentes. Nutricionalmente, los investigadores han concluido que la suplementación de la dieta con creatina incrementa significativamente la inteligencia en comparación con un placebo. Un estudio subsecuente encontró que los suplementos de creatina mejoraron la capacidad cognitiva en los mayores. Rae et al., 2003 "Oral creatine monohydrate supplementation improves cognitive performance; a placebo-controlled, double-blind cross-over trial," *Proceedings of the Royal Society of London - Biological Sciences*, (2003), 270 (1529): 2147-50; McMorris et al., "Creatine supplementation and cognitive performance in elderly individuals," *Aging, Neuropsychology, and Cognition*, (2007), 14: 517-528.

Si la composición que enlaza grasas está en forma sólida, la molécula huésped puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 1-50% p/p. Preferiblemente, la molécula huésped puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 1-40% p/p o aproximadamente 1-25% p/p. Más preferiblemente, la molécula huésped puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 5-15% p/p.

Si la composición que enlaza grasas está en la forma de una bebida acuosa, la molécula huésped puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 0.1-25% p/v o aproximadamente 1-20% p/v. Preferiblemente, la molécula huésped puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 1-15% p/v o aproximadamente 1-10% p/v o aproximadamente 3-8% p/v. Más preferiblemente, la molécula huésped puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 5-8% p/v.

### III. El complejo de inclusión

Como se anotó anteriormente, el complejo de inclusión puede incluir una molécula anfitriona complejada con moléculas huésped. En la forma de un producto sólido, tal como un polvo sólido o tableta, el complejo de inclusión puede exhibir algunas propiedades únicas en comparación con una composición sólida que contiene esencialmente los mismos componentes, pero sin la formación preliminar del complejo de inclusión. El complejo de inclusión es esencialmente una entidad química que tiene puentes de hidrógeno no covalentes formados entre la molécula anfitriona y la molécula huésped. El complejo de inclusión, en su forma sólida, tiene el potencial de disociarse en la molécula anfitriona para enlazamiento de grasas, y la molécula huésped para otras propiedades beneficiosas, tales como nutrición o sabor, cuando el complejo de inclusión es introducido en un ambiente acuoso, tal como disolución en una bebida acuosa, o por ingestión.

Cuando está en la forma de un producto sólido, la molécula anfitriona y uno o más tipos de una molécula huésped pueden estar sustancialmente en la forma de un complejo de inclusión, como se describe más arriba. Preferiblemente, más de aproximadamente el 25% de la molécula anfitriona está complejada con uno o más tipos de una molécula huésped en la forma de un complejo de inclusión. Es progresivamente más preferible tener por encima de 35%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 95% de la molécula anfitriona complejada. Si el complejo de inclusión está disuelto en un ambiente acuoso, tal como una bebida acuosa, o el ambiente dentro del tracto gastrointestinal de un animal, la molécula huésped puede parcial o completamente disociarse de la molécula anfitriona. Después de la disociación, la molécula anfitriona libre (esto es, no complejada) puede luego enlazarse a moléculas hidrófobas adyacentes, tales como moléculas grasas u otras entidades químicas relacionadas. Como se discute más adelante, la molécula anfitriona y la molécula huésped específicas para un

complejo de inclusión particular, pueden ser seleccionadas con base en su aplicación deseada, la cual puede depender de la afinidad de enlazamiento entre la molécula anfitriona y la molécula huésped. Además, la molécula huésped, la cual puede ser seleccionada para proveer beneficios nutricionales y/o sabor, también puede ser seleccionada con base en su capacidad para reducir o prevenir ventajosamente la autoagregación de las moléculas anfitrionas disueltas, lo cual puede ayudar a mantener las propiedades de enlazamiento de grasa de la molécula anfitriona.

La molécula anfitriona y la molécula huésped seleccionadas para un complejo de inclusión particular, en parte pueden depender de la afinidad de enlazamiento entre la molécula anfitriona y la molécula huésped bajo condiciones seleccionadas, tales como condiciones acuosas y/o fisiológicas. Las afinidades de enlazamiento entre la molécula anfitriona y la molécula huésped pueden ser determinadas experimentalmente. Una manera de determinar estas afinidades de enlazamiento es medir las diferencias en las características observables de la molécula huésped cuando está en la presencia y ausencia de la molécula anfitriona. Por ejemplo, la molécula huésped puede tener una constante de disociación ácida, o pKa, que depende del ambiente de la molécula huésped, y que es mediblemente diferente en la presencia o ausencia de la molécula anfitriona disuelta debido a la formación de complejos de inclusión covalentes. La diferencia medible en el pKa ácido de la molécula huésped puede permitir determinar la constante de enlazamiento exhibida por los complejos de inclusión huésped/anfitrión, *in situ*. Este método de determinación de las constantes de enlazamiento es introducida originalmente por Connors, et al. para describir las constantes de enlazamiento de ácidos aromáticos orgánicos y ciclodextrinas. Véase K.A. Connors et al., J. Pharm. Sci., 65 (3), pp. 379-83, 1976.

Otro método para establecer la afinidad de enlazamiento entre las moléculas anfitrionas seleccionadas y las moléculas huésped seleccionadas involucra un análisis de las propiedades de depresión del punto de congelamiento. Específicamente, la afinidad entre las moléculas anfitrionas y las moléculas huésped como compuestos huésped puede medirse determinado separadamente la presión osmótica de soluciones acuosas diluidas de moléculas anfitrionas, soluciones acuosas diluidas de moléculas huésped separadamente, y una solución que contiene tanto las moléculas anfitrionas como la molécula huésped. Si la presión osmótica medida de la combinación en solución es menor que la suma de las mediciones de las presiones osmóticas de cada componente separadamente en solución, entonces los datos experimentales soportan la conclusión de que algunos complejos de inclusión, entre las moléculas anfitrionas y las moléculas huésped, existen en solución. Esta interacción (entre ciclodextrina y alcoholes) es abordada en Suzuki, M. et al. Chem. Pharm. Bull., 36. p. 720, 1988.

Una vez que las afinidades de enlazamiento de las moléculas anfitrionas por moléculas huésped seleccionadas ha sido determinada para condiciones seleccionadas, tales como condiciones fisiológicas, las afinidades de enlazamiento conocidas pueden ser utilizadas para ayudar con la selección de moléculas anfitrionas óptimas y moléculas huésped para aplicaciones particulares.

La molécula anfitriona y la molécula huésped seleccionada para un complejo de inclusión particular también pueden depender de los beneficios nutricionales y/o beneficios de sabor abordados por la molécula huésped, y con base en la capacidad de la molécula huésped para reducir o evitar ventajosamente la autoagregación de la molécula anfitriona seleccionada. Los beneficios nutricionales y/o de sabor asociados con las diversas moléculas huésped son discutidos más arriba. La capacidad de la molécula huésped seleccionada para inhibir la autoagregación de la molécula anfitriona seleccionada puede ser medible experimentalmente, y puede utilizarse para ayudar con la selección de las moléculas anfitrionas y moléculas huésped óptimas para aplicaciones particulares.

#### IV. Compuestos hidrófobos inaceptables como moléculas huésped

Un efecto beneficioso de la molécula huésped en las composiciones de enlazamiento de grasa divulgadas aquí, es que al formar complejos de una molécula anfitriona con una molécula huésped, la molécula huésped puede actuar como un "marcador de posición" en la cavidad de la molécula anfitriona, de tal manera que por disociación entre ellas en un ambiente apropiado, tal como un ambiente acuoso, la molécula de ciclodextrina puede enlazar selectivamente moléculas hidrófobas, tales como moléculas grasas y entidades químicas relacionadas. Además, la presencia de la molécula huésped en un ambiente acuoso, puede reducir o evitar ventajosamente la autoagregación de las moléculas de ciclodextrina, inhibiendo por lo tanto un descenso en el número de moléculas anfitrionas disponibles para enlazar moléculas hidrófobas. Moléculas huésped aceptables por lo tanto pueden excluir específicamente moléculas que tengan una alta afinidad de enlazamiento por la molécula anfitriona, tales como moléculas hidrófobas que no se disocian fácilmente de la molécula anfitriona en un ambiente acuoso, y/o que pueden no reducir o evitar la autoagregación de las moléculas anfitrionas .

Los compuestos hidrófobos que pueden tener alta afinidad de enlazamiento por las moléculas anfitrionas, y así pueden ser inaceptables como moléculas huésped pueden incluir, pero no se limitan a grasas, ceras, esteroides, monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos, fosfolípidos, ácidos grasos, vitaminas solubles en grasa, aceites esenciales, terpenos y colorantes solubles en grasa tales como carotenoides, etc. Ejemplos no limitantes de ácidos grasos pueden incluir ácido palmítico, ácido esteárico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido oleico y ácidos grasos poliinsaturados, tales como ácidos grasos poliinsaturados alfa-omega, así como sales y ésteres de los mismos. Compuestos hidrófobos adicionales que pueden ser

inaceptables como moléculas huésped pueden incluir: ácidos grasos; ésteres de ácidos grasos derivados de grasas dietarias, tales como grasas animales tales como sebo y mantequilla; grasas vegetales, tales como aceite de coco, aceite de palma, aceite de germen de trigo, aceite de algodón, aceite de soja, aceite de oliva, aceite de maíz, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de cáñamo, y aceite de canola; etc.

