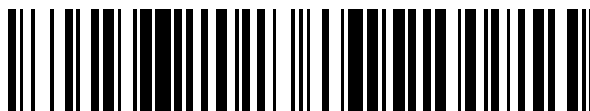


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 561 330**

15 Folleto corregido: T3

Texto afectado: Descripción

48 Fecha de publicación de la corrección: 30.05.2016

51 Int. Cl.:

**A23L 1/222** (2006.01)

**A23L 1/30** (2006.01)

**A61K 36/53** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA CORREGIDA

T9

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2007 E 07020260 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.12.2015 EP 2060192**

54 Título: **Composición que comprende extractos de toronjil**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**25.02.2016**

73 Titular/es:

**RUDOLF WILD GMBH & CO. KG (100.0%)**  
**Rudolf-Wild-Strasse 107-115**  
**69214 Eppelheim, DE**

72 Inventor/es:

**BUCHWALD-WERNER, SYBILLE;**  
**SCHOLZ, CLAUDIA;**  
**ZINK, RALF y**  
**SASS, MATTHIAS**

74 Agente/Representante:

**MILTENYI, Peter**

**ES 2 561 330 T9**

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

Composición que comprende extractos de toronjil

### Campo de la invención

5 La presente invención se refiere al campo de las composiciones alimenticias y se refiere a nuevos productos que comprenden extractos vegetales para luchar contra los síntomas del estrés, para la mejora del estado de ánimo y la mejora de las funciones cognitivas.

### Antecedentes de la invención

10 El estrés se cuenta comúnmente como uno de los factores sociales asociados con el desarrollo de la sociedad global. El estilo de vida, particularmente en los denominados países industrializados, se vuelve cada vez más rápido y por consiguiente el número de personas que se quejan de padecer falta de rendimiento mental, estado de alerta y satisfacción está aumentando.

15 En términos médicos, el estrés es la alteración de la homeostasis a través de estímulos físicos o psicológicos. Los estímulos estresantes pueden ser reacciones mentales, fisiológicas, anatómicas o físicas. Las respuestas al estrés incluyen adaptación, afrontamiento psicológico tal como gestión del estrés, ansiedad, y depresión. Cuando el estrés potencia la función (física o mental, tal como mediante entrenamiento de fuerza o trabajo que supone un reto) puede considerarse eustrés. El estrés persistente que no se resuelve mediante enfrentamiento o adaptación puede conducir a comportamiento de escape (ansiedad) o retiro (depresión). El fulcro de la respuesta al estrés es la disparidad entre la experiencia y las expectativas y los recursos personales. Una persona que vive de una manera sistemática con expectativas personalmente aceptadas no tiene ningún estrés aunque las condiciones puedan interpretarse como adversas desde alguna perspectiva exterior, las personas en el campo pueden vivir en comparativa pobreza, y sin embargo no tener estrés si tienen lo suficiente según sus expectativas. Si hay una disparidad crónica entre la experiencia y las expectativas, el estrés puede aliviarse mediante ajuste de las expectativas para que se adapten a las experiencias o condiciones en curso.

25 Ahora se cree que se entiende bien la neuroquímica del síndrome de adaptación general, aunque sigue quedando mucho por descubrir sobre cómo interacciona este sistema con otros en el cerebro y en otras partes del cuerpo. El cuerpo reacciona al estrés en primer lugar liberando las hormonas catecolamina, epinefrina (adrenalina EP) y norepinefrina (noradrenalina), y las hormonas glucocorticoides, cortisol y cortisona. El eje hipotalámico-hipofisario-suprarrenal (HPA) es una parte principal del sistema neuroendocrino, que implica las interacciones del hipotálamo, la hipófisis y las glándulas suprarrenales. Se cree que el eje HPA desempeña un papel principal en las reacciones del organismo al estrés equilibrando las liberaciones de hormonas desde la médula suprarrenal productora de adrenalina, y desde la corteza suprarrenal productora de corticosteroides. El estrés puede tener un impacto significativo sobre muchos de los sistemas inmunitarios del organismo, al igual que las percepciones del individuo del, y reacciones al, estrés. El término psiconeuroinmunología se usa para describir las interacciones entre el estado mental, los sistemas nervioso e inmunitario, así como la investigación sobre las interconexiones de estos sistemas.

35 El documento GB-A-2 381 195 describe medicamentos que contienen extractos de orquídea para el tratamiento del estrés.

El documento US-A-2003/0012824 se refiere a una composición anti-estrés administrada por vía oral que comprende un antiácido, compuesto reductor de la ansiedad y compuesto inductor de estado de alerta mental.

El documento FR-A-2 876 586 se refiere a composiciones para prevenir o tratar el estrés.

40 El documento JP-A-2000-083654 describe un agente de fomento del crecimiento de bifidobacterias, y productos alimenticios que contienen el agente de fomento del crecimiento de bifidobacterias.

El problema subyacente a la presente invención ha sido por tanto proporcionar nuevas composiciones, en particular productos alimenticios que comprenden componentes vegetales para la estimulación de estados de ánimo, mejora del rendimiento cognitivo y en particular para luchar contra los síntomas iniciales del estrés.

### 45 Descripción detallada de la invención

El problema de la presente invención se resuelve basándose en las reivindicaciones 1 a 7.

La presente invención se refiere al uso de extractos acuosos de *Melissa officinalis* como componentes para composiciones alimenticias, caracterizado porque dichas composiciones alimenticias comprenden extractos acuosos de toronjil en cantidades de 1 a 50 g/l.

50 La presente invención se refiere además al uso de extractos acuosos de *Melissa officinalis* o ácido rosmarínico para preparar un medicamento para luchar contra los síntomas del estrés, para mejorar la sensibilidad de reconocimiento de palabras y el estado de alerta, y para mejorar la satisfacción y disminuir la ira.

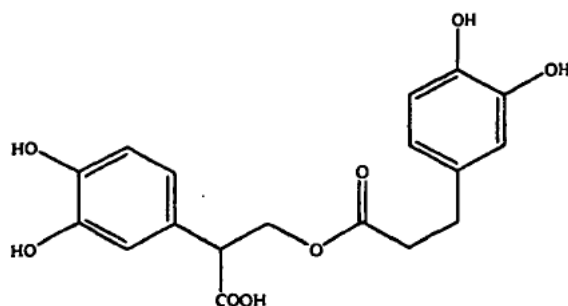
En las reivindicaciones dependientes 2, 6 y 7 se exponen realizaciones preferidas.

5 Sorprendentemente, se ha demostrado en un estudio simple ciego que extractos de base acuosa de toronjil, al contrario que estudios publicados anteriores que concentran la fracción de aceite esencial, o su principio activo ácido rosmarínico, son adecuados para estimular estados de ánimo, en particular para luchar contra los síntomas del estrés, para mejorar la concentración y el estado de alerta, para aumentar satisfacción y para disminuir la ira. Estudios anteriores concentran las fracciones de aceites esenciales. Sin embargo, los extractos pueden incorporarse fácilmente en diversos tipos de productos alimenticios, o bien como el propio extracto o bien en forma encapsulada.

