

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 666**

51 Int. Cl.:

A23L 1/30 (2006.01)
A61K 31/015 (2006.01)
A23L 1/303 (2006.01)
A23L 1/275 (2006.01)
A61K 31/07 (2006.01)
A61K 8/67 (2006.01)
A61K 8/31 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.08.2007 E 07801536 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015 EP 2051595**

54 Título: **Composiciones estables y biodisponibles que contienen isómeros de carotenoides para la piel y el cabello**

30 Prioridad:

08.08.2006 EP 06118579

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

22.02.2016

73 Titular/es:

**NESTEC S.A. (100.0%)
IP Department, Avenue Nestlé 55
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**BORTLIK, KARLHEINZ;
LAMBELET, PIERRE y
RICHELLE, MYRIAM**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 560 666 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 estables y biodisponibles que contienen isómeros de carotenoides para la piel y el cabello

5 La presente invención se refiere a una composición primaria que incluye al menos un material de tipo carotenoide enriquecido en isómeros Z del compuesto carotenoide y posee una mayor estabilidad y biodisponibilidad, y a un proceso para elaborarla. También se refiere a una composición oral que contiene la composición primaria en un producto alimenticio, en un suplemento alimenticio, en un preparado cosmético o en un preparado farmacéutico.

10 Antecedentes tecnológicos

La absorción de los carotenoides es un proceso complejo que implica su liberación de la matriz microestructural del alimento, su disolución en micelas mixtas, su absorción en el intestino, su incorporación a los quilomicrones, su distribución en los tejidos, su absorción por el hígado y su resecretión al VLDL, que se transforma progresivamente en LDL.

15 La absorción de licopeno procedente de fuentes alimenticias está ampliamente documentada. La biodisponibilidad del licopeno de alimentos tales como tomates y zumo de tomate es muy baja. Hasta ahora el concentrado de tomate es la fuente alimenticia más conocida de licopeno biodisponible. El tomate contiene aproximadamente > 90% de licopeno en su configuración todo-E.

Los extractos de tomate que contienen una gran cantidad de licopeno son comercialmente asequibles en forma de oleoresina, pero la biodisponibilidad del carotenoide en humanos es bastante limitada a partir de estas fuentes. En los extractos de tomate concentrado el licopeno se halla principalmente en forma cristalina, la cual se ha supuesto que es uno de los factores principales que reduce su biodisponibilidad.

25 Hasta la fecha las fuentes de licopeno más comercialmente asequibles presentan un perfil isomérico muy similar al de los tomates de partida o bien muestran un ligero aumento de isómeros Z, tanto si son derivados (por ejemplo las salsas) o extractos. Se conocen varios tratamientos - como por ejemplo los procesos térmicos - que favorecen la isomerización. Shi y otros, Journal of Food Process Engineering 2003, 25, 485-498, demostraron que se podía obtener un aumento de isómeros Z calentando salsas de tomate. Sin embargo ciertos isómeros de licopeno no son estables y tienden a retroisomerizarse. De acuerdo con la literatura el 5-Z es el más estable de todos los isómeros predominantes de licopeno, seguido del todo-E, del 9-Z y del 13-Z. Por consiguiente la estabilidad de los productos basados en licopeno isomerizado depende de su perfil de isómeros de licopeno, lo cual permite modularla mediante procedimientos tecnológicos que afecten a dicho perfil.

30 Es sabido que la isomerización térmica del licopeno mejora su biodisponibilidad a partir de matrices alimenticias. Sin embargo la biodisponibilidad de los isómeros individuales del licopeno aún no ha sido investigada. Al igual que para la estabilidad, se puede suponer que la biodisponibilidad de los productos basados en licopeno depende de su perfil de isómeros de licopeno y que por lo tanto se puede modular por medios tecnológicos.

Ya existen patentes que proponen medios tecnológicos y formulaciones para mejorar la biodisponibilidad de los carotenoides. Así por ejemplo, la patente WO 2005/075575 proporciona una composición primaria enriquecida en isómeros Z, que es eficaz para aumentar la biodisponibilidad del compuesto carotenoide. No obstante todavía hay necesidad de un producto que contenga carotenoides y tenga mayor estabilidad y por tanto más biodisponibilidad.

Los documentos de patente WO 01/91588 A y US 5 382 714 A revelan productos enriquecidos en isómeros cis de los carotenoides.

50 Weedon, en Pure & Appl. Chem., 47, 161-171, revela métodos para sintetizar carotenoides.

Resumen

55 Se encontró que la estabilidad de los isómeros individuales de Z-licopeno variaba de un isómero a otro; en particular el 13-Z licopeno era mucho menos estable que los isómeros 5-Z, 9-Z o todo-E. Por consiguiente una composición primaria según la presente invención debe tener un nivel de isómero 13-Z tan bajo como sea posible para que su estabilidad sea óptima. También se ha demostrado que algunos isómeros Z (como el 5-Z y el 9-Z, por ejemplo) de los carotenoides incrementan la biodisponibilidad de la composición que contiene dichos carotenoides. Por tanto la composición primaria debe contener principalmente el isómero 5-Z o una combinación de los isómeros 5-Z y 9-Z para proporcionar una mejor biodisponibilidad y bioeficacia.

60 Por consiguiente un primer objeto de la presente invención es proporcionar composiciones primarias conforme a la reivindicación 1.

65 En una forma de ejecución la presente invención proporciona una composición oral que contiene la composición primaria en un producto alimenticio, en un suplemento alimenticio, en un preparado cosmético o en un preparado farmacéutico.

En una forma de ejecución la presente invención proporciona la composición primaria como aditivo en un producto alimenticio de administración oral, tal como una composición nutricional, un suplemento alimenticio, una comida para mascotas, un preparado cosmético o un preparado farmacéutico.

5 En una forma de ejecución la presente invención proporciona un método para elaborar las composiciones primarias o suplementos alimenticios, preparados cosméticos o preparados farmacéuticos que las contengan.

10 En otra forma de ejecución la presente invención propone el uso de la composición primaria arriba descrita para preparar una composición oral, cosmética o farmacéutica destinada a mejorar la salud de la piel, en particular para proteger la piel de la luz o para proteger el tejido cutáneo contra el envejecimiento.

15 En una forma de ejecución alternativa la presente invención propone el uso de la composición primaria para preparar una composición oral, cosmética o farmacéutica destinada a prevenir o tratar enfermedades cardiovasculares o cánceres.

La presente invención tiene la ventaja de proporcionar composiciones de isómeros Z de carotenoides, que poseen una mayor estabilidad, biodisponibilidad y bioeficacia.

20 Las demás características y ventajas aquí descritas resultan evidentes viendo la siguiente descripción detallada y las figuras.

Descripción breve de las figuras

25 FIGURA 1: *área bajo la curva (ABC) de licopeno / triglicéridos de LRT en plasma tras el consumo de una comida corriente que contiene 25 mg de licopeno total de extracto de tomate (todo-E-licopeno), de oleorresina de tomate rica en 5-Z licopeno (5-Z oleorresina), de oleorresina de tomate rica en 13-Z licopeno (13-Z oleorresina) o de oleorresina de tomate rica en 9 y 13-Z licopeno (9- y 13-Z oleorresina).*

Descripción detallada de la presente invención

30 La presente invención se refiere en general a composiciones que proporcionan beneficios saludables. De manera más concreta la presente invención se refiere a composiciones nutricionales beneficiosas que se pueden utilizar para mejorar la piel y el cabello y a métodos relacionadas con ellas.

35 Ahora la presente invención pone a disposición del consumidor una composición mejorada que se obtiene a partir de productos naturales. La composición primaria aporta carotenoides en una forma particularmente muy biodisponible y/o bioefectiva.

40 En una forma de ejecución preferida la presente invención proporciona extractos de tomate o sus derivados con una relación de isómeros distinta de la existente en productos de origen natural disponibles hasta la fecha. La presente invención se refiere en concreto a extractos o derivados con un contenido de isómero E no superior al 60% sobre el contenido total de licopeno, preferiblemente con un contenido de isómero E no superior al 40% sobre el contenido total de licopeno (por HPLC).