- 5 En algunas realizaciones, la composición para enlazamiento de grasas puede ser producida en forma sólida con un complejo de inclusión que tiene una molécula anfitriona y una molécula huésped, y este producto subsecuentemente puede ser incorporado en un producto alimenticio, tal como una barra nutritiva u otro producto alimenticio, en donde el producto alimenticio también contiene uno o más de los compuestos hidrófobos inaceptables anotados más arriba. Estos productos alimenticios, los cuales contienen compuestos hidrófobos inaceptables, no obstante pueden funcionar como composiciones para enlazamiento de grasa, en tanto una proporción sustancial de los complejos de inclusión entre la molécula anfitriona y la molécula huésped permanezca en forma estable en el producto alimenticio sin dar como resultado el reemplazo de la molécula huésped con un compuesto hidrófobo inaceptable antes de la ingestión.

#### V. Componentes de sabor

- 15 Los componentes de sabor pueden incluir azúcares, endulzantes sin azúcar, y/u otros componentes mejoradores del sabor. Ejemplos no limitantes de azúcares pueden incluir miel, sacarosa, fructosa, glucosa, galactosa, ribosa, almidón hidrolizado, y jarabes de maíz, especialmente aquellos con un equivalente de dextrosa de DE 42 y DE 35.

- 20 Ejemplos no limitantes de endulzantes sin azúcar pueden incluir: endulzantes de alta potencia sintéticos, tales como sucralosa, acesulfame de potasio, aspartame, alitame, sacarina, neohesperidina dihidrochalcona, ciclamato, neotame, N-[N-[3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)propil]-L-alfa-aspartil]-L-fenilalanina 1-metiléster, N-[N-[3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-3-metilbutil]-L-alfa-aspartil]-L-fenilalanina 1-metiléster, N-[N-[3-(3-metoxi-4-hidroxifenil) propil]-L-alfa-aspartil]-L-fenilalanina 1-metil éster, sales de los mismos, y similares; y endulzantes de alta potencia de origen natural tales como rebaudiósido A, rebaudiósido B, rebaudiósido C, rebaudiósido D, rebaudiósido E, rebaudiósido F, dulcósido A, dulcósido B, rubusósido, estevia, esteviósido, mogrósido IV, mogrósido V, endulzante de Luo Han Guo, siamenósido, monatina y sus sales (monatina SS, RR, RS, SR), curculina, ácido glicirrízico y sus sales, taumatina, monelina, mabinlina, brazzeína, hernandulcina, filodulcina, glicifilina, floridzina, trilobatina, baiyunósido, osladina, polopodósido A, pterocariósido A, pterocariósido B, mukuroziósido, plomisósido I, periandrina I, abrusósido A, y ciclocariósido I.

- 30 Ejemplos no limitantes de moléculas huésped que pueden funcionar como potenciadores de sabor, o agentes potenciadores de sabor, incluyen aditivos polioles tales como eritritol, maltitol, manitol, sorbitol, lactitol, xilitol, inositol, isomaltol, propilen glicol, glicerol (glicerina), treitol, galactitol, palatinosa, isomaltooligosacáridos reducidos, xilooligosacáridos reducidos, gentiooligosacáridos reducidos, jarabe de maltosa reducido y jarabe de glucosa reducido.

- 35 Otros todavía adicionales no limitantes de componentes de sabor pueden incluir uno o más de los saborizantes listados más arriba y compuestos relacionados que son descritos como moléculas huésped útiles. Estos saborizantes y compuestos relacionados pueden servir para la función dual de proveer una molécula huésped y proveer sabor. También, estos saborizantes y compuestos relacionados pueden ser combinados opcionalmente con cualquiera de los componentes de sabor discutidos más arriba.

Algunos componentes de sabor preferidos pueden incluir xilitol, fructosa, sorbitol, jarabe alto en fructosa, y jarabe de maíz en la forma de jarabe de maíz con equivalente de dextrosa (DE) bajo.

- 40 Si la composición para enlazamiento de grasas está en forma sólida, el componente de sabor puede estar presente en un rango de concentración general de aproximadamente 1-40% p/p, o aproximadamente 1-25% p/p. Preferiblemente, el componente de sabor puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 2-10% p/p. Más preferiblemente, el componente de sabor puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 3-5% p/p. Además, hay que anotar que si el componente de sabor incluye una cantidad significativa de un endulzante de alta potencia, la cantidad de este tipo de endulzante presente en la composición para enlazamiento grasa puede ser inferior a 1% p/p, y puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 0.1% p/p o menos si se exhiben propiedades de endulzamiento aceptables.

- 50 Si la composición para enlazamiento de grasa está en la forma de una bebida acuosa, el componente de sabor puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 1-25% p/v, o aproximadamente 1-15% p/v. Preferiblemente, el componente de sabor puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 1-10% p/v, o aproximadamente 1-5% p/v. Además, si se usa un endulzante de alta potencia, la concentración puede ser inferior a 1% p/v, y puede estar presente en el rango de una cantidad de aproximadamente 0.01-0.1% p/v o inferior, si se exhiben propiedades de endulzamiento aceptables.

## VI. Componentes formadores de carbonatación

Algunas composiciones para enlazamiento de grasa pueden incluir componentes formadores de carbonatación que producen carbonatación, o efervescencia, por disolución de la composición para enlazamiento de grasa en un ambiente acuoso. Como se discute más adelante, los componentes formadores de carbonatación pueden inhibir ventajosamente la autoagregación de las moléculas anfitrionas disueltas, incrementando por lo tanto el número de moléculas anfitrionas disponibles para enlazamiento de moléculas hidrófobas.

Se ha demostrado experimentalmente que la alfa-ciclodextrina exhibe menos agregación en agua carbonatada que en agua no carbonatada. Soluciones acuosas de alfa-ciclodextrina (2% p/v) disueltas en agua del grifo normal y en agua carbonatada (una imitación efervescente), fueron preparadas bajo condiciones idénticas. Estas soluciones fueron sometidas entonces a dispersión de luz láser para determinar la distribución del tamaño de las partículas en cada solución. La Figura 1 muestra una comparación entre las distribuciones de tamaño de partícula de alfa-ciclodextrina disuelta en agua no carbonatada (mostrada en círculos abiertos) y agua carbonatada (mostrado en diamantes rellenos). Como puede verse en la Figura 1, la mayor parte de las partículas de ciclodextrina en agua de grifo no carbonatada tiene un tamaño de aproximadamente un micrón (1000 nm, como se muestra en el pico más a la derecha), mientras que las partículas de ciclodextrina en agua carbonatada tienen un tamaño significativamente menor de generalmente menos de 0.5 micrones (500 nm, como se muestra en el pico más a la izquierda). Este experimento muestra que la agregación de las moléculas de ciclodextrina es reducida significativamente en agua carbonatada en comparación con agua no carbonatada. Las moléculas de ciclodextrina en forma menos agregada incluyen probablemente más sitios de enlazamiento disponibles para la formación de complejos. Este experimento provee así evidencia que es consistente con una conclusión de que la carbonatación permite la disponibilidad de más sitios de enlazamiento en la ciclodextrina para formar complejos con grasas. Además, las composiciones para enlazamiento de grasas que incluyen compuestos formadores de carbonatación pueden ser más efectivas para enlazar grasas debido al efecto de la carbonatación de inhibir la agregación.

Con respecto al enlazamiento de grasas por las composiciones anteriores, hay dos factores que incrementan la efectividad de evitar la ingestión de moléculas hidrófobas objetivo (moléculas de grasa) por parte del animal. Primero, está la constante de enlazamiento relativamente alta deseada que indica el enlace estrecho y fuerte entre la molécula anfitriona y la de grasa. En segundo lugar, está la encapsulación deseada de la molécula de grasa por una o más de las moléculas anfitrionas. En el caso de las moléculas anfitrionas de ciclodextrina, es deseable tener dos o tres moléculas anfitrionas enlazadas a una molécula de grasa para encapsularla más completamente. La molécula de grasa típicamente será relativamente larga en comparación con la ciclodextrina, y por eso es que tener dos o tres de estas ciclodextrinas enlazadas a una molécula de grasa individual es deseable. Incrementando la encapsulación de la molécula de grasa, hay una probabilidad mayor de que la molécula de grasa no sea absorbida en el tracto gastrointestinal del animal, y por lo tanto saldrá del cuerpo del animal como un sólido microcristalino o amorfo en los residuos sólidos del animal.

Ejemplos no limitantes de los componentes que forman carbonatación pueden incluir carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, carbonato de potasio y bicarbonato de potasio. Los componentes formadores de carbonatación preferidos pueden incluir carbonato de sodio, y bicarbonato de sodio.

Si la composición para enlazamiento de grasa está en forma sólida, el componente formador de carbonatación puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 1-60% p/p o aproximadamente 5-60% p/p. Preferiblemente, el componente formador de carbonatación puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 5-45% p/p o 10-45% p/p. Más preferiblemente, el componente formador de carbonatación puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 10-15% p/p.