### Toronjil

10 *Melissa officinalis* L. (toronjil) es un medicamento fitoterápico tradicional, bien conocida como sedante leve para iniciar el sueño. Los registros de su uso como agente sedante, antiespasmódico y antibacteriano datan de hace más de 2000 años. Se hace referencia al documento EP 0501591 B1 (Pure Holding Company) que se refiere a una composición de extracto fitoterápico que comprende un extracto de especie de *Melissa*, un extracto de especie de *Avena* y un extracto de especie de *Tilia*, y a un procedimiento para prepararla. El documento EP 0762837 B1 (J.P.Schür) da a conocer una composición microbiciada que contiene alcohol bencílico y al menos un agente  
15 saborizante GRAS (generalmente considerado como seguro) microbiciada adicional, por ejemplo ácido rosmarínico. La composición se usa para tratar las superficies de productos perecederos por acción microbiana y/o su entorno. El documento US 6.306.450 (Hauser) se refiere a una composición con sabor cítrico que contiene citral como compuesto saborizante, y un extracto vegetal soluble en agua que comprende un derivado de ácido cafeico como estabilizador. En una realización preferida, el estabilizador es un extracto de *Melissa officinalis*. El documento US  
20 6.576.285 (Sunpure) se refiere a una emulsión de bebida para su uso en la producción de una bebida hipocolesterolemia que comprende al menos el 60% de agua, al menos aproximadamente el 20% de emulsionante, al menos aproximadamente el 15% de ésteres de esteroles. En una realización preferida, la composición contiene además un antioxidante, por ejemplo, ácido rosmarínico. Finalmente, el documento US 6.828.310 (Grain Processing Corp.) da a conocer una composición que comprende maltodextrinas reducidas, que conservan un material susceptible de degradarse. En una realización preferida, el material puede ser un  
25 antioxidante, por ejemplo ácido rosmarínico, entre otros.

En Europa, se introdujo por primera vez en España por los moros en el siglo VII. Las hojas de toronjil son largas, con forma de óvalo ancho, con un margen dentado o serrado de manera irregular. Tienen una superficie superior ligeramente pubescente, de color verde oscuro y una nervadura prominente delgada sobre la superficie inferior. El  
30 toronjil también se caracteriza por su olor especiado, aromático, que recuerda al limón. Los extractos acuosos comprenden varios principios activos, principalmente flavonoides y compuestos polifenólicos, principalmente ácido rosmarínico.



35 En la figura 3 se muestra una huella de HPLC de un extracto disponible de Cognis GmbH en el mercado. Habitualmente, los extractos comprenden ácido rosmarínico a un nivel del 1 al 5% en peso. Se prefiere añadir el extracto de toronjil en una cantidad de 2 a 25 y lo más preferiblemente de 10 a 15 g/l (lo cual sería equivalente a de 0,01 a 2,5 g de ácido rosmarínico).

### Composiciones alimenticias

40 Dichos extractos de toronjil pueden incorporarse en cada tipo de composición alimenticia dedicada a su consumo oral, por ejemplo en forma de una bebida, una barra o un producto de pastelería. En una realización preferida de la presente invención dicha composición alimenticia es una bebida de frutas, un producto lácteo o un yogur.

En otra realización preferida de la presente invención dichos productos alimenticios son un zumo derivado de diferentes frutas, que contiene únicamente azúcares solubles naturales y originales de cada fruta usada, pero está libre de especies de azúcares solubles procedentes de la descomposición de polisacáridos o hidratos de carbono más complejos. Tales composiciones representan habitualmente líquidos, por ejemplo jarabes concentrados desde  
45 65°Brix hasta un máximo de 79°Brix lo que muestra un índice glucémico muy bajo de aproximadamente 34. Un

ejemplo prominente encontrado en el mercado es Fruit Up<sup>®</sup>, suministrado por Wild GmbH.

#### Componentes adicionales

5 En una realización adicional preferida de la presente invención los extractos de toronjil pueden combinarse con componentes adicionales, tales como por ejemplo ácidos grasos fisiológicamente activos para el tratamiento activo del peso y/o esteroides o ésteres de esteroles para reducir el contenido de colesterol en suero.

#### Ácidos grasos fisiológicamente activos, sus sales y sus ésteres

10 Un criterio común para ácidos grasos con actividad fisiológica, que representan el componente (b), es una cadena grasa que tiene un número suficiente de átomos de carbono que proporciona un comportamiento lipófilo que le permite a la molécula pasar a través del tracto gastrointestinal del organismo y que tiene un número suficiente de dobles enlaces. Por tanto, dichos ácidos grasos comprenden habitualmente de 18 a 26 átomos de carbono y de 2 a 6 dobles enlaces.

15 En una primera realización de la presente invención, se tienen en cuenta ácido linoleico conjugado (CLA) o sus sales alcalinas o alcalinotérricas y ésteres, preferiblemente, sus sales de calcio y sus ésteres con alcoholes alifáticos inferiores que tienen de 1 a 4 átomos de carbono, o sus glicéridos, especialmente sus triglicéridos. El ácido linoleico conjugado (CLA) representa un producto comercialmente disponible que se obtiene habitualmente mediante isomerización catalizada por base de aceite de girasol o sus respectivos ésteres alquílicos y posterior isomerización en presencia de enzimas. CLA es un acrónimo usado para isómeros posicionales y geométricos que se derivan del ácido graso esencial ácido linoleico (LA, ácido cis-9,cis-12-octadecadienoico, 18:2n-6). Desde un punto de vista fisiológico, el uso del isómero cis-9,trans-11 según la presente invención tiene especial importancia al tener al menos el 30, preferiblemente al menos el 50, y lo más preferiblemente al menos el 80% en peso de dicho isómero cis-9,trans-11, basándose en el contenido en CLA total de la mezcla en bruto. Además, se ha encontrado ventajoso si el contenido del isómero trans-10,cis-12 es como máximo del 45, preferiblemente como máximo del 10% en peso y lo más preferiblemente inferior al 1% en peso, y la suma de isómeros 8,10, 11,13 y trans,trans en total es inferior al 1% en peso, de nuevo basándose en el contenido en CLA total. Tales productos pueden encontrarse en el mercado, por ejemplo, con la marca Tonalin<sup>®</sup> CLA-80 (Cognis).

