

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 525**

51 Int. Cl.:

**A23L 33/10** (2006.01)

**A61K 9/16** (2006.01)

**C07C 403/24** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.11.2014 PCT/EP2014/073955**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.05.2015 WO15067706**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.11.2014 E 14799699 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2019 EP 3065568**

54 Título: **Procedimiento para la purificación de astaxantina**

30 Prioridad:

**07.11.2013 US 201361901136 P**

**12.11.2013 CH 18912013**

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

**13.07.2020**

73 Titular/es:

**DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)**

**Het Overloon 1**

**6411 TE Heerlen, NL**

72 Inventor/es:

**KARRER, PHILIPPE y  
WUESTENBERG, BETTINA**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
Bemerkungen) en el folleto original publicado por  
la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 773 525 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

Procedimiento para la purificación de astaxantina

El objeto de la invención es proporcionar una astaxantina (AXN) sintética de calidad alimentaria que no se conoce hasta ahora. "Calidad alimentaria" dentro de la presente invención significa "adecuada para el consumo humano".

5 Una AXN sintética de calidad alimentaria cumple así todos los requisitos reglamentarios relativos a la pureza y puede utilizarse en la producción comercial de alimentos y complementos dietéticos.

La AXN puede fabricarse por síntesis química (véanse los documentos EP-A 908 449, WO 2005/087720, EP-A 733 619), puede producirse por fermentación (véase el documento EP-A 543 023) y aislarse de fuentes naturales tales como desechos de conchas (véase el documento JP-A 11-049 972) o algas *Haematococcus pluvialis* (véase el documento GB-A 2.301.587), en que los ésteres aislados tendrían que escindir a AXN propiamente dicha.

10

La AXN aislada de fuentes naturales ya se utiliza en productos para el consumo humano: véase, p. ej., el documento US 2009/0297492, en donde se describe que AXN mejora el rendimiento cognitivo; el documento US 2009/0018210, en donde se describe que AXN fomenta la degradación de grasas; el documento EP-A 1 867 327, en donde se describe AXN para prevenir una enfermedad neurodegenerativa, por nombrar solo unos pocos. Hasta ahora, sin embargo, la AXN sintética no se utilizó en productos para el consumo humano.

15

La AXN sintética es de calidad estandarizada en comparación con AXN de fuentes naturales, ya que es mucho más fácil de utilizar un procedimiento estandarizado para su síntesis química y purificación que depender de la calidad variable de AXN natural que resulta mediante el uso de fuentes naturales que varían también en su composición. Por lo tanto, en el contexto de la presente invención, el término "AXN" significa "AXN sintética".

20 Procedimientos químicos para la fabricación de AXN se llevan a cabo a menudo en hidrocarburos halogenados tales como diclorometano (véase, por ejemplo, el documento WO 2011/095571), ya que AXN y sus precursores tienen una alta solubilidad en estos disolventes, aunque hubo intenciones en el pasado de evitar el uso de disolventes de este tipo (véanse, por ejemplo, los documentos EP-A 908 449 y WO 2005/087720). También hay métodos de purificación que utilizan cloroformo (véase el documento JP-A 07118226). La AXN obtenida de este modo cristaliza a menudo a partir de alcanos inferiores, ya que apenas es soluble en este tipo de disolventes.

25

Ya existen procedimientos para la purificación de astaxantina: En el ejemplo 11 del documento WO 2007/072529 la síntesis de astaxantina se lleva a cabo en isopropanol. El producto obtenido se recrystaliza en tres rondas sucesivas: una con cloruro de metileno, otra con metanol y otra con heptano. De este modo, toda la astaxantina se disuelve.

30 De acuerdo con el documento WO 2007/128574 (véase la página 9, línea 25) la torta de filtro de astaxantina se lava con metanol. De acuerdo con el documento EP-A 633 258 (véase el Ejemplo 2) los cristales de astaxantina han sido lavados con heptano.

Era un objeto de la presente invención proporcionar una AXN sintética que sea de calidad fiable, fácil de obtener también a escala industrial y adecuada para el consumo humano.

Por lo tanto, era un objeto de la presente invención proporcionar una AXN sintética de calidad alimentaria.

35 Este objeto se consigue por el procedimiento de la presente invención que proporciona una AXN con niveles extremadamente bajos de disolvente, preferiblemente con niveles extremadamente bajos de diclorometano, haciendo así esta AXN adecuada para el consumo humano. Una AXN de este tipo es también un objeto de la presente invención.