45 En una forma de ejecución preferida la presente invención proporciona una composición primaria que contiene una combinación específica de isómeros Z. En las composiciones primarias de la presente invención la relación de isómeros Z/E debería ser superior a 1.

50 Además la composición es rica en 5-Z y 9-Z y pobre en 13-Z. En una forma de ejecución preferida la proporción de 5-Z y 9-Z es mayor del 30% respecto al contenido total de carotenoide, preferiblemente mayor del 40%, sobre todo mayor del 50%. Asimismo la proporción de 13-Z es menor del 10% respecto al contenido total de carotenoide, con preferencia menor del 5%, sobre todo menor del 3%. Aumentando los isómeros específicos 5-Z y 9-Z y/o reduciendo los isómeros 13-Z, por ejemplo, se puede obtener una forma más biodisponible y más bioefectiva de la composición primaria. Además los extractos o derivados de la presente invención son estables en las condiciones habituales de almacenamiento y no experimentan retroisomerización. En las condiciones de protección usuales (ausencia de luz y oxígeno) el contenido total de licopeno y el contenido de isómeros E permanece constante. Este último no aumenta, incluso manteniendo los extractos a temperatura ambiente.

60 Un perfil de este tipo (es decir, una baja proporción de isómeros inestables como el isómero 13-Z del carotenoide) se puede obtener, por ejemplo, isomerizando el carotenoide por catálisis sobre una matriz sólida tal como las arcillas, o por calentamiento prolongado.

65 En una forma de ejecución, el material que contiene el carotenoide puede estar por ejemplo en forma de un extracto, de un concentrado o de una oleorresina. En la presente exposición el significado del término "oleorresina" debe entenderse como extracto lípido de un material que contiene carotenoides, lo cual incluye carotenoides, triglicéridos, fosfolípidos, tocoferoles, tocotrienoles, fitoesteroles y otros compuestos menos importantes. Sorprendentemente se

ha encontrado que la retroisomerización del licopeno en la oleorresina de tomate isomerizada se puede minimizar reduciendo su contenido de isómero 13-Z.

5 En una forma de ejecución el material que contiene el carotenoide puede ser un extracto, un concentrado o una oleorresina que se obtiene, se extrae, se enriquece o se purifica a partir de una planta o de una sustancia vegetal, de un microorganismo, de una levadura o de un producto de origen animal. Además se somete a un tratamiento para aumentar su contenido de isómeros Z del carotenoide, tal como se describe abajo.

10 Si la fuente de carotenoide es de origen vegetal puede tratarse de hortalizas, hojas, flores, frutos y otras partes de la planta. En una forma de ejecución preferida la fuente de carotenoides son los tomates (es decir tomate entero, extracto de tomate, pulpa de tomate, puré de tomate, piel de tomate, con o sin semillas), zanahorias, melocotones, albaricoques, naranjas, melones, guayabas, papayas, pomelos, bayas de Goji, escaramujos, soja, té verde, especias como jengibre u otras, uvas y/o cacao. Los concentrados adecuados de plantas u hortalizas se pueden obtener p.ej. secando o liofilizando las plantas u hortalizas recién cortadas o sus correspondientes raíces, frutos o semillas y luego moliendo o granulando opcionalmente el material secado. Los métodos apropiados para obtener los extractos de las plantas u hortalizas arriba citadas son conocidos del estado técnico. Los extractos de las plantas u hortalizas se pueden obtener, por ejemplo, extrayendo las plantas u hortalizas recién cortadas o procesadas o sus respectivas raíces, frutos o semillas con agua o con uno o más disolventes de de calidad alimentaria o con una mezcla de agua y uno o más disolventes de de calidad alimentaria. Es preferible que los extractos y concentrados según la presente invención sean lipídicos o acuosos. Como los carotenoides son liposolubles, la extracción con agua eliminará los constituyentes hidrosolubles no deseados, como por ejemplo azúcares, aminoácidos, proteínas solubles y/u ácidos orgánicos.

25 Si el material que contiene el carotenoide se obtiene de microorganismos, puede usarse cualquier microorganismo que produzca carotenoides, en particular microorganismos probióticos como por ejemplo la bacteria de ácido láctico. El producto de origen animal puede provenir, por ejemplo, del salmón, de camarones, de kril o de un extracto de hígado o de una fracción de la leche. En la presente exposición el significado del término "fracción de leche" debe entenderse como alusivo a cualquier parte de la leche.

30 En una forma de ejecución alternativa, el material que contiene el carotenoide puede ser una oleorresina. Los métodos adecuados para obtener oleorresinas a partir de las plantas u hortalizas arriba citadas son bien conocidos del estado técnico. Por ejemplo, las oleorresinas se pueden obtener por extracción lipídica mediante un disolvente que sea compatible con la industria alimentaria, cosmética o farmacéutica. Por ejemplo, las oleorresinas preparadas por métodos convencionales tienen un contenido de carotenoide del 0,05% al 50% en peso aproximadamente. Su contenido en isómero todo-E de carotenoides suele ser superior al de isómeros Z, p.ej. la relación de isómeros Z/E de licopeno en una oleorresina de tomate escogida es de 7:93 aproximadamente.

40 Las oleorresinas son el material de partida preferido para obtener la composición primaria conforme a la presente invención, porque contienen otros carotenoides o antioxidantes tales como la vitamina E, que también estabiliza la composición. La actividad biológica y la estabilidad del compuesto carotenoide en la oleorresina se pueden mejorar, en concreto durante el proceso de isomerización, y el rendimiento del Z licopeno en la composición primaria también se puede incrementar.

45 El material que contiene el carotenoide se selecciona entre licopeno, zeaxantina, astaxantina, beta-criptoxantina, capsantina, cantaxantina, luteína y combinaciones de las mismas. Los compuestos carotenoides se han sometido a un tratamiento para aumentar la fracción de isómeros Z en la composición primaria.

50 Con el fin de obtener una composición primaria con tal perfil de isómeros, el material que contiene el carotenoide se somete a un tratamiento en condiciones suficientes para incrementar el contenido en isómeros Z del compuesto carotenoide; en particular el material que contiene el carotenoide tiene un porcentaje en peso de un isómero elegido del grupo formado por los isómeros 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos mayor que el del isómero 13-Z.

55 En una forma de ejecución el material que contiene el carotenoide y está en forma de un extracto, un concentrado o una oleorresina se somete a una isomerización, empleando catalizadores sólidos neutros, ácidos o básicos (p.ej. arcillas, zeolitas, tamices moleculares, intercambiadores iónicos) para producir mezclas con una alta relación Z/E. El uso de catalizadores sólidos para enriquecer el carotenoide en isómeros Z no contamina ni perjudica el alimento, porque los catalizadores se pueden eliminar convenientemente por simple filtración o centrifugación. Asimismo, las combinaciones de catalizadores sólidos con otros medios usuales (p.ej. calor, luz e iniciadores radicalarios) también pueden favorecer la isomerización geométrica.

60 En otra forma de ejecución, los extractos o derivados según la presente invención se pueden preparar a partir de tomates, partes de tomates (como la piel), derivados (como las salsas y concentrados) o extractos. La isomerización se efectúa por calentamiento prolongado en un disolvente. En particular, cuando se usan tomates o sus derivados como materiales de partida, éstos se pueden tratar con un disolvente capaz de extraer licopeno. Luego se calienta el extracto resultante y se elimina el disolvente, recuperando así el extracto isomerizado.

65

Por otra parte, cuando se emplea un extracto o derivado como material de partida, éste se absorbe en un disolvente y la mezcla se calienta durante un tiempo apropiado, luego se elimina el disolvente, recuperando así el extracto isomerizado. Los disolventes que pueden utilizarse en la etapa de isomerización son hidrocarburos, hidrocarburos clorados, ésteres, cetonas, alcoholes; en particular hidrocarburos alifáticos C3-C10, disolventes clorados C1-C3, ésteres C3-C6, cetonas C3-C8 y alcoholes C1-C8; más concretamente hexano, tetracloruro de carbono, acetato de etilo, acetona y butanol. La isomerización en disolventes se realiza a temperaturas entre 50 y 150°C, preferiblemente a temperaturas entre 60 y 130°C. El tiempo de isomerización varía entre 4 y 240 h, preferiblemente entre 10 y 180 h.