Si la composición para enlazamiento de grasa está en la forma de una bebida acuosa, el componente formador de carbonatación puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 1-30% p/v o aproximadamente 1-25% p/v. Preferiblemente, el componente formador de carbonatación puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 2-15% p/v o 2-10% p/v. Más preferiblemente, el componente formador de carbonatación puede estar presente en un rango de concentración de aproximadamente 2-5% p/v

## VII. Otros componentes

Algunas composiciones para enlazamiento de grasa pueden incluir aún otros componentes que afectan el sabor y/o valor nutricional de la composición. Estos componentes adicionales pueden incluir, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes: aditivos para sabor, ingredientes nutricionales y/o diversos hidroxil ácidos que actúan como aditivos que previenen la agregación de la molécula anfitriona en las formulaciones. Ejemplos no limitantes de tales otros componentes pueden incluir ácido cítrico, ácido ascórbico, cloruro de sodio, cloruro de potasio, sulfato de sodio, citrato de potasio, cloruro de europio ( $\text{EuCl}_3$ ), cloruro de gadolinio ( $\text{GdCl}_3$ ), cloruro de terbio ( $\text{TbCl}_3$ ), sulfato de magnesio, alúmina, cloruro de magnesio, maltodextrina, sales de sodio o potasio mono, di, tribásicas del ácido fosfórico (por ejemplo, fosfatos inorgánicos),

5 sales de ácido clorhídrico (por ejemplo, cloruros inorgánicos), bisulfato de sodio. Ejemplos no limitantes de hidroxil ácidos que evitan la agregación de la ciclodextrina pueden incluir ácido isocítrico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido málico, ácido treónico, sales de los mismos y mezclas de los mismos. Estos hidroxil ácidos también pueden exhibir algunos beneficios nutricionales. Otros ejemplos no limitantes de componentes opcionales adicionales, tales como aditivos para el sabor, que pueden ser utilizados incluyen sales orgánicas adecuadas, tales como cloruro de colina, sal de sodio del ácido alginico (alginato de sodio), sal de sodio del ácido glucoheptónico, sal de sodio del ácido glucónico (gluconato de sodio), sal de potasio del ácido glucónico (gluconato de potasio), guanidina HCl, glucosamina HCl, amiloride HCl, glutamato de monosodio (MSG), sal de monofosfato de adenosina, gluconato de magnesio, tartrato de potasio (monohidratado), y tartrato de sodio (dihidratado).

10 Otro componente que puede ser incluido en algunas composiciones para enlazamiento de grasas es una lipasa. Las lipasas animales se utilizan convencionalmente en productos farmacéuticos digestivos. Ejemplos no limitantes de lipasas pueden incluir lipasa pancreática, lipasa lisosómica, lipasa hepática y lipasa lipoproteína. Las lipasas funcionan para escindir los triglicéridos en glicerol y ácidos grasos libres, los cuales son más fácilmente enlazados por ciertas moléculas anfitrionas. Esta actividad lipolítica puede ser incluida, por ejemplo, en composiciones para enlazamiento de grasas que contienen  
15 ciclodextrina para mejorar la eficacia de la composición para enlazamiento de grasa, porque las ciclodextrinas se enlazan primariamente a los ácidos grasos libres escindidos, y tienden a enlazarse menos a los ácidos grasos esterificados con glicerol no escindidos. Véase Kashino et al., "Interaction of cyclodextrins with oily substances," Nippon Kasei Gakkaishi, 56(8), 533-539 (Japonés) 2005. Kashino et al., estudiaron el enlazamiento con ciclodextrina de colesterol y trioleína, así como de ácido láurico, mirístico, palmítico, esteárico y oleico con alfa-ciclodextrina. Se encontró que la alfa-ciclodextrina no se enlaza significativamente al colesterol o trioleína, pero se enlaza al ácido oleico. La beta-ciclodextrina se enlaza significativamente al colesterol, aunque la cantidad de beta-ciclodextrina involucrada fue baja, obedeciendo a la pobre solubilidad en agua. Se encontró que la gamma-ciclodextrina enlaza significativamente el ácido oleico, el colesterol y la trioleína.

Otros componentes preferidos pueden incluir, por ejemplo, ácido cítrico, ácido ascórbico, y maltodextrina.

25 Si la composición para enlazamiento de grasas está en forma sólida, el uno o más otros componentes pueden estar cada uno presentes en un rango de concentración de aproximadamente 1-30% p/p o aproximadamente 1-25% p/p. Preferiblemente, el uno o más otros componentes pueden estar presentes cada uno en un rango de concentración de aproximadamente 1-20% p/p o 1-15% p/p. Más preferiblemente, el uno o más otros componentes pueden estar presentes cada uno en un rango de concentración de aproximadamente 2-5% p/p.

30 Si la composición para enlazamiento de grasas está en la forma de una bebida acuosa, el uno o más otros componentes pueden estar presentes en un rango de concentración de aproximadamente 1-20% p/v o aproximadamente 1-15% p/v. Preferiblemente, el uno o más de otros componentes pueden estar presentes en un rango de concentración de aproximadamente 1-10% p/v o 1-5% p/v. Más preferiblemente, el uno o más otros componentes pueden estar presentes en un rango de concentración de aproximadamente 1-3% p/v.

### 35 VIII. Relaciones entre componentes

Además de las descripciones anteriores con respecto con los tipos y cantidades de los diversos componentes que pueden ser empleados en la composición para enlazamiento de grasas divulgada aquí, se anota adicionalmente que también se pueden describir las cantidades relativas de estos componentes. Preferiblemente, la relación en peso de la molécula anfitriona a la molécula huésped puede estar en el rango de aproximadamente 5:1 a 1:10, más preferiblemente puede estar  
40 en el rango de aproximadamente 2:1 a 1:5, todavía más preferiblemente puede estar en el rango de aproximadamente 2:1 a 1:2, y aún más preferiblemente puede estar en el rango de aproximadamente 1:1 a 1:2.

Con respecto a otros posibles componentes, tales como componentes de sabor, componentes formadores de de carbonatación, y otros componentes descritos más arriba, la relación en peso de la molécula anfitriona a cada uno de los otros componentes separadamente puede estar en el rango de aproximadamente 25:1 a 1:25, o aproximadamente 10:1 a 1:10, o aproximadamente 5:1 a 1:5, o de manera opcional aproximadamente 2:1 a 1:2, así como 1:1.  
45

### IX. Procesos para formación del complejo de inclusión

El complejo de inclusión de la molécula anfitriona y la molécula huésped pueden formarse empleando diversos métodos.

Algunos métodos de ejemplo para la formación de complejos de inclusión pueden incluir la combinación de la molécula anfitriona y la molécula huésped en una solución saturada, y calentando la solución a una temperatura en el rango de  
50 aproximadamente 50-60°C. En algunos casos, la solución también puede contener un cosolvente además del agua, tal como un alcohol de cadena corta. Ejemplos no limitantes de cosolventes pueden incluir etanol, isopropanol, acetona,

acetato de etilo, etc. El tiempo de reacción para formar el complejo de inclusión puede tomar unas pocas horas, y algunas veces entre aproximadamente cuatro a ocho horas. La solución saturada puede ser entonces para producir la cristalización del complejo de inclusión. El producto cristalino puede ser aislado por filtración y centrifugación. La filtración puede ser llevada a cabo mediante filtración por capa de membrana bajo vacío, filtración por cartucho bajo presión, o filtración a través de filtros de vidrio sinterizado, etc., seguida por una etapa de lavado, como se discute más adelante. El producto cristalino puede ser secado entonces hasta un peso constante. Si se seca al aire, el producto puede tener un tamaño de partícula relativamente grande en el rango de aproximadamente 250-750 micrones, por ejemplo. Alternativamente, el producto cristalino puede ser secado sobre un desecante apropiado, tal como  $P_2O_5$  o KOH, o secado en un secador de microondas, a temperatura ambiente para formar un polvo fino que puede tener un tamaño de partícula promedio menor de aproximadamente 200 micrones. Como otra alternativa, el producto cristalino puede ser secado en un horno al vacío a una temperatura elevada, tal como en el rango de aproximadamente 60-70°C, para formar un polvo fino.

Una ventaja de estos procesos de ejemplo es una baja cantidad de molécula huésped no enlazada adsorbida, debido a una etapa de lavado después de la filtración. El producto deseado es un polvo sólido que sustancialmente constituye un complejo de inclusión huésped-anfitrión apropiado con poca o ninguna molécula huésped no enlazada adsorbida a las moléculas anfitrionas. Los complejos de inclusión húmedos filtrados pueden ser lavados con dioxano o n-hexano o dietiléter fríos (por ejemplo, 4°C) para remover cualquier molécula huésped enlazada a la superficie. El producto de este método también puede exhibir propiedades cristalinas deseadas y ventajosamente propiedades de sorción de humedad baja, de tal manera que el contenido de humedad en equilibrio de los complejos de inclusión sólidos producidos puede variar solamente entre aproximadamente 4-8 por ciento en peso. En algunos casos, puede obtenerse un complejo ternario en donde las moléculas de solvente juegan un papel en el mantenimiento de la molécula huésped en la cavidad de la ciclodextrina. Estos procesos pueden tomar aproximadamente 24-48 horas, y pueden requerir el uso de cantidades significativas de solvente y/o energía. También, estos procesos pueden estar limitados a procesos para formar complejos de inclusión que contienen moléculas huésped que no son susceptibles de descomposición a la temperatura de reacción empleada. Estos tipos de procesos pueden no ser preferidos para la formación de complejos de moléculas huésped con derivados de ciclodextrina altamente solubles, tales como beta-ciclodextrinas metiladas, beta-ciclodextrinas 2-hidroxipropiladas y polímeros de beta-ciclodextrina solubles en agua.

Otros ejemplos de procesos para la formación de complejos de inclusión de una molécula anfitriona y una molécula huésped pueden incluir la conducción de proceso de formación de complejo en una suspensión, utilizando una técnica de amasado o extrusión, o utilizando una técnica en fase sólida, como se describe más adelante.