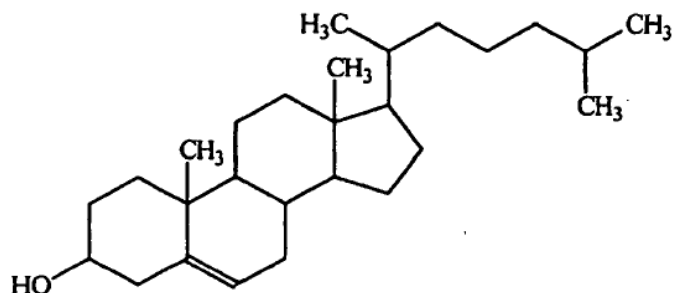
20 En una segunda realización también pueden tenerse en cuenta los denominados ácidos grasos omega-3, que normalmente comprenden de 18 a 26, preferiblemente de 20 a 22 átomos de carbono y al menos 4 y hasta 6 dobles enlaces. Estas moléculas también se conocen muy bien en la técnica y pueden obtenerse mediante métodos convencionales de química orgánica, por ejemplo, mediante transesterificación de aceites de pescado, seguido por precipitación con urea de los ésteres alquílicos así obtenidos y una extracción final usando disolventes no polares tal como se describe en la patente alemana DE 3926658 C2 (Norsk Hydro). Los ácidos grasos así obtenidos son ricos en ácido omega-3 (todo-Z)-5,8,11,14,17-eicosapentanoico (EPA) C 20:5 y ácido (todo-Z)-4,7,10,13,16,19-docosahexanoico (DHA) C 22:6. Tales productos pueden encontrarse en el mercado con la marca comercial Omacor<sup>®</sup> (Pronova).

35 En una tercera realización también pueden usarse ácido linoleico, ácido vaccínico (ácido trans-11-octadecenoico), ácido cishexadecenoico (obtenido, por ejemplo, a partir de la planta *Thunbergia alata*), ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico y mezclas de los mismos.

40 Además, dichos ésteres de ácidos grasos fisiológicamente activos no sólo pueden usarse en forma de sus ésteres alquílicos inferiores o glicéridos. Una realización muy preferida adicional de la presente invención se refiere a composiciones que comprenden ésteres de dichos ácidos grasos con esteroides. Como los glicéridos, los ésteres de esteroles se reabsorben fácilmente y se dividen en el cuerpo humano. Sin embargo, una ventaja significativa procede del hecho de que la escisión del enlace éster libera una segunda molécula con propiedades de fomento de la salud. Para evitar faltas de claridad, los términos "esteroles", "estanol" y "esterina" se usarán como sinónimos que definen esteroides que muestran un único grupo hidroxilo unido al C-3. Además, los esteroides que consisten en de 27 a 30 átomos de carbono pueden mostrar un doble enlace, preferiblemente en la posición 5/6. Según la presente invención, se prefieren los ésteres de CLA o ácidos grasos omega-3 con β-sitosterol o su producto de hidrogenación β-sitostanol.

#### Esteroides y ésteres de esteroles

50 Los esteroides (también denominados esterinas) representan esteroides que muestran un único grupo hidroxilo unido al C-3. Además, los esteroides que consisten en de 27 a 30 átomos de carbono pueden mostrar un doble enlace, preferiblemente en la posición 5/6. La hidrogenación del doble enlace ("endurecimiento") conduce a esteroides que se denominan habitualmente estanoles. La siguiente figura muestra la estructura del miembro mejor conocido de la familia de esteroides, colesterol, que pertenece al grupo de los zooesteroides.



Debido a su actividad fisiológica superior, los esteroides vegetales, denominados fitoesteroides, como el ergosterol, estigmasterol, y especialmente sitoesterol y su producto de hidrogenación sitaestanol, son las especies preferidas. Además, en vez de los esteroides o estanoles, pueden usarse sus ésteres con ácidos grasos saturados o insaturados que tienen de 6 a 26 átomos de carbono y hasta 6 dobles enlaces. Ejemplos típicos son los ésteres de  $\beta$ -sitoesterol o  $\beta$ -sitoestanol con ácido cáprico, ácido caprílico, ácido 2-etilhexanoico, ácido caprílico, ácido láurico, ácido isotridecílico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido palmoleico, ácido esteárico, ácido isoesteárico, ácido oleico, ácido elaidínico, ácido petroselinico, ácido linólico, ácido linoleico, ácido elaeosteárico, ácido araquidónico, ácido gadoleínico, ácido behénico y ácido erúrico.

Dichos extractos acuosos de toronjil y dicho componente adicional pueden usarse para preparar los productos alimenticios en proporciones en peso de 1:9 a 9:1 y preferiblemente de 4:6 a 6:4.

#### Microcápsulas

Habitualmente los extractos de toronjil se añaden a los productos alimenticios o bien como disolución acuosa o bien como un polvo secado por pulverización. Con el fin de mejorar la estabilidad de las composiciones o simplemente por motivos estéticos puede ser deseable añadir los extractos a las composiciones alimenticias en una forma microencapsulada.

Se entiende que las "microcápsulas" son agregados esféricos con un diámetro de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 mm que contienen al menos un núcleo sólido o líquido rodeado por al menos una membrana continua. Más precisamente, son fases líquidas o sólidas finamente dispersadas recubiertas con polímeros formadores de película, en cuya producción se depositan los polímeros sobre el material que va a encapsularse tras la emulsificación y coacervación o la polimerización interfacial. En otro procedimiento, se absorben principios activos líquidos en una matriz ("microesponja") y, como micropartículas, pueden recubrirse adicionalmente con polímeros formadores de película. Las cápsulas microscópicamente pequeñas, también conocidas como nanocápsulas, pueden secarse de la misma manera que los polvos. Además de las microcápsulas de un único núcleo, también hay agregados de múltiples núcleos, también conocidos como microesferas, que contienen dos o más núcleos distribuidos en el material de membrana continua. Además, microcápsulas de un único núcleo o de múltiples núcleos pueden rodearse por una segunda, tercera membrana adicional, etc. La membrana puede consistir en materiales naturales, semisintéticos o sintéticos. Materiales de membrana naturales son, por ejemplo, goma arábica, agar agar, agarosa, maltodextrinas, ácido alginico y sales del mismo, por ejemplo alginato de sodio o calcio, grasas y ácidos grasos, alcohol cetílico, colágeno, quitosano, lecitinas, gelatina, albúmina, goma laca, polisacáridos, tales como almidón o dextrano, polipéptidos, hidrolizados de proteína, sacarosa y ceras. Materiales de membrana semisintéticos son, entre otros, celulosas químicamente modificadas, más particularmente éteres y ésteres de celulosa, por ejemplo acetato de celulosa, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y carboximetilcelulosa, y derivados de almidón, más particularmente éteres y ésteres de almidón. Materiales de membrana sintéticos son, por ejemplo, polímeros, tales como poliacrilatos, poliamidas, poli(alcohol vinílico) o polivinilpirrolidona.