La relación de isómeros Z/E en la composición primaria puede incrementarse luego hasta por lo menos 20:80, preferiblemente entre 20:80 y 95:5, con mayor preferencia entre 30:70 y 90:10. En una forma de ejecución preferida la relación (5Z+9Z)/E es superior a 1 y el isómero 13Z se elimina parcialmente.

En una forma de ejecución la presente invención proporciona una composición primaria en forma de polvo, líquido o gel, que comprende un compuesto carotenoide y tiene una mejor biodisponibilidad y/o bioeficacia que el compuesto solo. La composición primaria también puede estar en forma altamente dispersable en agua, si la forma escogida es en polvo. En este caso el polvo es dispersable en agua a temperatura ambiente. La composición primaria también proporciona carotenoides en una forma especialmente muy soluble en lípidos y disolventes orgánicos, con menos tendencia a cristalizar y a constituir agregados.

En otra forma de ejecución de la presente invención la composición primaria se puede usar sola o combinada con otros compuestos activos, tales como vitamina C, vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles), carotenoides (carotenos, licopeno, luteína, zeaxantina, beta-criptoxantina, etc.), ubiquinonas (p.ej. CoQ10), catequinas (p.ej. galato de epigallocatequina), extractos de café con contenido de polifenoles y/o diterpenos (p.ej. kawheol y cafestol), extractos de achicoria, extractos de ginkgo biloba, uvas o extractos de pepitas de uva ricos en proantocianidinas, extractos de especias (p.ej. de romero), extractos de soja que contienen isoflavonas y fitoestrógenos relacionados y otras fuentes de flavonoides con acción antioxidante, ácidos grasos (p.ej. ácidos grasos n-3), fitoesteroles, fibras prebióticas, microorganismos probióticos, taurina, resveratrol, aminoácidos, selenio y precursores de glutatión, o proteínas tales como, por ejemplo, las del suero de leche.

La composición primaria puede contener además uno o más ingredientes entre emulsionantes, estabilizantes y otros aditivos. Los emulsionantes compatibles en el campo alimentario son por ejemplo fosfolípidos, lecitina, mono- o triestearato, monolaurato, monopalmitato, mono- o trioleato de polioxietilen-sorbitán; un mono- o diglicérido. Puede añadirse cualquier tipo de estabilizante conocido en la industria alimentaria, cosmética o farmacéutica. También se pueden agregar sustancias aromatizantes, colorantes y cualquier otro aditivo apropiado conocido en la industria alimentaria, cosmética o farmacéutica. Estos emulsionantes, estabilizantes y aditivos se pueden incorporar según el uso final de las composiciones primarias.

En una forma de ejecución alternativa la presente invención proporciona una composición oral que comprende la composición primaria arriba descrita en un suplemento alimenticio, en una comida para mascotas, en un preparado cosmético o en un preparado farmacéutico.

En una forma de ejecución preferida, una composición alimenticia para el consumo humano se puede suplementar con la composición primaria. Esta composición alimenticia puede ser por ejemplo una fórmula nutricional completa, un producto lácteo, una bebida refrigerada o estable al almacenamiento, un agua mineral, una bebida líquida, una sopa, un suplemento dietético, una comida sustitutiva, una barra nutricional, una golosina, una leche o producto lácteo fermentado, un yogurt, una leche en polvo, un producto de nutrición enteral, una fórmula infantil, un producto de nutrición infantil, un producto cereal o de cereales fermentados, un helado, un chocolate, un café, un producto culinario como mayonesa, puré de tomate o aderezo para ensaladas o una comida para mascotas.

Para su uso en composiciones alimenticias la composición primaria se puede agregar a dichos alimentos o bebidas de manera que la ingesta diaria del carotenoide, por ejemplo de licopeno, contenido en la composición primaria esté comprendida aproximadamente entre 0,001 y 50 mg. Se prevé preferiblemente una ingesta diaria de 5 a 20 mg.

El suplemento nutricional para administración oral puede estar en cápsulas, cápsulas de gelatina, cápsulas blandas, tabletas, tabletas recubiertas de azúcar, píldoras, pastas o pastillas, gomas o en soluciones o emulsiones bebibles, jarabes o geles, con una dosis de aproximadamente 0,001% hasta 100% de la composición primaria, que luego se puede tomar directamente con agua o cualquier otro medio conocido. Este suplemento también puede incluir un edulcorante, un estabilizante, un aditivo, un saborizante o un colorante. Un suplemento con fines cosméticos puede comprender adicionalmente un compuesto activo para la piel. Debe entenderse que los suplementos se pueden elaborar por cualquiera de los métodos conocidos por los expertos en la materia.

En otra forma de ejecución, una composición farmacéutica que contenga las composiciones primarias se puede administrar para tratamientos profilácticos y/o terapéuticos en cantidad suficiente para curar o al menos frenar en parte los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. En la presente descripción una cantidad adecuada para conseguirlo se define como "dosis terapéuticamente efectiva". Las cantidades que puedan ser efectivas para ello dependerán de la gravedad de la enfermedad y del peso y estado general del paciente.

En las aplicaciones profilácticas las composiciones primarias según la presente invención se pueden administrar a un paciente susceptible o en riesgo de contraer una determinada enfermedad. En tal caso la cantidad se define como “dosis profilácticamente efectiva”. Las cantidades exactas para este uso dependerán nuevamente del estado de salud y del peso del paciente.

5 En una forma de ejecución alternativa las composiciones primarias de la presente invención se pueden administrar con un vehículo farmacéuticamente aceptable cuya naturaleza difiere según el modo de administración, por ejemplo por vía parenteral, intravenosa, oral y tópica (incluyendo la oftálmica). La formulación deseada se puede elaborar empleando una variedad de excipientes, incluyendo por ejemplo las calidades farmacéuticas de manita, lactosa, almidón, estearato magnésico, sacarina sódica, celulosa, carbonato magnésico. La composición farmacéutica puede ser una tableta, una cápsula, una píldora, una solución, una suspensión, un jarabe, un suplemento oral seco, un suplemento oral húmedo.

15 Las composiciones farmacéuticas para humanos según la presente invención pueden comprender preferiblemente una cantidad de la composición primaria arriba descrita para su administración diaria, de manera que la cantidad de carotenoide oscile entre 0,01 mg y 100 mg. Para su administración diaria a mascotas, la cantidad de carotenoide puede oscilar entre 0,01 mg y 100 mg.

20 Se entiende que el especialista, basándose en sus propios conocimientos, seleccionará los componentes adecuados y la forma galénica para dirigir el compuesto activo hacia el tejido que interese, p.ej. la piel, el colon, el estómago, el riñón o el hígado, teniendo en cuenta el modo de administración, que puede ser por inyección, aplicación tópica, administración intranasal, administración mediante sistemas de liberación continua implantados o transdérmicos, y similares.

25 En otra forma de ejecución la presente invención proporciona una composición cosmética que lleva la composición primaria arriba descrita. Se puede formular, por ejemplo, como lociones, champús, cremas, filtros solares, cremas para después de tomar el sol, cremas y/o ungüentos anti-envejecimiento. El contenido de composición primaria puede estar preferiblemente entre 10^{-10} % y 10% en peso de las composiciones cosméticas. Con mayor preferencia las composiciones cosméticas contienen entre 10^{-8} % y 5% en peso del compuesto carotenoide. Las composiciones cosméticas que pueden aplicarse tópicamente pueden contener además una grasa o un aceite de uso cosmético como los mencionados en la obra de la CTFA, Cosmetic Ingredients Handbook, Washington.

35 Las composiciones cosméticas de la presente invención también pueden incluir cualquier otro ingrediente adecuado cosméticamente activo. La composición comprende adicionalmente un agente estructurador y un emulsionante. También pueden añadirse a las composiciones cosméticas otros excipientes, colorantes, fragancias u opacificantes. Se entiende que dichos productos cosméticos contendrán una mezcla de distintos ingredientes, conocidos de la persona experta, que faciliten una penetración rápida de la sustancia apropiada en la piel y eviten su degradación durante el almacenamiento.