Algunos métodos de suspensión de ejemplo para la formación de complejos de inclusión pueden incluir la adición, a un recipiente de reacción, de cantidades equimolares de la molécula anfitriona y de la molécula huésped. Pueden agregarse entonces agua, o una mezcla de agua-etanol con un bajo contenido de etanol (por ejemplo, aproximadamente 1 a 30% de etanol), como un solvente. La cantidad de solvente puede variar dependiendo de las características del componente de ciclodextrina, pero en general la cantidad puede ser aproximadamente 3-10 veces el peso de la suma de las cantidades de peso de ambos, molécula anfitriona y molécula huésped. Por ejemplo, 10 gramos de molécula anfitriona y 1 gramo de molécula huésped pueden hacerse reaccionar en 30-100 gramos de agua o de una mezcla agua-etanol. La mezcla de reacción puede ser agitada preferiblemente con un agitador de alta velocidad (por ejemplo, un agitador "ULTRA-TURRAX" hecho por IKA), o mediante el uso de un dispositivo de mezcla ultrasónico, a temperatura ambiente durante aproximadamente 4-14 horas, dependiendo de la molécula huésped seleccionada. Estas reacciones pueden monitorizarse mediante un método indicador del punto final adecuado, para determinar cuándo la reacción ha alcanzado un punto final. Después de que la reacción ha alcanzado el punto final, puede detenerse la agitación. La mezcla de reacción puede ser sometida entonces a una de las siguientes técnicas de recuperación alternativas: (1) enfriamiento hasta aproximadamente menos 60°C y remoción del agua por liofilización; o (2) sometimiento de la mezcla de reacción a agitación normal y luego a secado por aspersion (por ejemplo usando un dispositivo hecho por Niro o Buchi) o luego de evaporación mediante el uso de un sistema de secado por lecho fluido, tal como por ejemplo un proceso de lecho fluido Wurster. El producto sólido resultante es preferiblemente un complejo de inclusión molecularmente disperso, molecularmente encapsulado con la molécula anfitriona sirviendo como molécula "anfitriona" y la molécula huésped sirviendo como una molécula "huésped".

Otros procesos para formar complejos de inclusión en una suspensión pueden incluir la suspensión (más que la disolución) de la molécula anfitriona en agua, preferiblemente mezclando, a aproximadamente temperatura ambiente, o en el rango de aproximadamente 20-25°C, aproximadamente una parte de molécula anfitriona con aproximadamente dos partes de agua. La agitación de la suspensión de la molécula anfitriona preferiblemente debía ser vigorosa y puede ser un factor significativo. Una combinación de agitación vigorosa típica, por ejemplo, al menos aproximadamente 600 rotaciones por minuto, puede ser efectiva. La molécula huésped o el huésped, puede ser agregada entonces (bien sea en su forma presente, o predisuelta en un solvente, tal como etanol o isopropanol) a la suspensión de la molécula anfitriona. El tiempo de reacción puede tomar del orden de aproximadamente 4-24 horas, dependiendo del tipo de moléculas anfitrionas y de moléculas huésped usadas. El complejo de inclusión producido, puede ser recuperado entonces de la solución por filtración, tal como se describe más arriba, por secado por aspersion, tal como también se describe más arriba, o por cualquier otro

método adecuado. Estos procesos para la formación de complejos de inclusión en una suspensión pueden ser ventajosos, porque pueden consumirse cantidades relativamente bajas de energía y solvente, y pueden producirse rendimientos relativamente altos de producto con trabajo de preparación relativamente poco (esto es, se forma poco "licor madre"). Estos procesos también pueden ser relativamente fáciles de escalar, según se evidencia por el hecho de que se utilizan procesos similares industrialmente en países tales como los Estados Unidos, Hungría y Alemania. Por otro lado, estos procesos de suspensión pueden requerir un tiempo de agitación dilatado de 12-24 horas, y la relación de adsorción a formación de complejo de la molécula huésped puede ser inferior a la deseada.

Los procesos de formación de compuestos de inclusión utilizando técnicas de amasado o extrusión puede incluir amasar la molécula anfitriona con agua con el fin de "activarla", con la relación aproximada de la molécula anfitriona a agua dentro del rango de aproximadamente 1:1 a 2:1. La temperatura de reacción puede ser aproximadamente la temperatura ambiente en el rango de aproximadamente 22-25°C. El compuesto huésped típicamente no está en solución cuando es introducido en la molécula anfitriona activada. El tiempo de reacción puede ser menos de 60 minutos, dependiendo del tipo de compuesto huésped. Las ventajas de emplear tales técnicas de amasado o extrusión puede incluir la ausencia de un requerimiento para utilizar otro solvente diferente al agua, de tal manera que el producto final puede estar también libre de solventes. El tiempo de reacción puede ser muy rápido, del orden de aproximadamente una a dos horas. El complejo de inclusión puede tener un carácter cristalino relativamente bajo, debido al hecho de que el amasado utilizado para "la activación" puede dañar la red cristalina de las moléculas de hidrato de ciclodextrina producidas. Los análisis por rayos X y DSC térmico han mostrado que el producto resultante es amorfo, con una alta rata de formación de complejos de las moléculas huésped, y sin la formación de licor madre. Este proceso puede ser útil para todos los tipos de ciclodextrinas y derivados de las mismos. También, estos procesos pueden ser en general aceptables desde un punto de vista ambiental. Se han empleado métodos similares en Japón a escala industrial. Estos métodos pueden requerir una máquina de amasar apropiada, tal como una extrusora de tornillos gemelos, por ejemplo, o puede ser de alguna manera difícil remover el producto húmedo de la máquina a la conclusión del proceso.

La ejecución de los procesos de formación de complejos utilizando técnicas en fase sólida pueden requerir que tanto la molécula anfitriona como el compuesto huésped estén en forma sólida. Estos componentes pueden ser sometidos a molienda a alta energía, cotrituración intensa, o cualquier otro método adecuado. Los factores críticos pueden incluir la intensidad de la energía mecánica y el contenido de humedad de la ciclodextrina. Por ejemplo, un contenido de menos de aproximadamente 2-3% de agua inhibe o evita que la ciclodextrina forme complejos. Las ventajas de utilizar una técnica en fase sólida pueden incluir la flexibilidad de emplear cualquier tipo de molécula anfitriona, sin requerir un solvente diferente al agua, y con un tiempo de reacción ventajosamente corto. También, al poder hacer un escalamiento fácilmente, sin que se forme "licor madre", pueden ser ventajas ambientales. Además, las ratas de disolución de los fármacos complejados generalmente pueden ser más altas que las de otros métodos. Las desventajas pueden incluir la formación de fases sólidas (complejos) metaestables, los cuales pueden recristalizar por almacenamiento al alcanzar el estado de equilibrio.

Los procesos para preparar los complejos de inclusión que involucran moléculas anfitrionas, tales como derivados de ciclodextrina, pueden emplear una reacción homogénea que procede a temperatura ambiente, en donde los componentes son disueltos en agua o en una mezcla agua/cosolvente. El producto puede ser obtenido por una técnica de evaporación, secado por aspersion, o liofilización.

Ejemplos de procesos y parámetros de proceso adicionales que pueden ser utilizados para formar los complejos de inclusión pueden corresponder a los divulgados en: (1) L. Szente, "Preparation of Cyclodextrin Complexes" in "Comprehensive Supramolecular Chemistry," Vol. 3, Cyclodextrins, Edit. J Szejtli and T Osa, Elsevier Science, Pergamon Press, 1996, páginas 243-251; (2) Szejtli, J., Cyclodextrin Technology, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1988, páginas 80-104; y (3) Szejtli, J., Cyclodextrins and Their Inclusion complexes, Akademiai Kiado, Budapest, 1982, páginas 95-110.

Los procesos para formar complejos de inclusión que contienen amilosa pueden incluir primero la preparación de una solución acuosa alcalina (por ejemplo, pH aproximadamente 12) que contiene amilosa, preparar una solución en alcohol que contiene la molécula huésped, y agregar la solución de alcohol a la solución alcalina con agitación vigorosa a temperatura ambiente para formar una mezcla de reacción. La mezcla de reacción puede ser entonces neutralizada, mientras se agita, mediante la adición de un ácido, tal como ácido clorhídrico. La mezcla de reacción neutralizada puede contener precipitado, el cual puede ser agitado durante aproximadamente cinco horas para obtener la formación del complejo de inclusión. El complejo de inclusión puede ser insoluble, y puede ser filtrado de la mezcla de reacción como se describió en general más arriba. El complejo sólido húmedo puede ser lavado con dioxano frío u otro solvente de lavado adecuado, y luego puede ser secado (tal como en un vacío o a aproximadamente 100°C) hasta que el producto de complejo de inclusión alcanza un peso constante, también como se describe más arriba. Véase Szejtli, J et al. Acta Chim. Acad. Sci. Hung., 1979, 99 (4), 447-52.