Ejemplos de microcápsulas conocidas son los siguientes productos comerciales (el material de membrana se muestra entre paréntesis) Hallcrest Microcapsules (gelatina, goma arábica), Coletica Thalaspheeres (colágeno marítimo), Lipotec Millicapseln (ácido alginico, agar agar), Induchem Unispheres (lactosa, celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa), Unicetin C30 (lactosa, celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa), Kobo Glycospheres (almidón modificado, ésteres de ácidos grasos, fosfolípidos), Softspheres (agar agar modificado) y Kuhs Probiol Nanospheres (fosfolípidos).

Los principios activos se liberan de las microcápsulas mediante destrucción mecánica, térmica, química o enzimática de la membrana, normalmente durante el uso de las preparaciones que contienen las microcápsulas. A partir del estado de la técnica también se conoce un gran número de procedimientos diferentes para la encapsulación de principios activos: documentos WO 99/043426; WO 01/001928; WO 01/001929; WO 01/066240; WO 01/066241; WO 01/098578; WO 02/0178859; WO 02/0178868; WO 02/076607; WO 02/076606; WO 02/077359; WO 02/077360; WO 03/022419; WO 03/093571; WO 03/092664; WO 03/092880; WO 04/091555; WO 04/106621; EP 1064911 B1; EP 1064912 B1; EP 1077060 B1; EP 1101527 B1; EP 1223243 B1; EP 1243318 B1; EP 1243320 B1; EP 1243323

B1; EP 1243324 B1; EP 1254983 B1; EP 1121542 B1, todos ellos presentados a nombre de Henkel KGaA, Primacare S.A. o Cognis Iberia, S.L.

A pesar del hecho de que el estado de la técnica una enorme gama de posibilidades para la encapsulación de principios activos, métodos según los cuales se obtiene una cubierta mediante coacervación, precipitación o policondensación de polímeros aniónicos y catiónicos han sido bastante adecuados para la formación de cápsulas estables. Particularmente, un procedimiento preferido para la encapsulación de principios activos según la presente invención se caracteriza porque comprende las etapas de

- (a) preparar una matriz a partir de formadores de gel, polímeros catiónicos y principios activos;
- (b) opcionalmente dispersar dicha matriz en un fase aceitosa; y
- (c) tratar dicha matriz dispersada con disoluciones acuosas de polímeros aniónicos y opcionalmente retirar la fase en el procedimiento.

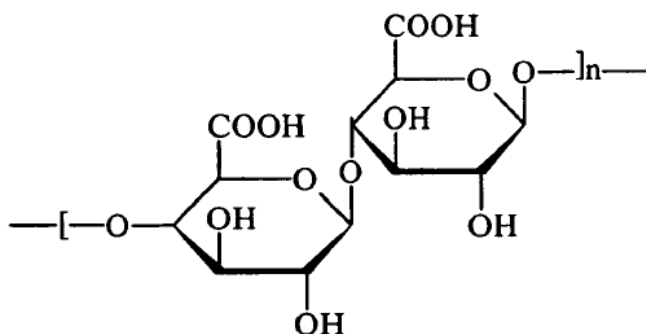
Evidentemente, los polímeros aniónicos y catiónicos en las etapas (a) y (c) pueden intercambiarse.

#### Formadores de gel

En el contexto de la invención, formadores de gel preferidos son sustancias que pueden formar geles en disolución acuosa a temperaturas superiores a 40°C. Ejemplos típicos de tales formadores de gel son heteropolisacáridos y proteínas. Heteropolisacáridos de termogelificación preferidos son agarosas que pueden estar presentes en forma del agar agar que puede obtenerse a partir de algas rojas, incluso junto con hasta el 30% en peso de agarpectinas no formadoras de gel. El principal constituyente de agarosas son polisacáridos lineales de galactosa y 3,6-anhidro-L-galactosa con enlaces 1,3 y 1,4-glicosídicos alternos. Los heteropolisacáridos tienen preferiblemente un peso molecular de 110.000 a 160.000 y son tanto inodoros como insípidos. Alternativas adecuadas son pectinas, xantanos (incluyendo goma xantana) y mezclas de los mismos. Otros tipos preferidos son aquellos que en una disolución acuosa al 1% en peso todavía forman geles que no se funden por debajo de 80°C y solidifican de nuevo por encima de 40°C. Ejemplos del grupo de proteínas termogelificantes son las diversas gelatinas.

#### Polímeros aniónicos

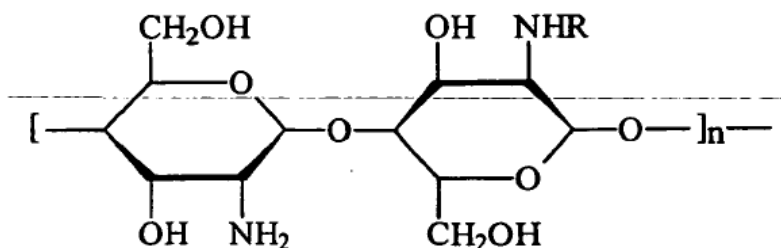
Con este fin se prefieren sales de ácido algínico. El ácido algínico es una mezcla de polisacáridos que contienen carboxilo con la siguiente unidad monomérica idealizada:



El peso molecular promedio del ácido algínico o los alginatos está en el intervalo de desde 150.000 hasta 250.000. Se entiende que las sales de ácido algínico y productos de neutralización completa y parcial del mismo son en particular las sales de metales alcalinos, preferiblemente alginato de sodio ("algina") y las sales de amonio y metales alcalinotérreos. Se prefieren particularmente alginatos mixtos, por ejemplo alginatos de sodio/magnesio o de sodio/calcio. Sin embargo, en una realización alternativa de la invención carboximetilcelulosas y derivados de quitosano aniónico, por ejemplo los productos de carboxilación y sobre todo de succinilación, también son adecuados para este fin.

#### Polímeros catiónicos

Los quitosanos son biopolímeros que pertenecen al grupo de hidrocoloides. Desde el punto de vista químico, son quitinas parcialmente desacetiladas que se diferencian en sus pesos moleculares que contienen la siguiente unidad monomérica (idealizada):



Al contrario que la mayoría de los hidrocoloides, que tienen carga negativa a valores de pH biológicos, los quitosanos son biopolímeros catiónicos en esas condiciones. Los quitosanos con carga positiva pueden interaccionar con superficies de carga opuesta y por tanto se usan en productos cosméticos para el cuidado del cabello y para el cuidado corporal y en preparaciones farmacéuticas. Los quitosanos se producen a partir de quitina, preferiblemente a partir de los residuos de conchas de crustáceos que están disponibles en grandes cantidades como materiales de partida económicos. En un procedimiento descrito por primera vez por Hackmann *et al.*, normalmente se desproteína en primer lugar la quitina mediante adición de bases, se desmineraliza mediante adición de ácidos minerales y, finalmente, se desacetila mediante adición de bases fuertes, distribuyéndose los pesos moleculares a lo largo de un amplio espectro. Tipos preferidos son aquellos que se dan a conocer en las solicitudes de patente alemana DE 4442987 A1 y DE 19537001 A1 (Henkel) y que tienen un peso molecular promedio 10.000 a 500.000 Dalton o de 800.000 a 1.200.000 Dalton y/o una viscosidad de Brookfield (al 1% en peso en ácido glicólico) inferior a 5.000 mPas, un grado de desacetilación del 80 al 88% y un contenido en cenizas de menos del 0,3% en peso. Para una mejor solubilidad en agua, los quitosanos se usan generalmente en forma de sus sales, preferiblemente como glicolatos.