40 También debe entenderse que los conceptos de la presente invención son igualmente aplicables como terapia coadyuvante de las medicaciones utilizadas actualmente. Como los compuestos primarios de la presente invención pueden administrarse fácilmente junto con productos alimenticios, se puede usar una comida clínica especial que contenga una gran cantidad de las composiciones primarias. Debe quedar claro que al leer la presente descripción junto con las reivindicaciones adjuntas, a la persona experta se le ocurrirán varias alternativas distintas de las formas de ejecución aquí mencionadas.

45 La presente invención se refiere adicionalmente al uso de la composición primaria o de la composición oral o de la composición cosmética arriba descritas para la preparación de un producto destinado a proteger los tejidos cutáneos del envejecimiento, en particular para evitar el deterioro de la piel y/o de las membranas, inhibiendo las colagenasas y favoreciendo la síntesis de colágeno. De hecho el empleo de la composición primaria arriba descrita, por ejemplo, permite aumentar la biodisponibilidad del compuesto carotenoide en el cuerpo y frenar el envejecimiento de la piel. Las composiciones primarias también pueden servir para prevenir o tratar pieles sensibles, secas o reactivas, o para mejorar la densidad o la firmeza de la piel y protegerla de la luz, para prevenir o tratar enfermedades o trastornos cardiovasculares y cánceres. También son especialmente beneficiosas para el pelo o el plumaje de las mascotas, por ejemplo para mejorar su densidad, el diámetro de la fibra, su color, untuosidad y brillo, y para ayudar a prevenir su pérdida.

50 Los efectos positivos de la composición primaria de la presente invención sobre la piel de los humanos o de las mascotas se pueden medir por métodos convencionales tales como, por ejemplo, dosis eritémica mínima (DEM), colorimetría, pérdida de agua transepidérmica, reparación de ADN, medición de la producción de interleucinas y proteoglicanos o actividad de las colagenasas, función de barrera o renovación celular, o ecografía ultrasónica.

Ejemplos

65 Ejemplo 1: estudio de la estabilidad de los isómeros de licopeno

La estabilidad de los isómeros de licopeno se evaluó en un disolvente orgánico y en un extracto de tomate.

Materiales

Se obtuvo oleorresina de tomate rica en licopeno de Indena s.p.a. (Milán, Italia). Su contenido total de licopeno ascendía a un 9,1%, del cual los isómeros todo-E- y 5-Z representaban el 93,5% y el 6,5% respectivamente. Se prepararon dos oleorresinas isomerizadas calentando una suspensión de oleorresina de tomate en acetato de etilo (1:10 p/p) durante 1 h o 48 h. Después de enfriar a temperatura ambiente se centrifugaron las suspensiones y el acetato de etilo de los sobrenadantes recuperados se eliminó por destilación a presión reducida. El di-t-butil-hidroxitolueno (BHT) y la N-etildiisopropilamina eran de Fluka AG. Todos los disolventes eran de calidad HPLC y se usaron sin purificar.

Separación de los isómeros de licopeno puros

El 5-Z, 9-Z, 13-Z y todo-E licopeno puros se aislaron de la oleorresina de tomate isomerizada (sometida a 1 hora de calentamiento), recogiendo las fracciones que contenían los respectivos picos tras la separación por HPLC (véanse a continuación las condiciones experimentales). Los picos se recogieron durante dos tandas consecutivas de HPLC y las fracciones correspondientes se juntaron.

Análisis de licopeno

La cantidad total de licopeno se determinó por HPLC de fase inversa en una precolumna C₁₈ (ODS Hypersil, 5 µm, 20 x 4 mm; Hewlett Packard, Ginebra, Suiza) y una columna C₁₈ (Nova pak, 3,9 mm de d.i. x 300 mm de longitud, Millipore, Volketswil, Suiza). La separación se realizó a temperatura ambiente en condiciones isocráticas con una fase móvil formada por acetonitrilo/tetrahidrofurano/metanol/acetato amónico al 1% (533,5:193,6:53,7:28, p/p/p/p). El caudal de fase móvil fue de 1,5 ml/min. Los perfiles isoméricos de licopeno se determinaron mediante HPLC de fase normal según el método descrito por Schierle y otros (1997). Food. Chem. 59: 459. Las muestras de oleorresinas isomerizadas se disolvieron en n-hexano que contenía 50 ppm de BHT y se extrajeron a máxima velocidad con una centrífuga Eppendorf Lab. Los sobrenadantes resultantes se analizaron inmediatamente por HPLC. El sistema de HPLC empleado fue un modelo Hewlett-Packard de la serie 1100 equipado con un detector de fotodiodos en serie ultravioleta-visible. Los datos se registraron simultáneamente a 470 nm, 464 nm, 346 nm y 294 nm. Las muestras (10 µl) se separaron con una combinación de tres columnas Nucleosil 300-5 (4 mm de diámetro interior x 250 mm de longitud, Macherey-Nagel). La separación se realizó a temperatura ambiente en condiciones isocráticas con una fase móvil formada por n-hexano con 0,15% de N-etildiisopropilamina. El caudal fue de 0,8 ml/min. Los isómeros Z de licopeno se identificaron según los datos de la literatura.

Las proporciones de isómeros de licopeno se calcularon basándose en las áreas de los picos de HPLC, usando el mismo coeficiente de extinción que el todo-E licopeno. Por tanto la concentración de licopeno en los productos que contienen isómeros Z está algo subestimada, pues es sabido que los coeficientes de extinción de los isómeros Z son inferiores al del isómero todo-E.

Condiciones de los ensayos de estabilidad

Se estudió la estabilidad de los isómeros de licopeno en n-hexano y en una oleorresina de tomate isomerizada por calentamiento en acetato de etilo durante 4 horas. Para ello se mantuvieron isómeros de licopeno puros durante 33 días en n-hexano a temperatura ambiente y en ausencia de luz, y la oleorresina de tomate isomerizada se guardó 55 días a temperatura ambiente y en ausencia de luz. La concentración total de licopeno y los perfiles isoméricos de licopeno se midieron a distintos intervalos de tiempo durante el almacenamiento.

Resultados

Estabilidad de los isómeros de licopeno en n-hexano

Los resultados del ensayo de estabilidad de los isómeros de licopeno puros durante el almacenamiento en n-hexano a temperatura ambiente y en ausencia de luz están indicados en la tabla 1. Todos los isómeros, es decir incluido el isómero todo-E, experimentaron una isomerización geométrica durante el almacenamiento. El 13-Z fue el isómero menos estable: mientras que menos del 50% de 5-Z, 9-Z y todo-E licopeno se transformaron después de 33 días de almacenamiento, más del 80% del 13-Z licopeno se convirtió en otros isómeros durante este periodo de tiempo. La vía de transformación también fue diferente para el 13-Z licopeno en comparación con los demás isómeros Z: así como el isómero 13-Z se convirtió principalmente en el isómero todo-E, los isómeros 5-Z y 9-Z se transformaron sobre todo en otros isómeros Z durante el almacenamiento en n-hexano.

Tabla 1: estabilidad de los isómeros de licopeno puros en n-hexano durante el almacenamiento a temperatura ambiente

	tiempo (días)	concentración (% del total de isómeros)				
		todo E	13-Z	9-Z	5-Z	x-Z
todo-e licopeno	0	97,6	1,4	0,5	0,5	0,1
	1	86,0	10,1	1,2	1,2	1,5

	2	78,4	15,0	1,1	2,6	3,0
	5	69,3	19,6	2,2	3,8	5,1
	12	67,8	18,2	2,0	6,4	5,6
	33	58,7	15,7	3,8	13,4	8,4
5-Z licopeno	0	1,1	n.d.	n.d.	95,5	3,4
	1	2,2	n.d.	n.d.	84,3	13,5
	2	2,4	n.d.	n.d.	76,9	20,6
	5	3,9	n.d.	n.d.	68,4	27,7
	12	5,6	1,7	0,7	65,3	26,7
	33	10,7	2,8	2,3	53,5	30,7
9-Z licopeno	0	4,4	0,6	93,3	1,8	0
	1	5,8	2,3	87,1	2,1	2,8
	2	6,0	3,1	83,5	11,6	5,9
	5	5,6	5,2	79,2	1,5	8,6
	12	7,0	8,2	66,5	2,3	15,9
	33	9,8	10,5	56,0	4,1	19,7
13-Z licopeno	0	2,4	96,6	0	0	1,0
	1	42,6	57,0	0,4	0	0
	2	59,8	38,7	0	0	1,5
	5	68,9	23,4	1,5	1,9	4,3
	12	65,5	20,8	2,6	5,3	5,8
	33	57,0	16,9	4,2	11,7	10,2

Estabilidad de los isómeros de licopeno en oleorresina de tomate

5 Los resultados del ensayo de estabilidad de los isómeros de licopeno en una oleorresina de tomate calentada durante 48 horas en acetato de etilo están indicados en la tabla 2.