40 Por lo tanto, la presente invención está especialmente dirigida a la preparación de una AXN sintética con un contenido de diclorometano  $\leq 250$  ppm, preferiblemente con un contenido de diclorometano  $\leq 200$  ppm, más preferiblemente con un contenido de diclorometano  $\leq 100$  ppm, incluso más preferiblemente con un contenido de diclorometano  $\leq 50$  ppm,  $\leq 35$  ppm,  $\leq 30$  ppm,  $\leq 25$  ppm,  $\leq 20$  ppm, lo más preferiblemente con un contenido de diclorometano  $\leq 10$  ppm.

45 En una forma de realización especialmente preferida de la presente invención, la AXN sintética tiene un contenido de diclorometano en el intervalo de entre 0 y 100 ppm, preferiblemente en el intervalo de entre 10 y 100 ppm.

Preferiblemente, la AXN sintética preparada de acuerdo con la presente invención tiene un contenido de metanol  $\leq 500$  ppm, preferiblemente tiene un contenido de metanol  $\leq 350$  ppm, más preferiblemente tiene un contenido de metanol  $\leq 250$  ppm, incluso más preferiblemente tiene un contenido de metanol  $\leq 150$  ppm,  $\leq 100$  ppm, lo más preferiblemente tiene un contenido de metanol  $\leq 50$  ppm,  $\leq 20$  ppm,  $\leq 10$  ppm,  $\leq 5$  ppm.

En una forma de realización especialmente preferida de la presente invención, la AXN sintética tiene un contenido de metanol en el intervalo de entre 0 y 50 ppm, preferiblemente en el intervalo de entre 0 y 20 ppm, más preferiblemente en el intervalo de 0 a 10 ppm, lo más preferiblemente en el intervalo de 0 a 5 ppm.

5 En una forma de realización preferida adicional, la AXN sintética tiene un contenido de diclorometano < 50 ppm y un contenido de metanol <100 ppm.

La AXN sintética preparada de acuerdo con la presente invención puede utilizarse especialmente en complementos dietéticos. Para estos fines, a menudo se proporciona en forma de una suspensión oleosa o una formulación en polvo tal como una microesfera, protegiendo así la AXN sintética de calidad alimentaria frente a la degradación.

10 Dado que es posible con los procedimientos de la presente invención reducir significativamente el contenido de disolventes orgánicos halogenados tales como diclorometano, ya no hay necesidad de utilizar una síntesis química, en donde se evita el uso de este tipo de disolventes.

### Procedimientos

La presente invención se dirige a un procedimiento para la fabricación de astaxantina sintética de calidad alimentaria (material de partida: cristales de astaxantina sintética; PROCEDIMIENTO A) que comprende las siguientes etapas:

- 15 a) proporcionar en un reactor cristales de astaxantina sintética que contienen diclorometano; y  
 b) añadir metanol a los cristales de astaxantina sintética en una cantidad para obtener una suspensión de astaxantina sintética en metanol, con lo cual la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión está en el intervalo de 5 a 70% en peso, preferiblemente en el intervalo de 20 a 50% en peso, más preferiblemente en el intervalo de 30 a 40% en peso, basado en el peso total de la suspensión, y cerrar el reactor; y
- 20 c) llevar la suspensión obtenida en la etapa b) a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C, más preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 100 a 120°C, lo más preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 105 a 115°C; y
- 25 d) mantener la suspensión a la temperatura tal como se alcanza en la etapa c); y  
 e) llevar la suspensión metanólica de astaxantina sintética a la presión atmosférica liberando sobrepresión;  
 f) enfriar la suspensión de astaxantina sintética a una temperatura en el intervalo de 10 a 35°C; y  
 g) separar por filtración los cristales de astaxantina sintética y secarlos; y

30 con lo cual durante el procedimiento la cantidad total de astaxantina sintética no se disuelve por completo al mismo tiempo en el metanol, y con lo cual se obtiene una astaxantina sintética con un contenido de diclorometano  $\leq$  250 ppm.

En lugar de cristales de AXN también se puede utilizar como material de partida una solución de AXN en diclorometano. Por lo tanto, la presente invención también se dirige a un procedimiento para la fabricación de astaxantina sintética de calidad alimentaria (material de partida: solución de astaxantina sintética en diclorometano) que comprende las siguientes etapas (PROCEDIMIENTO B):

- 35 i) proporcionar una solución de astaxantina sintética en diclorometano; y  
 ii) añadir metanol a la solución de astaxantina sintética en una cantidad para obtener una suspensión de astaxantina sintética, con lo que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión está en el intervalo de 5 a 70% en peso, basado en el peso total de la suspensión, y cerrar el reactor; y
- 40 iii) llevar la suspensión obtenida en la etapa ii) a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C; y  
 iv) mantener la suspensión a la temperatura tal como se alcanza en la etapa iii); y  
 v) llevar la suspensión metanólica de astaxantina sintética a la presión atmosférica liberando sobrepresión; y
- 45 vi) enfriar la suspensión de astaxantina sintética a una temperatura en el intervalo de 10 a 35°C; y  
 vii) secar la suspensión de astaxantina sintética obtenida en la etapa vi);

con lo cual durante el procedimiento la cantidad total de astaxantina sintética no se disuelve por completo al mismo tiempo en el metanol, y con lo cual se obtiene una astaxantina sintética de calidad alimentaria con un contenido de diclorometano  $\leq$  250 ppm.