En una realización preferida de la invención normalmente se prepara una disolución acuosa a del 1 al 10 y preferiblemente del 2 al 5% en peso del formador de gel, preferiblemente agar agar, y se calienta a reflujo. Se añade una segunda disolución acuosa que contiene el polímero catiónico, preferiblemente quitosano, en cantidades del 0,1 al 2 y preferiblemente del 0,25 al 0,5% en peso y el principio activo en cantidades del 0,1 al 25 y preferiblemente del 0,25 al 10% en peso con calentamiento de ebullición, preferiblemente a de 80 a 100°C; esta mezcla se denomina la matriz. Por consiguiente, la carga de las microcápsulas con principios activos también puede comprender del 0,1 al 25% en peso, basándose en el peso de las cápsulas. Si se desea, también pueden añadirse constituyentes insolubles en agua, por ejemplo pigmentos inorgánicos, en esta etapa para ajustar la viscosidad, generalmente en forma de dispersiones acuosas o acuosas/alcohólicas. Además, para emulsionar o dispersar los principios activos, puede ser útil añadir emulsionantes y/o solubilizantes a la matriz. Tras su preparación a partir del formador de gel, polímero catiónico y principio activo, la matriz se dispersa opcionalmente de manera muy fina en una fase aceitosa con cizalladura intensa con el fin de producir pequeñas partículas en el procedimiento de encapsulación posterior. Con respecto a esto, ha resultado ser particularmente ventajoso calentar la matriz hasta temperaturas en el intervalo de desde 40 hasta 60°C mientras que se enfría la fase aceitosa hasta de 10 a 20°C. La encapsulación real, es decir la formación de la membrana poniendo en contacto el polímero catiónico en la matriz con los polímeros aniónicos, tiene lugar en la tercera etapa. Para ello, es aconsejable lavar la matriz (dispersada en la fase aceitosa) con una disolución acuosa a de aproximadamente el 0,1 al 3 y preferiblemente del 0,25 al 0,5% en peso del polímero catiónico, preferiblemente el alginato, a una temperatura en el intervalo de desde 40 hasta 100 y preferiblemente de 50 a 60°C y, al mismo tiempo, retirar la fase aceitosa si está presente. Las preparaciones acuosas resultantes tienen generalmente un contenido en microcápsulas del 1 al 10% en peso. En algunos casos, puede ser ventajoso que la disolución de los polímeros contenga otros componentes, por ejemplo emulsionantes o conservantes. Tras la filtración, se obtienen microcápsulas con un diámetro medio de preferiblemente 1 a 3 mm. Es aconsejable tamizar las cápsulas para garantizar una distribución de tamaño uniforme. Las microcápsulas así obtenidas pueden tener cualquier forma dentro de los límites relacionados con la producción, pero preferiblemente son sustancialmente esféricas.

### Aplicación industrial

Otro objeto de la presente invención se refiere al uso de extractos acuosos de *Melissa officinalis* o ácido rosmarínico como componentes para composiciones alimenticias para luchar contra los síntomas del estrés, particularmente para mejorar la sensibilidad de reconocimiento de palabras y el estado de alerta, para mejorar la satisfacción y disminuir la ira.

### Ejemplos

#### Resultados de estudio piloto

El estudio piloto se llevó a cabo como evaluación en un único centro, simple ciego, de la mejora cognitiva de un producto alimenticio de prueba que contenía el nivel máximo de extracto de toronjil. Más particularmente, el estudio piloto se realizó con un panel de 5 hombres o mujeres de 23-28 años de edad que consideraban que llevaban un estilo de vida estresante. Tras la selección y la formación en la prueba de cognición, cada sujeto consumió la bebida

de prueba que contenía 1,8 g/200 ml de extracto de toronjil (toronjil Plantalin<sup>®</sup>, Cognis GmbH, Alemania) y se realizaron mediciones de cognición en el nivel inicial, a los 30 minutos, 2, 3, 4, 6, 8 y 12 horas tras el consumo del alimento de prueba. También se extrajeron muestras de sangre para determinar la farmacocinética (PK) para evaluar los niveles de ácido rosmarínico y glucemia. Todas las pruebas de cognición se realizaron tras la extracción de muestras de sangre para PK.

Se seleccionó una selección de tareas, del sistema de evaluación cognitiva informatizado de CDR, para proporcionar la batería de pruebas óptima para evaluar los efectos cognitivos del producto. También se presentaron formularios paralelos (ejercicios con bolígrafo y papel) de las tareas en cada sesión de pruebas para permitir la evaluación repetida presentando estímulos diferentes, pero equivalentes. Todas las tareas se controlaron por ordenador presentándose información y estímulos en la pantalla de un ordenador portátil. Las respuestas se registraron mediante un módulo de respuesta que contenía dos botones, uno marcado como "NO" y el otro como "SÍ".

Se extrajeron muestras de sangre para determinar la farmacocinética, por un técnico formado en venopunción, en el nivel inicial, 30 minutos, 2, 3, 4, 6 y 8 horas tras el consumo de alimentos, las muestras a las 12 horas no se tomaron debido a un fallo del equipo. Se analizaron las muestras para determinar los niveles de ácido rosmarínico y glucosa.

## 15 Metodología

### 1. El sistema de evaluación cognitiva informatizado de CDR

Se seleccionó una selección de tareas del sistema de evaluación cognitiva informatizado de CDR que proporcionaban la batería de pruebas óptima para evaluar los efectos cognitivos del producto de prueba. Se presentan formularios paralelos de las tareas en cada sesión de pruebas para permitir la evaluación repetida presentando estímulos diferentes, pero equivalentes. Todas las tareas se controlan por ordenador presentándose información y estímulos en la pantalla de un ordenador portátil. Las respuestas se registran mediante un módulo de respuesta que contiene dos botones, uno marcado como "NO" y el otro como "SÍ".