Tabla 2: estabilidad de los isómeros de licopeno en oleorresina de tomate isomerizada durante el almacenamiento a temperatura ambiente (n = 2)

Tiempo de almacenamiento (días)	Licopeno total (mg/g)	13-Z %	9-Z %	todo-E %	5-Z %
0	55,6 ± 3,0	17,4 ± 0,4	32,7 ± 0,7	18,7 ± 0,6	12,0 ± 0,4
3	56,6 ± 0,8	12,4 ± 0,1	31,4 ± 0,3	25,6 ± 0,5	13,0 ± 0,1
5	58,7 ± 0,4	9,5 ± 0,0	30,6 ± 0,5	30,6 ± 0,6	14,0 ± 0,4
7	59,2 ± 0,1	7,3 ± 0,2	30,9 ± 0,7	32,9 ± 0,3	14,4 ± 0,2
11	59,3 ± 0,8	5,2 ± 0,1	29,4 ± 0,0	36,5 ± 0,1	15,0 ± 0,1
17	60,1 ± 0,9	3,3 ± 0,4	29,0 ± 0,4	38,9 ± 0,4	15,4 ± 0,4
20	58,8 ± 0,9	2,9 ± 0,3	29,2 ± 0,4	39,9 ± 1,3	15,2 ± 0,6
34	51,3 ± 7,7	2,2 ± 0,1	30,0 ± 0,1	40,1 ± 0,7	14,1 ± 1,0
47	53,9 ± 1,2	1,9 ± 0,6	30,0 ± 0,3	41,4 ± 0,7	14,6 ± 1,3

10 El contenido total de licopeno se mantuvo estable durante el almacenamiento a temperatura ambiente. No obstante el perfil de isómeros de licopeno varió notablemente, con un descenso del contenido de 13-Z licopeno y un aumento del todo-E licopeno. El contenido de 9-Z y 5-Z licopeno permaneció estable durante el periodo de almacenamiento.

15 Conclusión

Ambas pruebas de estabilidad demostraron que el 13-Z licopeno era mucho menos estable que los isómeros 5-Z o 9-Z o todo-E. Por consiguiente una oleorresina de tomate isomerizada con un bajo nivel de 13-Z licopeno debería tener una buena estabilidad de su perfil de isómeros de licopeno.

20 **Ejemplo 2: oleorresina de tomate isomerizada con mayor biodisponibilidad**

Objetivo:

25 El objetivo del presente trabajo era investigar la biodisponibilidad de varios isómeros de Z-licopeno en humanos. Para elucidar la biodisponibilidad del isómero específico de Z-licopeno en humanos se enriquecieron oleorresinas de tomate en distintos isómeros de Z-licopeno hasta alcanzar aproximadamente un 60% del contenido total de licopeno, es decir una rica en 5-Z licopeno, otra rica en 13-Z licopeno y la última rica en una mezcla de 9-Z licopeno y 13-Z licopeno.

30 Material y método

Sujeto

En el estudio se inscribieron treinta hombres sanos. Los criterios de inclusión eran que las personas no fueran vegetarianas ni fumadoras y que no tuvieran trastornos metabólicos tales como diabetes; hipertensión; afecciones renales, hepáticas o pancreáticas, ni úlceras. Los sujetos eran normolipidémicos, es decir, tenían una relación de colesterol en plasma a colesterol HDL < 5,0 y concentraciones de triacilglicérols (TAG) en plasma < 1,5 mmoles/l.

5 Por la gran cantidad de sangre extraída durante el estudio se exigió que los sujetos tuvieran una concentración de hemoglobina en sangre > 13 g/dl. Se excluyeron del estudio aquellos sujetos que tomaban medicación para alterar el colesterol o que recibían tratamiento hipolipidémico o suplementos vitamínicos y minerales desde 3 meses antes del inicio del estudio hasta su finalización, o que se habían sometido a cirugía mayor gastrointestinal, habían hecho ejercicio intensivo tal como correr maratones y consumido diariamente > 2 vasos de vino (3 dl), > 2 cervezas (3 dl) o > 1 vaso (copita) de licor fuerte. Veintisiete de los 30 voluntarios completaron los 4 ensayos postprandiales. Tres voluntarios abandonaron el ensayo antes del final por los siguientes motivos: falta de disponibilidad, tratamiento médico relacionado con una lesión ocular, náuseas relacionadas con el consumo de comidas grasas. Los sujetos tenían 24 ± 1 años de edad, un peso corporal de 70 ± 1 kg y un índice de masa corporal (IMC) de $22,5 \pm 0,3$ kg/cm².

15 El protocolo fue aprobado por el comité ético de Marsella (Marsella, Francia). Los sujetos recibieron información sobre los antecedentes y el planteamiento del estudio y dieron su consentimiento informado por escrito antes de participar. En cualquier momento eran libres de retirarse del estudio.

Diseño del estudio

20 Se trataba de un ensayo clínico cruzado, aleatorizado y doble ciego, de 4 periodos y 4 tratamientos, con un periodo mínimo de 3 semanas sin tratamiento. Tras un ayuno nocturno los sujetos llegaron al Centro de farmacología clínica y ensayos terapéuticos de la universidad de Marsella y consumieron una comida estándar consistente en 25 mg de licopeno incorporados a 40 g de aceite de cacahuete mezclado con 70 g de sémola de trigo (cocida con 200 ml de agua corriente). Asimismo consumieron 40 g de pan, 60 g de claras de huevo cocidas y un yogur de 125 g que contenía 5 g de azúcar blanco, y bebieron 330 ml de agua (Aquarel, Nestlé). Esta comida estándar aportó 842 kcal (3520 kJ) con la siguiente composición de nutrientes: proteínas (11,7%), carbohidratos (39,3%) y lípidos (49,0%). Esta comida se consumió en 15 min. No se permitió ninguna otra comida durante las siguientes 6 h, pero se dejó a los sujetos beber hasta un agua embotellada (330 ml) durante las últimas 3 h posteriores a la absorción (Aquarel, Nestlé).

Suplementos de licopeno

35 Se ensayaron cuatro productos diferentes de tomate, cada uno de los cuales aportaba 25 mg de licopeno total. Consistían en:

- Pasta de tomate (THOMY, Suiza) con contenido de licopeno, mayormente en configuración todo-E
- Oleoresina de tomate enriquecida con 5-Z licopeno
- Oleoresina de tomate enriquecida con 13-Z licopeno
- Oleoresina de tomate enriquecida con una mezcla de 9-Z y 13-Z licopeno

40 La tabla 3 presenta el contenido de licopeno y el perfil de isómeros de licopeno de estos cuatro productos de tomate.

Tabla 3: licopeno total, licopeno todo-E y suma de isómeros Z de licopeno en 4 productos de tomate

	todo-E (% del total de licopeno)	5-Z (% del total de licopeno)	9-Z (% del total de licopeno)	13-Z (% del total de licopeno)	X*-Z (% del total de licopeno)
Pasta de tomate	94,9	4,1	nd	0,1	nd
5-Z	33,4	65,3	1,3	nd	nd
13-Z	29,3	7,6	9,6	41,5	12,0
9- y 13-Z	27,7	7,7	30,8	23,5	10,2
X* isómeros de licopeno no identificados: son un grupo de isómeros desconocidos de licopeno, calculado a partir de las áreas de los picos correspondientes en el cromatograma de HPLC.					