X. Realizaciones seleccionadas de ejemplo

Realizaciones seleccionadas de las composiciones que enlazan grasas divulgadas aquí pueden incluir líquidos, soluciones, o formas de sólido solubles instantáneamente de las composiciones que enlazan grasas descritas arriba. Por ejemplo, son realizaciones preferidas polvos humectables y/o rápidamente solubles, así como productos de agua carbonatada preparados a partir de polvos o de otra manera que contienen los complejos de inclusión antes mencionados. Estas realizaciones pueden inhibir ventajosamente la autoagregación de cualquier componente de ciclodextrina que está presente debido al efecto de carbonatación. Otras realizaciones preferidas de las composiciones que enlazan grasas pueden incluir complejos de inclusión con ciclodextrinas, y también pueden incluir compuestos que previenen la agregación, tales como hidroxil ácidos, tales como ácido cítrico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido málico, etc. Los componentes ciclodextrina de estas composiciones que enlazan grasas podrían ser inhibidos ventajosamente de la experimentación autoagregación *in situ*.

Los siguientes ejemplos se proveen como ilustraciones, y no pretenden limitar el alcance de esta divulgación de ninguna manera.

#### EJEMPLOS

Ejemplo 1 - Ejemplo de ciclodextrinas que enlazan grasas en ambientes acuosos

Una solución de ciclodextrina acuosa se preparó por disolución de una mezcla de alfa-, beta- y gamma-ciclodextrinas (compuesta de 9.7 gramos de alfa-ciclodextrina, 11.3 gramos de beta-ciclodextrina, y 12.7 gramos de gamma-ciclodextrina), a una concentración de 0.01 M, en un litro de solución de agua desionizada de 2.5 gramos de ácido palmítico en 5 mL de dietiléter se adicionó gota a gota a la ciclodextrina acuosa para alcanzar un nivel de concentración de 0.01 M. Esta mezcla de reacción se agitó durante cuatro horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción produjo una suspensión blanca. El precipitado se removió por centrifugación. El precipitado es un complejo de inclusión cristalino de ácido palmítico complejado con las ciclodextrinas. El complejo resultante contiene: aproximadamente 78% de alfa-ciclodextrina /complejo ácido palmítico, aproximadamente 20% de beta-ciclodextrina/ complejo ácido palmítico, y cantidades no detectables de gamma-ciclodextrina/ complejo ácido palmítico. Este ejemplo muestra que entre alfa-, beta- y gamma-ciclodextrinas, el tipo más apropiado para inmovilizar y atrapar un ácido graso saturado lineal, como palmitato, es alfa-ciclodextrina, seguida por beta-ciclodextrina. Lo que resulta para la gamma-ciclodextrina en este ejemplo particular es despreciable.

Ejemplo 2 - Ejemplo de complejo de inclusión – Descripción de proceso usando beta-ciclodextrina

Un complejo de inclusión de ciclodextrina puede ser producido en una suspensión acuosa a temperatura ambiente, con o sin cosolventes o aditivos que pueden ser usados dependiendo de la solubilidad acuosa de la molécula huésped. La reacción de formación de complejo de inclusión puede ser inducida en un reactor de vidrio o de acero inoxidable equipado con un dispositivo de agitación apropiado. Se preparó una solución por disolución, a temperatura ambiente, de 100 gramos de una molécula huésped (por ejemplo carnitina que tiene una masa molecular de aproximadamente 160 Daltons) en 300 mililitros de agua o en un solvente miscible en agua apropiado, tal como etanol, isopropanol, propilenglicol, o polietilenglicol. De manera separada, en un reactor, se suspendieron 1,50 kg de beta-ciclodextrina en 2.5 litros de agua purificada con agitación vigorosa a temperatura ambiente. La solución de la molécula huésped se adicionó gota a gota a la suspensión acuosa de beta-ciclodextrina, mientras continuaba la agitación a un nivel de más de aproximadamente 600 rpm (rotaciones por minuto). La mezcla de reacción se continuó agitando a 600 rpm durante aproximadamente tres horas a temperatura ambiente. Subsecuentemente, el contenido de agua de la suspensión se removió secado por aspersión para obtener un polvo sólido. El secado por aspersión se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones de operación usando un secador por aspersión de cabeza rotatoria (manufacturado: Niro):

- Temperatura de entrada: aproximadamente 180-200°C
- Temperatura de salida: 90-95°C
- Velocidad de rotación: 20,000-22,000/minuto
- Tiempo de secado por aspersión: aproximadamente 40 minutos

Este proceso produjo aproximadamente 1.5 kg de un polvo sólido en forma de complejo de inclusión con un contenido de agua residual de aproximadamente 6-8% en peso.

Ejemplo 3 – Ejemplo de composición de enlazantes de grasa

Un kilogramo de polvo sólido en volumen se formó el cual contenía:

- 427.5 gramos de ácido cítrico anhidro
- 121.0 gramos de carbonato de sodio molido
- 46.0 gramos de bicarbonato de sodio
- 4.6 gramos de ácido ascórbico

- 5
- 5.4 gramos de xilitol (hecho a partir de fibras de maíz)
  - 350 gramos de un complejo de inclusión de alfa-ciclodextrina/L-arginina secado por aspersion
  - 10.0 gramos de sabor/maltodextrina secado por aspersion de uva o limón o naranja
  - 0.5 gramos de colorante

10 La composición anterior, cuando se disolvió en agua no carbonatada, produjo efervescencia significativa, era una solución transparente y tenía un sabor ácido, placentero (pH de aproximadamente 5.3).

Ejemplo 4 - Composición de Ejemplo de enlazantes de grasas

Un kilogramo de polvo sólido en volumen se formó el cual contenía:

- 435 g de ácido cítrico anhidro
  - 183 g de carbonato de sodio anhidro
- 15
- 23 g de bicarbonato de sodio
  - 21,7 g de ácido ascórbico
  - 7 g de xilitol
  - 210 g de complejo de nicotinamida/ alfa-ciclodextrina, secado por aspersion (con 8% de contenido de nicotinamida en peso)
- 20
- 120 g de complejo de sabor de naranja/alfa-ciclodextrina (con un 12% de carga de sabor en peso)
  - 0.3 g de colorante

Ejemplo 5- Composición de ejemplo de enlazante de grasas efervescente

A continuación es un ejemplo de una formulación efervescente que incluye taurina y creatina como moléculas huésped las cuales proveen beneficios nutricionales y actúan para prevenir la agregación de ciclodextrina en agua.

Componentes de formulación efervescente	Cantidades en gramos
Taurina	10
Creatina	20
Bicarbonato de sodio	10
Ácido cítrico + ácido ascórbico	15+2
Carbonato de potasio	1.5
Niacinamida	0.5
Carnitina	1.0

Componentes de formulación efervescente	Cantidades en gramos
Endulzantes sorbitol o xilitol	0.3
Sabor de fresa	1.25
Colorante (riboflavina)	0.2
Dextrosa	35
Ciclodextrina	5

## Ejemplo 6 – Estudio de la estabilidad de las composiciones de los Ejemplos 3 y 4

5 Las composiciones de los Ejemplos 3 y 4 anteriores fueron empacados, inmediatamente después de haber sido producidas, en una bolsa de capa triple hermética al aire, que tiene una capa de lámina en aluminio dispuesta entre dos capas de plástico de polietileno. Las bolsas se mantuvieron a temperatura ambiente durante 30 días. No se observó degradación o liberación de gas dióxido de carbono notable. Esta estabilidad exhibida es significativa, porque las composiciones sólidas en volumen probadas se mostraron no ser susceptibles a reaccionar con cualquier humedad disponible de manera que iniciaron la reacción química llevando a generación no deseada de gas de dióxido de carbono dentro de las bolsas selladas.

## Ejemplo 7 - Análisis de complejos de inclusión que contienen betanina

10 Un complejo de inclusión que incluye alfa-ciclodextrina y betanina así como una molécula huésped se preparó como sigue:

En un vaso de reacción, se disolvieron 550 gramos de betanina en dos litros de agua desionizada a temperatura ambiente bajo agitación continua. Luego se adicionaron 1000 gramos de hidrato de alfa-ciclodextrina cristalino en diez porciones de 100 gramos a la mezcla de reacción agitada. Después de que se agregó alfa-ciclodextrina a la mezcla de reacción, la suspensión densa resultante fue adicionalmente agitada durante 4 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue llevada a secado bajo aire en condiciones normales a un peso constante, y fue molida a polvo fino con un molino de bolas.

15 El complejo de inclusión de betanina/alfa-ciclodextrina de relación 1:1 resultante fue un polvo de flujo libre de coloración roja, que contiene 32% en peso de betanina, como se determinó por espectrofotometría visible. El complejo betanina/alfa-ciclodextrina se encontró ser relativamente débil en agua como se determinó de acuerdo a los estudios de fases de solubilidad de acuerdo con Higuchi et al., *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*, edited by C.N. Reilly, Wiley, New York, 1965. vol. 4. pp. 117-212. La constante de enlazamiento del complejo fue  $K_{ass} = 85-105 \text{ M}^{-1}$

25 Una caracterización de la betanina libre y atrapada (o complejada) en el estado sólido se llevó a cabo por comparación del comportamiento termoanalítico del colorante exterior y dentro del complejo de inclusión. El colorante (ácido glicopiranosilo dihidro indolil-piridin, extraído a partir de remolachas) muestra característicamente una transición de fases a baja temperatura por calentamiento en una atmósfera de argón. Este evento térmico, característico para betanina, de forma característica ocurre a 85-120°C de acuerdo con una prueba de calorimetría de barrido diferencial (DSC). Sin embargo, estos eventos térmicos se desplazan de manera significativa a un más alto rango de temperatura de 170-200°C cuando la betanina forma complejo con alfa-ciclodextrina, indicando que la fase de transición (esto es, la transición de sólido a líquido o la fusión o la transición vítrea) ocurre a más alta temperatura si el colorante no es una red casi cristalina altamente ordenada, pero está incluida en el complejo de inclusión de manera que es molecularmente dispersada y de manera que funde junto con la matriz de carbohidrato de ciclodextrina.