### 2. Batería central de CDR

La batería cubre los campos cognitivos de atención / concentración, memoria trabajadora a corto plazo, memoria secundaria a largo plazo, y también evalúa el estado de ánimo. Se tarda 20-25 minutos en completar la batería y consiste en las siguientes tareas.

#### (i) Atención/concentración

○ *Tiempo de reacción simple*: Esta tarea mide el tiempo de respuesta puro a un estímulo simple. Se le indica al voluntario que pulse el botón de respuesta "SÍ" lo más rápido posible cada vez que se presente la palabra "SÍ" en la pantalla. Se presentan cincuenta estímulos con un intervalo entre estímulos variable. La tarea dura aproximadamente 2 minutos y la medida de salida es el tiempo de reacción medio.

○ *Tiempo de reacción de selección*: Esta tarea es similar a la tarea del tiempo de reacción simple pero introduce un elemento de toma de decisiones, haciendo por tanto que los tiempos de respuesta sean más lentos. Se presenta o bien la palabra "NO" o bien la palabra "SÍ" en la pantalla y se le indica al voluntario que pulse el botón correspondiente lo más rápido posible. Hay 50 ensayos para los que cada palabra de estímulo se elige aleatoriamente con igual probabilidad y hay un intervalo entre estímulos variable. La tarea dura aproximadamente 2 minutos y las medidas de salida son la exactitud de respuestas y el tiempo de reacción medio de respuestas exactas.

○ *Vigilancia de dígitos*: Esta tarea mide la capacidad para mantener la atención a lo largo de un periodo de tiempo más largo. Se selecciona aleatoriamente un dígito objetivo y se presenta de manera constante en la parte derecha de la pantalla. Entonces se presenta una serie de dígitos en el centro de la pantalla a una velocidad de 150 por minuto y se requiere que el voluntario pulse el botón "SÍ" lo más rápido posible cada vez que el dígito en la serie coincida con el dígito objetivo. Hay 45 objetivos en la serie. La tarea dura 3 minutos y las medidas de salida son la exactitud de respuestas, el número de respuestas incorrectas y el tiempo de reacción medio de respuestas exactas.

#### (ii) Memoria trabajadora

○ *Memoria trabajadora numérica*: Esta tarea mide la capacidad para memorizar y recordar información numérica en memoria trabajadora a corto plazo, y se basa en el bucle de ensayo subarticulatorio. Se presenta una serie de 5 dígitos para que el voluntario los memorice. Esto va seguido por una serie de 30 dígitos de sondeo para cada uno de los cuales el voluntario tiene que decidir si estaba o no en la serie original y pulsar el botón de respuesta "SÍ" o "NO" según sea apropiado, lo más rápido posible. Este procedimiento se repite dos veces más, usando 2 series y sondas diferentes. La tarea dura 2-3 minutos y las medidas de salida son la exactitud de respuestas y el tiempo de reacción medio de respuestas exactas.

○ *Memoria trabajadora espacial*: Esta tarea mide la capacidad para almacenar y recuperar información espacial de la



memoria trabajadora a corto plazo, y se basa en apuntes visuo-espaciales. Se presenta una imagen de una casa en la pantalla con 4 de sus 9 ventanas encendidas. El voluntario tiene que memorizar la posición de las ventanas encendidas. Para cada una de las 36 presentaciones posteriores de la casa, se requiere que el voluntario decida si la única ventana que está encendida también estaba encendida en la presentación original o no. El voluntario responde pulsando los botones "SÍ" o "NO" según sea apropiado, lo más rápido posible. La tarea dura aproximadamente 3 minutos y las medidas de salida son la exactitud de respuestas y el tiempo de reacción medio de respuestas exactas.

(iii) Memoria secundaria a largo plazo

○ *Recuerdo de palabras inmediato y recuerdo de palabras retardado*: Estas tareas miden la capacidad para almacenar y recuperar información verbal de una manera sin señas de la memoria a largo plazo. Se presenta una lista de 15 palabras en la pantalla a una velocidad de 1 cada 2 segundos para que las recuerde el voluntario. Entonces se le da al voluntario 1 minuto para recordar tantas palabras como sea posible (recuerdo de palabras inmediato). Tras un periodo de tiempo (15-20 minutos), se le da de nuevo al voluntario 1 minuto para recordar tantas palabras como sea posible pero sin verlas de nuevo (recuerdo de palabras retardado). La medida de salida es el número de palabras recordadas de manera exacta en cada parte de la tarea.

○ *Reconocimiento de palabras*: Esta tarea mide la capacidad para recuperar la misma información verbal presentada para las tareas de recuerdo de palabras pero esta vez en respuesta a una serie de señas. 15-20 minutos tras la presentación de la lista original de palabras, se presentan las palabras originales más 15 palabras de distracción una cada vez en un orden aleatorizado. Para cada palabra, se requiere que el voluntario indique si reconoce o no que estaba en la lista original de palabras pulsando el botón "SÍ" o "NO" según sea apropiado, lo más rápido posible. La tarea dura aproximadamente 3 minutos y las medidas de salida son la exactitud de respuestas y el tiempo de reacción medio de respuestas exactas.

○ *Presentación de imágenes y reconocimiento de imágenes*: Esta tarea mide la capacidad para almacenar y recuperar información no verbal de una manera con señas en la memoria a largo plazo. Se presenta una serie de 20 imágenes en la pantalla a una velocidad de 1 cada 3 segundos para que las recuerde el voluntario. Tras un periodo de tiempo (15-20 minutos), se presentan las imágenes originales más 20 imágenes de distracción una cada vez en un orden aleatorizado. Para cada imagen, el voluntario tiene que indicar si reconoce o no que estaba en la serie original pulsando el botón "SÍ" o "NO" según sea apropiado, lo más rápido posible. La tarea dura aproximadamente 3 minutos y las medidas de salida son la exactitud de respuestas y el tiempo de reacción medio de respuestas exactas.

(iv) Estado de ánimo

○ *Escalas visuales analógicas (EVA) de Bond-Lader*: Este cuestionario informatizado registra aspectos del estado de ánimo. Se le presentan dieciséis escalas analógicas de 10 cm al voluntario una cada vez. Para cada escala, el voluntario usa el ratón para indicar en la línea dónde sienten que se encuentra su estado de ánimo en ese momento. Se tarda aproximadamente 2 minutos en completar el cuestionario y las medidas de salida son el estado de alerta, la tranquilidad y la satisfacción evaluados por el propio paciente.

(v) Cuestionarios adicionales con lápiz y papel

○ *El perfil de estados de ánimo (POMS)*: Esta comprobación ampliamente usada de 65 adjetivos le pide a los voluntarios que clasifiquen cómo se han sentido "durante la última semana incluyendo hoy". Produce seis factores: tensión-ansiedad, depresión-desaliento, ira-hostilidad, vigor-actividad, fatiga-inercia y confusión-perplejidad. Se obtiene una puntuación de cada uno, y también se calcula una única puntuación "alteración del estado de ánimo".