Recogida de muestras de sangre

50 Se extrajo sangre en ayunas de una vena antecubital por venopunción hacia un tubo evacuado que contenía EDTA/K₃, el cual se puso inmediatamente en un baño de hielo-agua y se cubrió con una hoja de aluminio para evitar la exposición a la luz. Las muestras de sangre en ayunas se recogieron a los 20 y 5 minutos antes de consumir la comida estándar, así como a las 2 h, 3 h, 4 h, 5 h y 6 h posteriores a la absorción. El tubo que contenía la sangre se protegió de la luz, se conservó a 4°C y luego se centrifugó antes de 2 h (10 min, 4°C, 2.800 rpm) para separar el plasma. Se agregó una combinación de inhibidores (10 µl/ml) (Cardin y otros, Degradation of apolipoprotein B-100 of human plasma low density lipoproteins by tissue and plasma kallikreins [*Degradación de la apolipoproteína B-100 de lipoproteínas de baja densidad del plasma humano por caliceínas de los tejidos y del plasma*], Biol Chem 1984; 259:8522-8.).

Separación de lipoproteínas plasmáticas ricas en triglicéridos (LRT)

Tras el consumo de una comida grasa las moléculas lipófilas de la dieta se incorporan a los quilomicrones, que son secretados a la sangre. Las lipoproteínas se separan por metodología de ultracentrifugación basada en su densidad. Debido a la densidad tan similar de los quilomicrones (0,95 g/ml) y del VLDL (1,006 g/ml) no es posible separarlos entre sí y se recogen todos juntos en una fracción llamada lipoproteínas ricas en triglicéridos (LRT). Sin embargo en el estado postprandial esta fracción plasmática de LRT contiene principalmente quilomicrones secretados desde el intestino, lo cual es una buena estimación de la biodisponibilidad intestinal.

Lipoproteínas ricas en triglicéridos (LRT) que contenían principalmente quilomicrones con una pequeña proporción de VLDL se separaron inmediatamente por ultracentrifugación del modo siguiente: 6 ml de plasma se cubrieron con una solución al 0,9% de NaCl y se ultracentrifugaron durante 28 min a 32.000 rpm, a 10°C, con un rotor SW41TI (Beckman) en una ultracentrífuga L7 (Beckman). Inmediatamente después de la centrifugación las LRT se dividieron en alícuotas y se conservaron a -80°C antes de las determinaciones analíticas. Los análisis de licopeno se realizaron antes de transcurridos 10 días y los análisis de triacilglicerol antes de transcurridos 30 días.

Determinación analítica

Los triglicéridos se analizaron por un método enzimático y colorimétrico, usando un kit comercial (Kit Bio-Mérieux). El licopeno total y los perfiles isoméricos de licopeno se determinaron por el método de HPLC de fase inversa y de fase normal, respectivamente (M. Richelle, K. Bortlik, S. Liardet, C. Hager, P. Lambelet, L.A. Applegate, E.A. Offord, J. Nutr. (2002) 132, 404-408.). El contenido de licopeno total se calculó como la suma de los isómeros 5-Z, 9-Z, 13-Z, x-Z y todo-E-licopeno. El isómero de licopeno se cuantificó utilizando el coeficiente de extinción del todo-E licopeno, ya que el valor exacto para todos los isómeros Z de licopeno todavía se desconoce. El perfil isomérico de licopeno se determina mediante la relación de cada isómero de licopeno a licopeno total, expresada en tanto por ciento.

Análisis estadístico

La biodisponibilidad de licopeno se evaluó midiendo el área bajo la curva (ABC) de concentración de licopeno en LRT – tiempo. Esta área se calculó a lo largo del periodo 0-6 horas, empleando el método trapezoidal (ABC (0-6 h)). Los datos están indicados como valor medio \pm ESM. Como concentración de referencia se tomó el promedio de las concentraciones medidas en las dos muestras de plasma recogidas antes del consumo de la comida estándar que contenía 25 mg de licopeno procedente de la matriz de tomate. Para cada sujeto y cada tratamiento con licopeno se calculó la ABC (0-6 h) sustrayendo la concentración de referencia del valor de concentración medido en cada punto de tiempo posterior a la absorción. Cuando este valor fue negativo se consideró igual a cero.

Para cada tratamiento, si la distribución de la ABC (0-6 h) fue normal (pruebas de Skewness y Kurtosis), con o sin transformación logarítmica, la comparación se llevó a cabo mediante un modelo lineal mixto con el tratamiento como efecto fijo y el sujeto como efecto aleatorio. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SAS (versión 8.2; SAS Institute, Cary, NC). El nivel de rechazo en las pruebas estadísticas fue igual al 5%.

Resultados*Biodisponibilidad de licopeno*

Como los cuatro tratamientos a base de tomate inducían una variación en el nivel de secreción de triglicéridos, la biodisponibilidad de licopeno se normalizó utilizando la absorción de triglicéridos (ABC (0-6 h)). La biodisponibilidad de licopeno normalizada fue notablemente distinta entre los cuatro tratamientos de tomate (figura 1).

Sorprendentemente la biodisponibilidad de licopeno fue unas dos veces mejor partiendo de oleorresina de tomate rica en 5-Z licopeno que con los otros tres tratamientos, es decir pasta de tomate, oleorresina de tomate rica en 13-Z licopeno y oleorresina de tomate enriquecida con una mezcla de 13-Z y 9-Z licopeno ($p < 0,0001$) (figura 1).

Así como la biodisponibilidad de licopeno era similar a partir de la pasta de tomate y de la oleorresina de tomate con mezcla de 13-Z y 9-Z, la biodisponibilidad del licopeno presente en la oleorresina rica en 13-Z fue significativamente menor ($p < 0,03$) en comparación con la pasta de tomate.

Conclusión

Estos resultados indican que la configuración de la molécula de licopeno afecta notablemente al tráfico de licopeno dentro del tracto gastrointestinal y por lo tanto a la cantidad de licopeno que es absorbido. La biodisponibilidad del licopeno procedente de extracto de tomate rico en 5-Z licopeno es aproximadamente el doble que la del procedente de la pasta de tomate. En cambio el licopeno presente en el extracto de tomate rico en una mezcla de 13-Z y 9-Z tiene una biodisponibilidad similar a la del licopeno presente en la pasta de tomate, mientras que la oleorresina rica en 13-Z presenta un licopeno algo menos biodisponible. Varios autores ya han señalado que la presencia de Z-licopeno en un producto de tomate está relacionada con un aumento de la biodisponibilidad del licopeno. Este es el

primer estudio que demuestra cómo el aumento de la biodisponibilidad del licopeno está concretamente relacionado con la configuración del mismo, es decir 5-Z licopeno > 9-Z licopeno > 13-Z licopeno.

Ejemplo 3: extracción e isomerización en acetato de etilo

Se pican y homogenizan 52 kg de tomates frescos que contienen 100 ppm de licopeno. Se destila parte del agua a presión reducida para obtener 18 kg de concentrado de tomate. Éste se extrae con 36 l de acetato de etilo saturado de agua; durante la extracción la mezcla se mantiene a temperatura ambiente protegida de la luz y en agitación durante 2 horas. Luego el extracto se separa del concentrado de tomate. El procedimiento arriba descrito se repite dos veces con este concentrado de tomate, usando en total 108 l de disolvente. Los extractos combinados se lavan en un embudo aparte con 27 l de agua. Luego se descarta la fase acuosa y la fase orgánica se concentra a presión reducida para obtener una suspensión con 10% p/v de residuo seco; el residuo seco tiene un contenido total de licopeno del 9,1% p/p y un contenido de isómeros Z del 0,46% p/p. Esta mezcla se calienta a reflujo (76°C) y en agitación durante 7 días, antes de concentrarla a presión reducida hasta sequedad.

Al final se obtienen 46,8 g de extracto con un contenido total de licopeno del 9% p/p y un contenido de isómeros Z del 5,59% p/p; en particular el contenido de isómeros E es del 3,41% p/p y el contenido de isómero 13-Z es del 0,16% p/p. El perfil HPLC del extracto está representado en la figura.