## Ejemplo 8 – Comparación de propiedades de enlazantes de grasas de moléculas anfitrionas con y sin complejo de inclusión

Dos tipos de formulaciones de alfa-ciclodextrina sólidas se prepararon como sigue:

Formulación 1

35 Formulación 1

El hidrato cristalino de  $\alpha$ -ciclodextrina se formuló en una tableta usando aditivos para formación de tabletas comunes como sigue:

- hidrato de  $\alpha$ -ciclodextrina 97 partes en peso
- Estearato de magnesio 2.5 partes en peso
- anhídrido silícico liviano 0.5 partes en peso

5 La mezcla en volumen que contenía los componentes anteriores fue granulada en una máquina de granulado Frewitt humedeciendo la mezcla seca con una mezcla de agua y alcohol isopropílico, seguido por secado a 45°C en bandejas. El gránulo fue entonces comprimido en tabletas que pesaban un gramo.

Formulación 2

10 La misma cantidad de hidrato alfa-ciclodextrina tal como la utilizada en la Formulación 1 anterior, fue humedecida con agua e intensivamente cotriturada durante 30 minutos en un mortero de cerámica con una forma de base libre formando un complejo débil de L-arginina y ácido cítrico cristalino, sin la adición de ningún estearato de magnesio. Esta complejo de inclusión ternaria arginina- ácido cítrico-ciclodextrina humedecido, cotriturado fue secado al aire a un peso constante. El complejo de inclusión seco fue rehumedecido y granulado en una configuración de granulación convencional y secado al aire a 45°C a peso constante. Los gránulos tenían la siguiente composición:

- Hidrato de  $\alpha$ -ciclodextrina 97 partes en peso
- 15 • L-Arginina 2.5 partes en peso
- Ácido cítrico 0.5 partes en peso

Los gránulos fueron colocados en sachets cada uno conteniendo un g de la Formulación 2.

20 Se llevó a cabo entonces una comparación de las Formulaciones 1 y 2. Cantidades de un gramo de cada una de las Formulaciones 1 y 2 se introdujeron en porciones de 500 mL de cada una de: (1) ácido clorhídrico 0.01 N con un pH de 2; y (2) una solución reguladora acuosa con un pH 7.2. La temperatura fue mantenida a 37°C. Después de la agitación a 90 rotaciones por minuto durante 2 horas, las soluciones resultantes fueron probadas por concentraciones de alfa-ciclodextrina disuelta usando el método de HPLC. La Formulación 1, el producto que contenía alfa-ciclodextrina en tabletas, produjo una solución no transparente, opaca después de dos horas de agitación. Esto indicó que la alfa-ciclodextrina no se disolvió de manera significativa. La Formulación 2, los gránulos que contienen ácido cítrico, L-arginina e hidrato de alfa-ciclodextrina, se disolvieron inmediatamente para producir una solución transparente y clara.

25 La Tabla 1 siguiente muestra las cantidades de disolución medidas de alfa-ciclodextrina a partir de las Formulaciones 1 y 2 después de someter estas formulaciones a las condiciones descritas más arriba. Es claro que a partir de los resultados, la Formulación 2 provee de manera significativa más alfa-ciclodextrina en ambos ambientes acuosos ácido y básico que la Formulación 1. Las cantidades disueltas de ciclodextrina corresponden a moléculas de ciclodextrina disponibles para enlazadores de grasa.

Tabla 1. Valores disueltos de ciclodextrina

Muestra probadas	Cantidades disueltas de alfa-ciclodextrina (%) en diferentes medios de disolución determinado por HPLC	
	Medio gástrico (pH 2)	Medio intestinal (pH 7.2)
Formulación 1 Tableta con estearato Mg	35.8	46.8
Formulación 2 Gránulos con arginina y ácido cítrico	100	89.9

35 Los datos anteriores de la Formulación 1 indican que la presencia de incluso pequeñas cantidades de aditivos relacionadas a grasa, tales como el ácido graso de estearato de magnesio, pueden reducir de manera significativa la disponibilidad para disolución en ambientes acuosos de una ciclodextrina, y así poder reducir la cantidad de ciclodextrina disponible para enlazantes de grasa y compuestos relacionados a grasa. En contraste, los datos de la Formulación 2 indican que el empleo

de un complejo de inclusión de una ciclodextrina con una molécula huésped pueden dar como resultado en proveer de manera eficiente una cantidad significativa de la ciclodextrina, por ejemplo, hasta el 100%, que está disponible para enlazantes de grasa tanto en ambientes acuosos ácidos y básicos.

Ejemplo 9 - Constantes de enlazamiento para diversos saborizantes

5 Para analizar ya sea diversos saborizantes y compuestos relacionados que exhiben de manera apropiada propiedades para formar complejos débiles, varios ejemplos fueron complejados con alfa- y beta-ciclodextrina, y se midieron las constantes de enlazamiento exhibidas de los mismos expuestas. Los compuestos probados incluyeron aquellos que son generalmente solubles o miscibles en agua. Los complejos con las ciclodextrinas se formaron usando métodos que corresponden a los dos ejemplos específicamente descritos abajo que incluyen saborizante de albaricoque y saborizante de plátano.

10 A. Preparación de complejo saborizante de albaricoque/alfa-ciclodextrina por secado por aspersión

972 gramos de hidrato de alfa-ciclodextrina fueron dispersados en 500 mL de agua a temperatura ambiente mediante agitación vigorosa. La pasta fue diluida con 500 mL adicionales de agua. A la mezcla alfa- ciclodextrina agua en agitación, se agregaron 12 g de saborizante de albaricoque gota a gota durante agitación intensa. Una vez que el saborizante fue agregado completamente a la mezcla de reacción, la mezcla fue agitada durante cuatro horas adicionales a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue alimentada a un secador por aspersión Buch Laboratoy para remover el agua. Las condiciones de secado por aspersión fueron como sigue:

- Temperatura de entrada: aproximadamente 170-190°C
- Temperatura de salida: 85-90°C
- Rata de giro: 20,000-22,000/minuto

20 Los 955 gramos resultantes de polvo blanco de flujo libre contenían aproximadamente 9.4% p/p de saborizante de albaricoque según se determinó por cromatografía de gases.

B. Preparación de complejo saborizante de plátano/beta-ciclodextrina por amasado

25 1135 gramos (una mol) de beta-ciclodextrina fueron humectados con 250 gramos de agua a temperatura ambiente en un amasador de tornillos gemelos por rotación continua. A la beta-ciclodextrina activada mecánicamente húmeda, se agregaron 120 gramos de saborizante concentrado de plátano a través de un embudo de alimentación durante un período de 15 minutos, mientras que de manera continua se amasa la mezcla. El amasamiento fue mantenido durante 45 minutos, y luego el complejo de beta-ciclodextrina con saborizado de plátano húmedo fue retirado y secado 45°C en bandejas de acero inoxidable hasta peso constante. El producto resultante fue triturado hasta obtener un polvo fino. Se obtuvieron 985 gramos del polvo fino. El contenido de saborizante de plátano fue aproximadamente 8.8% en peso, según se determina por cromatografía de gases.

30 Los resultados de las mediciones de la constante de enlazamiento para los saborizantes anteriores, así como otros ejemplos, se muestran en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2: Constantes de enlazamiento calculadas de algunos saborizantes y compuestos relacionados

Moléculas huésped: Saborizantes y compuestos relacionados	Constantes de enlazamiento calculadas (M <sup>-1</sup> )	
	Complejo formado con alfa-ciclodextrina	Complejo formado con beta-ciclodextrina
Saborizante de manzana	65	40
Acetato de butilo	72	85
Isovalerato de butilo	95	110
Butirato de alilo	45	34

Saborizante de albaricoque	98	70
valerato de amilo	67	45
Acetato de etilo	60	100
Valerato de etilo	46	80
Saborizante de plátano	90	120
Acetato de amilo	85	40
Maltol	70	98

Se utilizaron dos tipos de métodos para determinar las constantes de enlazamiento aparentes anotadas más arriba. El método "microcalorimétrico" fue utilizado como lo describe "Thermodynamics of binding of guest molecules to alpha- and beta-cyclodextrins," J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 2, (15) pp. 2081-2085, 1973. También, midiendo la retención de saborizante en los complejos de inclusión y las correspondientes mezclas mecánicas (composición idéntica excepto que se utilizó dextrina lineal en lugar de ciclodextrinas) con cromatografía de gases, de acuerdo con el método descrito por Reineccius et al., "Encapsulation of flavors using cyclodextrins: comparison of flavor retention in alpha, beta, and gamma types," Journal of Food Science, 67(9), pp. 3271-3279 (2002).

Ejemplo 10 - Preparación de complejo de inclusión de alfa-ciclodextrina con N-tert-butil-hidroxiilamina

Se disolvieron 975 gramos de hidrato de alfa-ciclodextrina en un litro de agua desionizada a 25°C con agitación vigorosa. A la solución clara resultante, se agregaron 98 gramos de N-tert-butil-hidroxiilamina a la vez que se agitaba de manera continua e intensa la mezcla de reacción. Después de dos horas de agitación, la mezcla de reacción fue enfriada a menos 55°C y el agua fue removida por liofilización. Se obtuvieron 1,050 gramos del complejo sólido liofilizado. La incorporación de la hidroxiilamina en la matriz de alfa-ciclodextrina fue del 9.0% en peso, según se determinó por HPLC. El contenido de agua residual en el producto liofilizado fue de 3.4%, según se determinó por titulación de Karl-Fisher.