○ *Cuestionario de ansiedad como estado de Spielberg*: Esta prueba comprende 2 escalas de notificación por el propio paciente para medir la ansiedad como estado o como rasgo. La escala de ansiedad S (formulario Y-1 de STAI) consiste en veinte frases (números 1-20) que evalúan como se siente la persona que responde "ahora mismo", en este momento. La parte del cuestionario se administra a lo largo del estudio. La escala de ansiedad T (formulario Y-2 de STAI) consiste en veinte frases (números 21-40) que evalúan como se siente generalmente la gente. Esta parte del cuestionario sólo se administra una vez durante el estudio.

Resultados

En el transcurso del estudio se observaron las siguientes mejoras en la función cognitiva y el estado de ánimo y estado de alerta evaluados por el propio paciente:

- El índice de sensibilidad de reconocimiento de palabras (la capacidad para reconocer correctamente palabras) mejoró a las 2 y 6 horas.
- El estado de alerta evaluado por el propio paciente mejoró a las 3 y 4 horas.
- La satisfacción evaluada por el propio paciente mejoró a las 8 y 12 horas.

## ES 2 561 330 T9

○ La ira evaluada por el propio paciente disminuyó en todos los puntos de tiempo.

Estos hallazgos indican posibles efectos positivos de la sustancia sobre el estado de ánimo, y también la capacidad para reconocer palabras presentadas anteriormente. Los resultados se agrupan en las siguientes tablas.

Tabla 1

5

Índice de sensibilidad de reconocimiento de palabras (exactitud)

Tiempo (horas)	Número de sujeto					Media	D.E.
	S1	S2	S3	S4	S5		
0	0,611	0,204	0,450	0,341	0,536	0,428	0,161
0,5	0,536	0,536	0,536	0,450	0,600	0,532	0,053
2	0,502	0,747	0,475	0,511	0,804	0,608	0,155
3	0,536	0,556	0,536	0,402	0,402	0,486	0,077
4	0,475	0,536	0,215	0,333	0,475	0,407	0,131
6	0,402	0,747	0,502	0,556	0,804	0,602	0,169
8	0,536	0,467	0,402	0,536	0,694	0,527	0,109
12	0,339	0,402	0,467	0,556	0,402	0,433	0,082

Tabla 2

EVA de Bond-Lader, estado de alerta

Tiempo (horas)	Número de sujeto					Media	D.E.
	S1	S2	S3	S4	S5		
0	46,6	47,2	46,3	55,2	55,6	50,18	4,778
0,5	75,7	48,6	39,9	51,4	53,2	53,76	13,29
2	65,6	49,2	51,7	50,0	48,9	53,08	7,083
3	79,7	49,7	55,3	49,6	57,4	58,34	12,42
4	86,2	53,8	44,8	50,9	55,6	58,26	16,15
6	72,9	46,6	41,2	51,8	47,7	52,04	12,26
8	55,9	43,1	35,7	56,9	52,3	48,78	9,115
12	42,2	47,8	55,3	52,2	52,0	49,90	5,064

Tabla 3

EVA de Bond-Lader, satisfacción

Tiempo (horas)	Número de sujeto					Media	D.E.
	S1	S2	S3	S4	S5		
0	78,8	48,0	57,4	58,6	49,2	58,40	12,35
0,5	84,2	48,0	50,6	54,0	48,6	57,08	15,34
2	82,8	46,2	57,0	54,0	51,4	58,28	14,27
3	85,2	47,8	58,6	55,0	55,2	60,36	14,43
4	89,8	48,2	56,6	57,0	52,8	60,88	16,55
6	85,4	50,2	59,2	55,4	52,0	60,44	14,37
8	87,2	52,8	60,6	57,2	54,0	62,36	14,21
12	83,6	54,6	64,6	62,0	50,6	63,08	12,77

10

Tabla 4

POM, depresión

Tiempo (horas)	Número de sujeto					Media	D.E.
	S1	S2	S3	S4	S5		
0	11	10	0	0	4	5,0	5,292
0,5	10	11	1	0	3	5,0	5,148
2	10	11	0	0	4	5,0	5,292
3	12	11	0	4	5	6,4	5,030
4	9	8	0	0	4	4,2	4,266
6	11	7	0	0	6	4,8	4,764
8	8	7	0	0	4	3,8	3,768
12	9	9	0	0	4	4,4	4,506

Tabla 5

POM, ira

Tiempo (horas)	Número de sujeto					Media	D.E.
	S1	S2	S3	S4	S5		
0	13	2	3	0	5	4,6	5,030
0,5	6	1	1	0	3	2,2	2,387
2	10	2	0	0	0	2,4	4,336
3	9	2	0	2	3	3,2	3,421
4	12	2	0	0	0	2,8	5,215
6	8	2	0	0	0	2,0	3,464
8	10	2	0	0	0	2,4	4,336
12	8	0	0	0	1	1,8	3,493

Datos farmacocinéticos

Tabla 6

Análisis de sangre para detectar ácido rosmarínico

Tiempo (horas)	Número de sujeto					Media	D.E.
	S1	S2	S3	S4	S5		
0	0,4	0,2	<ordenada en el origen	0,7	0,2	0,4	0,12
0,5	5,5	2,0	3,7	3,1	2,4	3,3	0,61
2	1,0	0,6	0,5	1,0	0,4	0,7	0,13
3	1,2	0,6	0,3	0,5	0,5	0,6	0,15
4	0,7	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,09
6	0,1	0,2	<ordenada en el origen	0,2	0,1	0,1	0,03
8	0,3	0,6	0,3	<ordenada en el origen	<ordenada en el origen	0,3	0,12
Matriz de control	Repeticiones					Media	E.E.M.
	1,0	0,6	0,6	1,1	0,6	0,8	0,11