Ejemplo 4: extracción e isomerización en hexano

Se pican y homogenizan 10 kg de tomates frescos que contienen 140 ppm de licopeno. Se destila parte del agua a presión reducida para obtener 2,5 kg de un concentrado de tomate que se extrae con 12,5 l de hexano. Durante la extracción la mezcla se mantiene a temperatura ambiente protegida de la luz y en agitación durante 2 horas. Luego el extracto se separa del concentrado de tomate. El proceso arriba descrito se repite una vez con este concentrado de tomate, usando en total 25 l de disolvente. Los extractos se combinan y se concentran a presión reducida para obtener una solución con 10% p/v de residuo seco; el residuo seco tiene un contenido total de licopeno del 9,1% p/p y un contenido de isómeros Z del 0,46% p/p. Esta mezcla se calienta a reflujo (69°C) y en agitación durante 6 días, antes de concentrarla a presión reducida hasta sequedad. Al final se obtienen 16,5 g de extracto con un contenido total de licopeno del 9,1% p/p y un contenido de isómeros Z del 5,62% p/p; en particular el contenido de isómeros E es del 3,38% p/p y el contenido de isómero 13-Z es del 0,18% p/p.

Ejemplo 5: isomerización en butanol

Se pican y homogenizan 10 kg de tomates frescos que contienen 90 ppm de licopeno. Se destila parte del agua a presión reducida para obtener 3,4 kg de un concentrado de tomate que se extrae con 7 l de acetato de etilo saturado de agua. Durante la extracción la mezcla se mantiene a temperatura ambiente protegida de la luz y en agitación durante 2 horas. Luego el extracto se separa del concentrado de tomate. El procedimiento arriba descrito se repite dos veces con este concentrado de tomate, usando en total 21 l de disolvente. Los extractos combinados se lavan en un embudo aparte con 5,3 l de agua. Luego se descarta la fase acuosa y la fase orgánica se concentra a presión reducida hasta sequedad. El residuo seco (9,8 g) - que tiene un contenido total de licopeno del 7,8% p/p y un contenido de isómeros Z del 0,40% p/p - se suspende en 98 ml of n-butanol. La mezcla se mantiene a 130°C en agitación durante 4 horas, antes de concentrarla a presión reducida hasta sequedad. Al final se obtienen 9,8 g de extracto con un contenido total de licopeno del 6,35% p/p y un contenido de isómeros Z del 4,50% p/p; en particular el contenido de isómeros E es del 1,85% p/p y el contenido de isómero 13-Z es del 0,47% p/p.

Ejemplo 6: isomerización sobre catalizadores sólidos

Materiales

La oleoresina rica en tomate se obtuvo de Indena s.p.a. (Milán, Italia). Su contenido total de licopeno ascendía al 9,1%, del cual los isómeros todo-E- y 5-Z representaban el 93,5% y el 6,5% respectivamente.

Métodos

Una suspensión de oleoresina de tomate en acetato de etilo (1:100 p/p) se filtró e incubó con 5% de catalizador sólido, agitando constantemente a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se centrifugó a velocidad máxima con una centrifuga Eppendorf Lab y un alícuota del sobrenadante se evaporó bajo atmósfera de N₂ y se resuspendió en n-hexano/BHT.

Análisis del licopeno

La cantidad total de licopeno y los perfiles isoméricos de licopeno se determinaron por HPLC de fase inversa y de fase normal respectivamente, en las condiciones analíticas descritas en el ejemplo 1.

Resultados

Los perfiles isoméricos de licopeno medidos en la oleorresina de tomate isomerizada durante 2 h a temperatura ambiente con el uso de catalizadores sólidos están indicados en la tabla 4.

Tabla 4: perfiles isoméricos de licopeno en oleorresinas de tomate isomerizadas con el uso de catalizadores sólidos

5

Catalizador	Concentración de isómero (% del total de isómeros)				
	todo E	13-Z	9-Z	5-Z	x-Z*
control	83,3	3,0	0,9	8,6	4,1
Tonsil Optimum	31,3	7,0	13,4	23,8	24,5
Amberlyst 15	34,5	4,8	11,2	19,4	30,1
* Isómeros de licopeno desconocidos					

10

El licopeno se isomerizó eficientemente durante 2 h de reacción en acetato de etilo a temperatura ambiente en presencia de Tonsil Optimum o Amberlyst 15. Mediante ambos catalizadores una gran fracción de isómero todo E de licopeno se convirtió en isómeros Z. Entre los isómeros de licopeno identificados el 5-Z se formó mayoritariamente, seguido del 9-Z y del 13-Z, respectivamente; por tanto la concentración del isómero 13-Z fue inferior al 10% en las oleorresinas de tomate isomerizadas.

REIVINDICACIONES

1. Composición primaria estable que incluye al menos un material de tipo carotenoide enriquecido en isómeros Z del compuesto carotenoide, donde el material de tipo carotenoide lleva respecto al contenido total de carotenoides un mayor porcentaje en peso de un isómero seleccionado del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos en comparación con el del isómero 13-Z y contiene una proporción superior al 30% en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos y una proporción de isómero 13-Z inferior al 10% en peso, y donde el compuesto carotenoide está seleccionado del grupo formado por licopeno, zeaxantina, astaxantina, beta-criptoxantina, capsantina, cantaxantina, luteína, fitoflueno, fitoeno y combinaciones de los mismos.
2. Composición primaria según la reivindicación 1, caracterizada porque el contenido de isómero E no es superior al 60% del contenido total de carotenoides.
3. Composición primaria según la reivindicación 1, en la cual el material que contiene carotenoides se obtiene, se extrae o se purifica a partir de una planta o de una sustancia vegetal, de un microorganismo, de una levadura o de un producto de origen animal.
4. Composición primaria según la reivindicación 1, en la cual el material que contiene carotenoides está en forma de un extracto, de un concentrado o de una oleorresina.
5. Composición primaria según la reivindicación 1, en la cual los isómeros Z del compuesto carotenoide están presentes en una cantidad efectiva para aumentar la biodisponibilidad y/o bioeficacia del compuesto carotenoide.
6. Composición primaria según la reivindicación 3, en la cual la planta o sustancia vegetal se elige del grupo formado por tomates, zanahorias, melocotones, albaricoques, naranjas, melones, guayabas, papayas, pomelos, escaramujos, soja, té verde, especias, uvas, cacao y combinaciones de ellos.
7. Composición primaria según la reivindicación 1, en la cual la relación de isómeros Z/E del compuesto carotenoide es por lo menos de 20:80.
8. Composición primaria según la reivindicación 1, la cual está en forma líquida, de gel o en polvo.
9. Composición oral que comprende una composición primaria según una de las reivindicaciones 1 a 8, la cual contiene un material de tipo carotenoide enriquecido en isómeros Z del compuesto carotenoide, de manera que el material de tipo carotenoide lleva respecto al contenido total de carotenoide un porcentaje en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos mayor que el de isómero 13-Z, y contiene una proporción superior al 30% en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos y una proporción inferior al 10% en peso del isómero 13-Z, y en la cual el compuesto carotenoide está elegido del grupo formado por licopeno, zeaxantina, astaxantina, beta-criptoxantina, capsantina, cantaxantina, luteína, fitoflueno, fitoeno y combinaciones de los mismos.
10. Composición oral según la reivindicación 9, cuya composición primaria está en un producto alimenticio, en un suplemento alimenticio, en una comida para mascotas o en un preparado farmacéutico.
11. Composición oral según la reivindicación 9, en la cual el producto alimenticio está elegido del grupo formado por una fórmula nutricional completa, un producto lácteo, una bebida refrigerada o estable al almacenamiento, un agua mineral, una bebida líquida, una sopa, un suplemento dietético, una comida sustitutiva, una barra nutricional, una golosina, una leche o producto lácteo fermentado, un yogurt, una leche en polvo, un producto de nutrición enteral, una fórmula infantil, un producto de nutrición infantil, un producto cereal o de cereales fermentados, un helado, un chocolate, un café, un producto culinario, una comida para mascotas y combinaciones de los mismos.
12. Composición oral según la reivindicación 10, en la cual el producto alimenticio se suministra en forma de cápsulas, cápsulas de gelatina, cápsulas blandas, tabletas, tabletas recubiertas de azúcar, píldoras, pastas o pastillas, gomas o en soluciones o emulsiones bebibles, jarabes o geles.
13. Composición oral según la reivindicación 9, la cual también incluye al menos edulcorante, un estabilizante, un saborizante o un colorante.
14. Composición oral según la reivindicación 9, en la cual el contenido de composición primaria está comprendido entre aproximadamente 0,001 y 100% en peso.
15. Composición oral según la reivindicación 9, en la cual el contenido de composición primaria está comprendido entre aproximadamente 10 y 50% en peso.
16. Composición cosmética que incluye una composición primaria con al menos un material de tipo carotenoide enriquecido en isómeros Z del compuesto carotenoide, de manera que el material de tipo carotenoide lleva respecto al contenido total de carotenoide un porcentaje en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y

combinaciones de ellos mayor que el de isómero 13-Z, y contiene una proporción superior al 30% en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos y una proporción inferior al 10% en peso del isómero 13-Z, y en la cual el compuesto carotenoide está elegido del grupo formado por licopeno, zeaxantina, astaxantina, beta-criptoxantina, capsantina, cantaxantina, luteína, fitoflueno, fitoeno y combinaciones de los mismos.