También, la constante de enlazamiento aparente del complejo alfa-ciclodextrina N-tert-butil-hidroxiilamina fue determinada por cromatografía. Se encontró que la constante de enlazamiento era 80-105 M<sup>-1</sup> para el complejo de inclusión de alfa-ciclodextrina/hidroxiilamina anterior en agua a 25°C. Estos resultados muestran que tales complejos pueden ser producidos en una forma sólida estable y disueltos en agua para liberación del compuesto de N-alkil-hidroxiilamina para que ejerza sus ventajosos efectos antioxidantes y antienvjecimiento, y para la liberación del compuesto de ciclodextrina para que ejerza sus ventajosos efectos de enlazamiento de grasas.

Ejemplo 11- Preparación de complejos de inclusión de molécula anfitriona con colorantes

A. Preparación de complejo de inclusión de amilosa con colorante (realización no reivindicada)

100 gramos de amilosa (DP= 250, fabricante AVEBE Países Bajos) fueron agitados en 450 mL de una solución acuosa alcalina a pH 12.2 a temperatura ambiente. Bajo agitación vigorosa se agregaron 12 gramos de una mezcla colorante natural extraída de uvas azules disuelta en 10 mL de etanol al 96% a la solución en agitación de amilosa. El pH de la mezcla de reacción se fijó en neutro por la adición gota a gota de ácido clorhídrico 2N bajo agitación. La mezcla de reacción neutralizada se convirtió en una suspensión densa. Esta suspensión fue agitada durante cuatro horas adicionales para completar la formación de complejo con el colorante. El complejo formado, fue aislado por centrifugación. El producto sólido húmedo fue secado al aire hasta un peso constante y triturado hasta obtener un polvo fino. Se obtuvo un rendimiento de 108 gramos de un complejo sólido amorfo coloreado de púrpura. El contenido de colorante del complejo fue de 9.6% en peso y fue determinado por HPLC/detección UV-VIS.

B. Preparación de complejo de beta-ciclodextrina con colorante

1135 gramos de beta-ciclodextrina cristalina fueron amasados en 250 mL de agua durante 30 minutos para producir ciclodextrina activada húmeda. Se agregaron 150 gramos de un extracto natural de raíz de remolacha que tenía 90% de contenido de betalaina a la ciclodextrina activada en una solución acuosa. La mezcla de reacción fue amasada adicionalmente en un amasador de tornillos gemelos durante dos horas a temperatura ambiente. El semisólido húmedo

resultante fue secado al aire hasta peso constante para un rendimiento de 1100 gramos de polvo rojo. El contenido de colorante fue de 9.6% en peso determinado por espectrofotometría.

Ejemplo 12 - Preparación de complejo de inclusión de amilosa con saborizante

5 55 gramos de amilosa (DP= 250, fabricante AVEBE) fueron hinchados preliminarmente con agitación lenta en una solución alcalina que tenía un pH de 12 durante tres horas a temperatura ambiente. La solución alcalina fue calentada a 60°C bajo agitación continua y fue neutralizada con ácido clorhídrico 2N mientras con agitación durante cinco minutos. La solución de amilosa neutra fue agitada continuamente de manera adicional a 40°C mientras se agregaron cinco gramos de sabor de fresa concentrado gota a gota a la solución de amilosa. La mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente durante la agitación y el precipitado que se formó fue filtrado. El complejo sólido húmedo de amilosa/sabor de fresa fue secado al 10 aire hasta peso constante. El rendimiento fue de 52 gramos de sólido blanco o blancuzco con un ligero aroma a fresa. El contenido de sabor del complejo fue determinado por cromatografía de gases con espacio de cabeza y se encontró que era 8.8% en peso.

Ejemplo 13 - Determinación de las constantes de asociación o constantes de enlazamiento de complejos de ciclodextrina seleccionados

15 La constante de equilibrio para la formación de un complejo de inclusión es una medida fundamental de la estabilidad de los complejos con respecto a las especies separadas, bajo condiciones dadas (temperatura, medio, presión, etc.). Los términos de constantes de asociación o enlazamiento o estabilidad o formación son sinónimos.

20 Los valores numéricos de las constantes de asociación se refieren primariamente a la relación entre la fracción incluida (residente en la cavidad) de sustancias huésped sobre la fracción no complejada. El grado de inclusión de una sustancia huésped por el anfitrión de ciclodextrina - bajo condiciones dadas - estará en una correlación positiva con la constante de asociación. Cuanto más altas sean las constantes de estabilidad mayor es la porción de moléculas huésped que se enlazarán a las cavidades de ciclodextrina.

25 Las constantes de asociación o enlazamiento de varias moléculas huésped formadoras de complejos débiles con alfa-, beta- y gamma-ciclodextrinas fueron determinadas experimentalmente. Se utilizó electroforesis capilar para determinar las constantes de enlazamiento del complejo de los suplementos dietarios seleccionadas tiamina, niacina y L-arginina en sistemas acuosos. Se determinaron los siguientes valores:

Tabla 3. Constantes de asociación de complejos de suplementos dietarios

	α-Ciclodextrina	β- Ciclodextrina	γ- Ciclodextrina
L-arginina	21 ± 62*	100 ± 5	9 ± 2
Tiamina HCl	20 ± 2	73 ± 3	8 ± 1
Ácido Nicotínico	17 ± 2	37 ± 3	10 ± 2
* Los valores de constantes de asociación listados representan una media de tres determinaciones paralelas con desviaciones estándar aceptable			

30 De la misma manera, se utilizó electroforesis capilar para determinar las constantes de enlazamiento del complejo de saborizantes seleccionados de acetato de etilo, acetato de isoamilo, diacetilo, y N,N-dimetil formamida con alfa-, beta- y gamma-ciclodextrinas. Se determinaron los siguientes valores:

Tabla 4. Contenido de ingrediente activo de complejos de saborizantes seleccionados

Acetato de isoamilo	Promedio (%)	RSD %	Contenido de agua (%)
β-Ciclodextrina	8.8	3.8	4.0
α-Ciclodextrina	8.5	4.5	4.2

$\gamma$ -Ciclodextrina	11.4	4.7	6.5
<b>Diacetilo</b>	<b>Promedio (%)</b>	<b>RSD %</b>	<b>Contenido de agua (%)</b>
$\beta$ -Ciclodextrina	1.3	4.8	9.2
$\alpha$ -Ciclodextrina	0.9	4.4	7.3
$\gamma$ -Ciclodextrina	1.3	4.6	8.1
<b>Acetato de etilo</b>	<b>Promedio (%)</b>	<b>RSD %</b>	<b>Contenido de agua (%)</b>
$\beta$ -Ciclodextrina	0.6	3.7	4.1
$\alpha$ -Ciclodextrina	4.1	4.3	6.0
$\gamma$ -Ciclodextrina	0.1	4.9	3.1

Entre las sustancias saborizantes ejemplificadas, el acetato de isoamilo forma un complejo de inclusión con las ciclodextrinas seleccionadas en una estequiometría molar cercana a la relación molar teórica 1:1.

Tabla 5: Constantes de asociación de complejos saborizantes seleccionados

<b>Acetato de isoamilo</b>	<b>K (1/M)</b>	<b>RSD%</b>
$\alpha$ -Ciclodextrina	729	8.4
$\beta$ -Ciclodextrina	382	10.9
$\gamma$ -Ciclodextrina	32	10.0
<b>Diacetilo</b>	<b>K (1/M)</b>	<b>RSD%</b>
$\alpha$ -Ciclodextrina	28	33.4
$\beta$ -Ciclodextrina	43	16.4
$\gamma$ -Ciclodextrina	58	13.8
<b>Acetato de etilo</b>	<b>K (1/M)</b>	<b>RSD%</b>
$\alpha$ -Ciclodextrina	37	13.7
$\beta$ -Ciclodextrina	10	31.6
$\gamma$ -Ciclodextrina	9	30.9

5

Estas constantes de enlazamiento determinadas experimentalmente y relativamente bajas para complejos de inclusión seleccionados de huéspedes-ciclodextrina confirman que en la presencia de ácidos grasos, las moléculas huésped asociadas de manera relativamente débil serían reemplazadas por moléculas de ácidos grasos, puesto que los complejos de inclusión correspondientes de ácido graso-ciclodextrina exhiben constantes de enlazamiento en el rango de 500-5000 1/M.

10

5 Aunque la presente invención ha sido mostrada y descrita con referencia a los principios operacionales y realizaciones preferidas antes citadas, será evidente para los experimentados en la técnica que pueden hacerse diversos cambios en forma y detalle sin apartarse del alcance de la invención. Todos las combinaciones y subcombinaciones novedosas y no obvias de los elementos, características, funciones y propiedades descritos y/o ilustrados aquí deberían ser reconocidos como incluidos dentro del alcance de esta divulgación. El solicitante se reserva el derecho de reivindicar una o más de las invenciones en cualquier aplicación relacionada con esta divulgación. La presente invención prevé abarcar todas estas alternativas, modificaciones y variaciones que caen dentro del alcance de las reivindicaciones anexas.