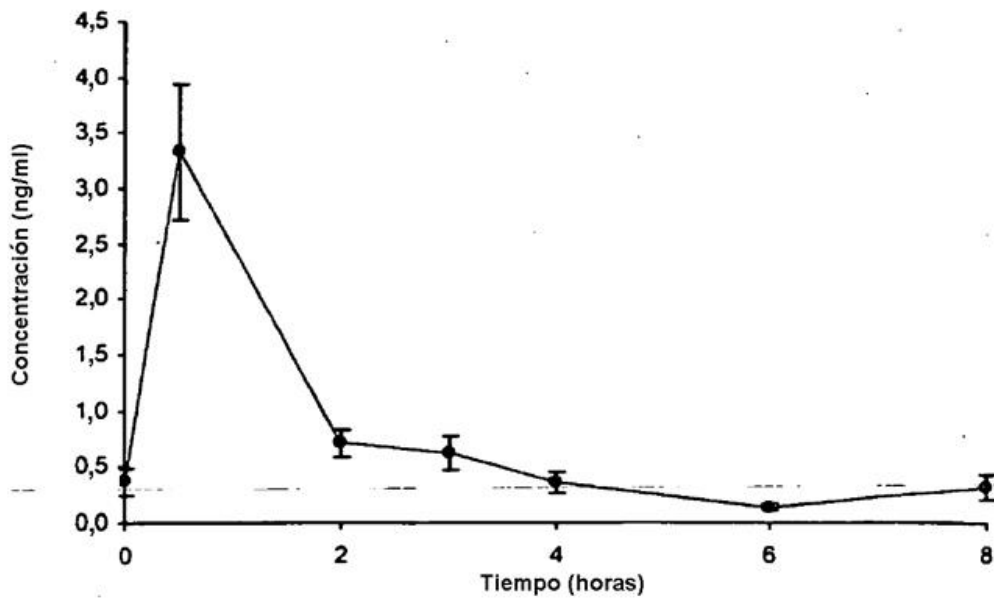


Figura 1: Concentración de ácido rosmarínico en pacientes tras la administración oral de toronjil (ácido rosmarínico al 2%) - Datos promedio

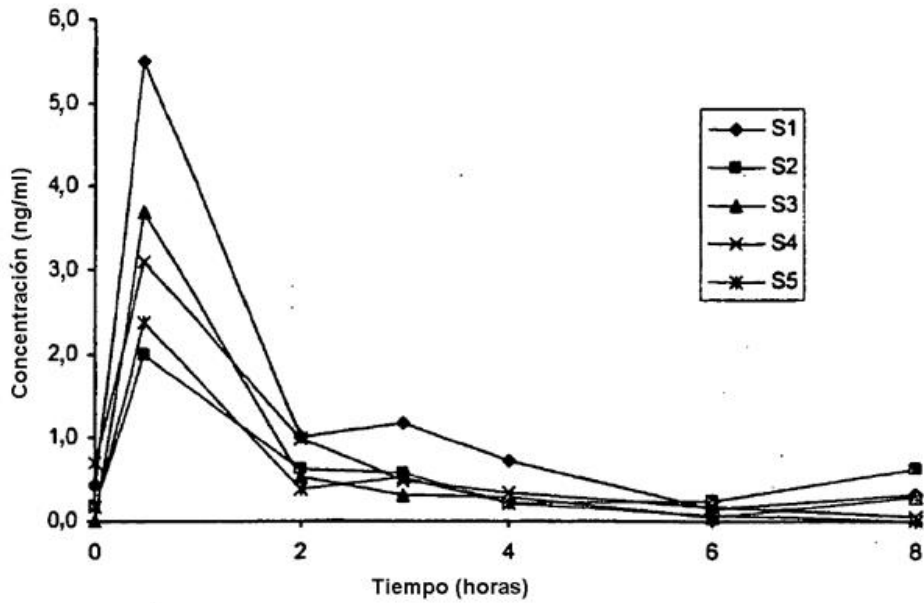


Figura 2: Concentración de ácido rosmarínico en pacientes tras la administración oral de toronjil (ácido rosmarínico al 2%) - Datos individuales

Tabla 7

Resultados de glucemia<sup>1 2 3</sup>

Tiempo	Sujeto 1	Sujeto 2	Sujeto 3	Sujeto 4	Sujeto 5
0 h	2,5	4,24	3,29	2,92	3,04
0,5 h	2,37	5,76	2,33	3,31	1,98
2 h	1,96	2,76	2,76	3,86	1,19
3 h	2,78	3,43	1,83	3,54	1,93
4 h	2,94	3,66	1,84	2,65	2,94
6 h	2,93	3,31	2,48	2,76	2,18
8 h	3,07	3,01	2,27	2,9	3,19

1) QC diario e intervalo de referencia para el analizador químico VITROS 250

5 2) QC bajo = 4,17 - 5,00 mmol/l; 4,48 intervalo (4,17 - 5,00);

3) QC alto = 15,31 - 17,25 mmol/l; 16,70 intervalo (15,31-17,25).

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de extractos acuosos de *Melissa officinalis* como componentes para composiciones alimenticias, caracterizado porque dichas composiciones alimenticias comprenden extractos acuosos de toronjil en cantidades de 1 a 50 g/l.
- 5 2. Uso según la reivindicación 1, caracterizado porque dicha composición alimenticia es o bien una bebida de frutas, un producto lácteo o bien un yogur.
3. Uso de extractos acuosos de *Melissa officinalis* o ácido rosmarínico para preparar un medicamento para luchar contra los síntomas del estrés.
- 10 4. Uso de extractos acuosos de *Melissa officinalis* o ácido rosmarínico para preparar un medicamento para mejorar la sensibilidad de reconocimiento de palabras y el estado de alerta.
5. Uso de extractos acuosos de *Melissa officinalis* o ácido rosmarínico para preparar un medicamento para mejorar la satisfacción y disminuir la ira.
6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 5, caracterizado porque también comprende esteroides o ésteres de esteroles y/o ácidos grasos fisiológicamente activos.
- 15 7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 6, caracterizado porque comprende extractos acuosos de toronjil o ácido rosmarínico en forma microencapsulada.

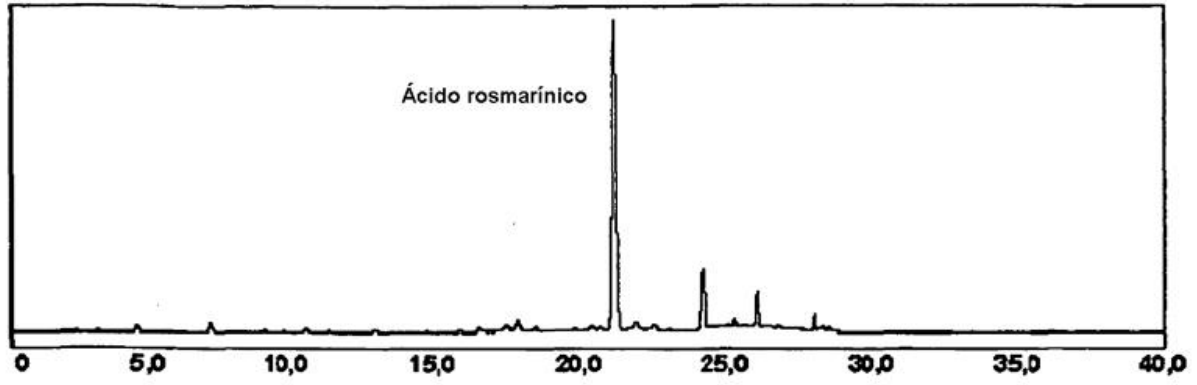


Figura 3

Huella de HPLC de toronjil Plantalin® (Cognis GmbH)