5 17. Composición cosmética según la reivindicación 16, en la cual el contenido de la composición primaria está comprendido entre aproximadamente 10^{-10} % y 10% en peso.

10 18. Proceso para elaborar una composición primaria que consiste en someter un material de tipo carotenoide a un tratamiento que aumente su contenido en isómeros Z del compuesto carotenoide y que está seleccionado del grupo formado por tratamiento ácido, irradiación electromagnética o reacción radicalaria, de modo que el contenido de isómeros Z corresponde a una cantidad efectiva para incrementar la biodisponibilidad y bioeficacia del compuesto carotenoide, y en particular el material de tipo carotenoide contiene respecto al contenido total de carotenoide un porcentaje en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos mayor que el de isómero 13-Z, y contiene una proporción superior al 30% en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos y una proporción inferior al 10% en peso del isómero 13-Z, y en la cual el compuesto carotenoide está elegido del grupo formado por licopeno, zeaxantina, astaxantina, beta-criptoxantina, capsantina, cantaxantina, luteína, fitoflueno, fitoeno y combinaciones de los mismos.

20 19. Proceso según la reivindicación 18, cuyo tratamiento consiste en una isomerización con el empleo de catalizadores sólidos neutros, ácidos o básicos, como p.ej. arcillas, zeolitas, tamices moleculares, intercambiadores iónicos, para producir mezclas con una elevada relación Z/E.

25 20. Proceso según la reivindicación 18, cuyo tratamiento consiste en una solubilización de los isómeros Z en disolventes orgánicos escogidos, seguida de una separación de fases por centrifugación o filtración.

30 21. Uso de una composición primaria que contiene al menos un material de tipo carotenoide enriquecido en isómeros Z, de manera que el material de tipo carotenoide contiene respecto al contenido total de carotenoide un porcentaje en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos mayor que el de isómero 13-Z, y contiene una proporción superior al 30% en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos y una proporción inferior al 10% en peso del isómero 13-Z, y en la cual el compuesto carotenoide está elegido del grupo formado por licopeno, zeaxantina, astaxantina, beta-criptoxantina, capsantina, cantaxantina, luteína, fitoflueno, fitoeno y combinaciones de los mismos, para preparar una composición oral, cosmética o farmacéutica destinada a mejorar la salud de la piel.

35 22. Uso según la reivindicación 21, en que la composición primaria se emplea para proteger los tejidos cutáneos contra el envejecimiento, para prevenir o tratar las pieles sensibles, secas o reactivas, o para mejorar la densidad o la firmeza de la piel o aumentar su protección contra la luz.

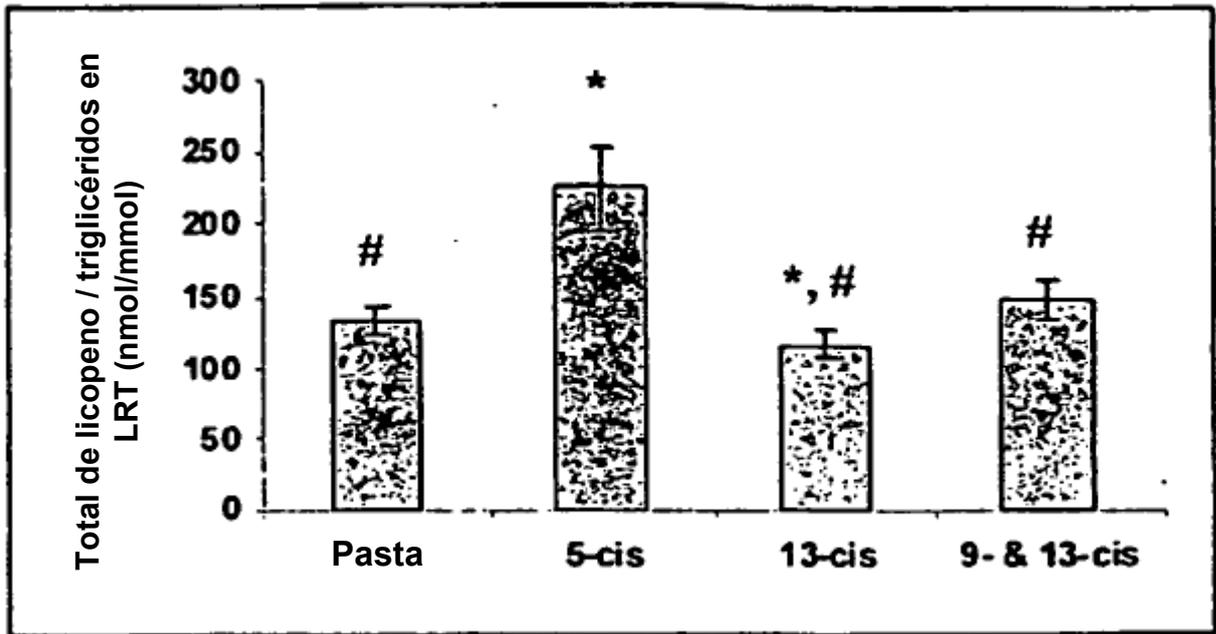
40 23. Uso de una composición primaria que contiene al menos un material de tipo carotenoide enriquecido en isómeros Z, de manera que el material de tipo carotenoide contiene respecto al contenido total de carotenoide un porcentaje en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos mayor que el de isómero 13-Z, y contiene una proporción superior al 30% en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos y una proporción inferior al 10% en peso del isómero 13-Z, y en la cual el compuesto carotenoide está elegido del grupo formado por licopeno, zeaxantina, astaxantina, beta-criptoxantina, capsantina, cantaxantina, luteína, fitoflueno, fitoeno y combinaciones de los mismos, para preparar una composición oral, cosmética o farmacéutica destinada a mejorar la calidad del pelo y del plumaje.

50 24. Uso según la reivindicación 23, en que la composición primaria se emplea para mejorar la densidad del pelo o del plumaje, el diámetro de la fibra, su color, untuosidad y brillo, y/o para evitar su pérdida.

55 25. Uso de una composición primaria que contiene al menos un material de tipo carotenoide enriquecido en isómeros Z, de manera que el material de tipo carotenoide contiene respecto al contenido total de carotenoide un porcentaje en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos mayor que el de isómero 13-Z, y contiene una proporción superior al 30% en peso de un isómero elegido del grupo formado por 5-Z, 9-Z y combinaciones de ellos y una proporción inferior al 10% en peso del isómero 13-Z, y en la cual el compuesto carotenoide está elegido del grupo formado por licopeno, zeaxantina, astaxantina, beta-criptoxantina, capsantina, cantaxantina, luteína, fitoflueno, fitoeno y combinaciones de los mismos, para preparar una composición oral, cosmética o farmacéutica destinada a prevenir o tratar enfermedades cardiovasculares.

60

Figura 1:



* Significativamente diferente de la pasta de tomate, $p < 0,05$

Significativamente diferente de la oleorresina de tomate rica en 5-Z, $p < 0,05$