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición de producto alimenticio, que comprende:  
un complejo de inclusión huésped-anfitrión de una molécula anfitriona que es una  $\alpha$ - o  $\beta$ -ciclodextrina; y una molécula huésped que es un suplemento dietario, un potenciador de sabor, o un potenciador de aroma; y
- 5 en donde la molécula huésped está débil y reversiblemente asociada con la molécula anfitriona de tal manera que bajo condiciones fisiológicas la molécula huésped es reemplazada por una molécula grasa que es entonces enlazada de manera sustancial irreversiblemente.
2. La composición de producto alimenticio de la reivindicación 1, en donde la composición es un producto alimenticio que es una bebida.
- 10 3. La composición de producto alimenticio de la reivindicación 1, en donde la composición es un sólido seco, y la adición de agua a la composición produce una bebida.
4. La composición de producto alimenticio de la reivindicación 1, en donde la composición es un producto alimenticio que contiene almidón.
- 15 5. La composición de producto alimenticio de la reivindicación 4, en donde la composición es un producto alimenticio preparado a partir de granos de cereales o raíces almidonosas.
6. Una composición para preparar una bebida, que comprende:  
un complejo de inclusión huésped-anfitrión de una molécula anfitriona que es una  $\alpha$ - o  $\beta$ -ciclodextrina; y una molécula huésped que es un suplemento dietario, un potenciador de sabor, o un potenciador de aroma; y
- 20 en donde la molécula huésped está asociada débil y reversiblemente con la molécula anfitriona de tal manera que bajo condiciones fisiológicas la molécula huésped es reemplazada por una molécula grasa que es entonces enlazada de manera sustancial irreversiblemente.
7. La composición de la reivindicación 6, en donde la composición es un sólido seco, y la adición de agua a la composición produce la bebida.
- 25 8. La composición de la reivindicación 7, en donde la composición está en la forma de una tableta, pellas, gránulos o un polvo.
9. La composición de la reivindicación 8, en donde la composición es un polvo que produce una bebida efervescente mediante la adición de agua.
- 30 10. Un método para preparar una composición de producto alimenticio, en donde la composición de producto alimenticio incluye un complejo de inclusión huésped-anfitrión de una molécula anfitriona que es una  $\alpha$ - o  $\beta$ -ciclodextrina, y una molécula huésped que es un suplemento dietario, un potenciador de sabor, o un potenciador de aroma, siendo reemplazada la molécula huésped bajo condiciones fisiológicas por una molécula grasa que es entonces enlazada de manera sustancial irreversiblemente; comprendiendo el método:
- a) combinar la molécula anfitriona y la molécula huésped bajo condiciones adecuadas para formar el complejo de inclusión huésped-anfitrión;
- 35 b) purificar y aislar el complejo de inclusión huésped-anfitrión
- c) combinar el complejo de inclusión huésped-anfitrión purificado con uno o más componentes adicionales para producir una composición de producto alimenticio.
11. EL método de la reivindicación 10, en donde la purificación del complejo de inclusión huésped-anfitrión incluye remover moléculas huésped no complejadas.
- 40 12. El método de la reivindicación 10, en donde la combinación de la molécula anfitriona y la molécula huésped incluyen preparar una solución, suspensión o pasta; o

un proceso de mezcla en seco; o

preparar una solución saturada; y la purificación del complejo de inclusión huésped-anfitrión incluye cristalización y filtración del complejo de inclusión.

5 13. Producto alimenticio para uso en un método para reducir la grasa absorbida por el tracto digestivo de un animal, en donde:

a. el producto alimenticio incluye un complejo de inclusión huésped-anfitrión de una molécula anfitriona que es una  $\alpha$ - o  $\beta$ -ciclodextrina, y una molécula huésped que es un suplemento dietario, un saborizante, un potenciador de sabor, un agente aromático, o un potenciador del aroma;

10 en donde la molécula anfitriona y molécula huésped son seleccionadas de tal manera que dentro del tracto digestivo del animal la molécula huésped será liberada sustancialmente de la molécula anfitriona, y la molécula anfitriona formará un segundo complejo de inclusión huésped-anfitrión con una molécula grasa presente en el tracto digestivo;

y

b. en donde la ingestión del producto alimenticio da como resultado que la molécula grasa sea enlazada de manera sustancial irreversiblemente a la molécula anfitriona, y por lo tanto removida del tracto digestivo.

15 14. El producto alimenticio de la reivindicación 13, en donde el producto alimenticio es una composición de producto alimenticio que es una bebida, o es un sólido seco que produce una bebida cuando se combina con agua.

15. El producto alimenticio de la reivindicación 13, en donde el enlazamiento sustancialmente irreversible de la molécula grasa con la molécula anfitriona forma un complejo de inclusión huésped-anfitrión que es insoluble en agua.

Fig. 1

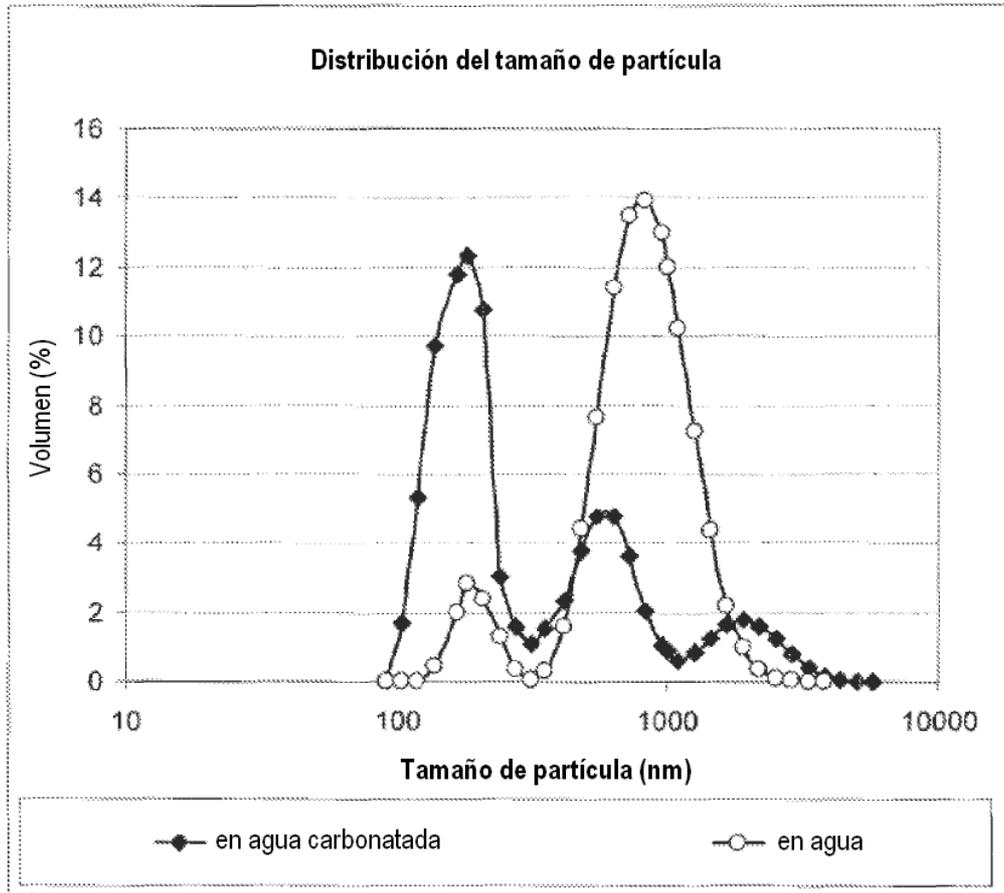


Fig. 2

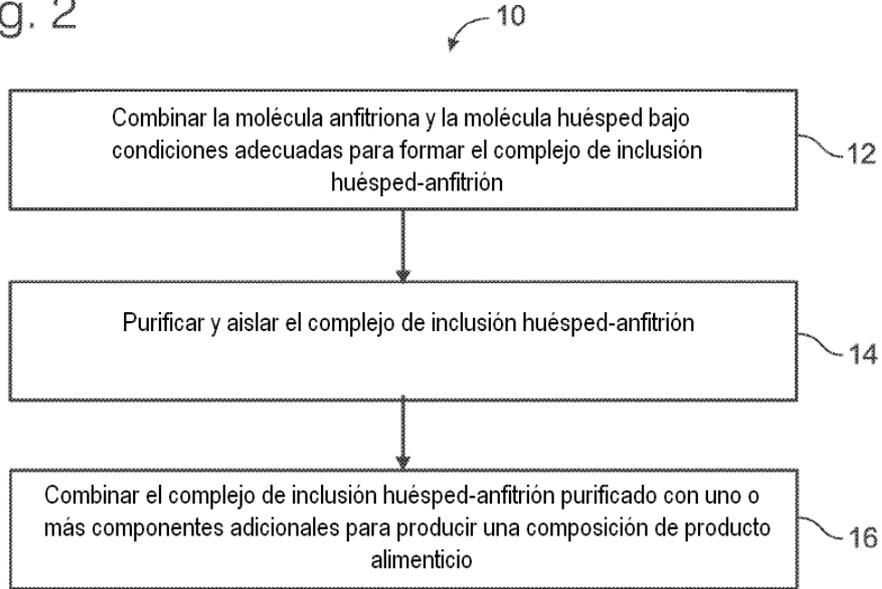


Fig. 3