Las etapas individuales de los procedimientos de la presente invención se describen ahora en detalle más adelante.

50 Los procedimientos de la presente invención son económicos y se pueden realizar en una escala industrial. Durante los procedimientos de acuerdo con la presente invención, la cantidad total de astaxantina no se disuelve por

completo en el metanol. Esto contrasta con un proceso de cristalización en el que la cantidad total de astaxantina se disuelve por completo al calentarla y se recristaliza cuando la temperatura vuelve a disminuir.

Puesto que las etapas de Procedimiento A y B sólo se diferencian con respecto al material de partida, son las mismas y, por lo tanto, se describen juntas.

5 Etapa a)/etapa i)

Como material de partida se pueden utilizar cristales de AXN sintética (véase el procedimiento A - etapa a)) o una solución de AXN sintética en diclorometano (véase el procedimiento B - etapa i)).

10 Procedimiento A: Los cristales de AXN sintética son tal como se obtiene a partir de cualquiera de las síntesis químicas después de la separación del disolvente, en el que la síntesis se ha realizado tal como, p. ej., preferiblemente en diclorometano. El diclorometano puede haber sido separado por destilación o por intercambio de disolvente. Preferentemente, el diclorometano ha sido separado mediante un intercambio de disolvente con metanol. En este caso, la mezcla de astaxantina y diclorometano se calienta a una temperatura de 38 a 40°C a presión atmosférica y el diclorometano se separa por destilación. Simultáneamente se añade metanol, de modo que el volumen de la mezcla se mantenga constante. Luego, el disolvente (diclorometano + metanol) se separa por  
15 destilación hasta que la temperatura interna se haya elevado a 64°C (punto de ebullición del metanol), lo que significa que solo se separa por destilación el metanol, pero ya no se necesita diclorometano.

Estos cristales de AXN sintética contienen todavía diclorometano que no puede ser separado prolongando simplemente el tiempo para el secado de estos cristales de AXN sintética, incluso si se incrementa la temperatura y/o el vacío. Cantidades típicas de diclorometano remanente en los cristales de AXN sintética son de 0,2 a 0,3% en peso, basado en el peso total de los cristales de AXN sintética.  
20

Procedimiento B: Dado que el procedimiento de la presente invención es muy eficaz en la separación de diclorometano, también es posible utilizar directamente una solución de la AXN sintética en diclorometano. En este caso, es ventajoso reducir primero por destilación la cantidad de diclorometano en la solución. Preferentemente, esto se hace añadiendo simultáneamente metanol.

25 Por lo tanto, si se realiza el procedimiento B, ventajosamente también se realizan las etapas a2) y a3).

a2) opcionalmente añadir metanol a la solución de astaxantina sintética de la etapa i);

a3) separar diclorometano por destilación;

en caso de que la etapa a2) se haya realizado separando por destilación el diclorometano y el metanol.

Etapa b)/etapa ii)

30 Preferentemente, la etapa b)/etapa ii) se lleva a cabo en un reactor cerrado.

Preferentemente, el metanol se añade a los cristales de astaxantina sintética (etapa b) - Procedimiento A) o a la solución de AXN sintética en diclorometano (etapa ii) - Procedimiento B) en una cantidad para obtener una suspensión de astaxantina sintética en metanol, con lo cual la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión está en el intervalo de 20 a 60% en peso, más preferiblemente en el intervalo de 30 a 50% en peso. Preferentemente, esto se hace bajo nitrógeno.  
35

Etapa c)/etapa iii)

Preferentemente, la suspensión obtenida en la etapa b)/etapa ii) se calienta hasta una temperatura, es decir, se lleva a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C, más preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 90 a 125°C, incluso más preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 100 a 120°C, lo más preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 105 a 115°C, en un reactor cerrado. Con ello, la presión aumenta.  
40

Etapa d)/etapa iv)

La temperatura se mantiene constante en el valor deseado - la misma temperatura que en la etapa c)/iii).

Etapa e)/etapa v)

Preferentemente, la suspensión metanólica de astaxantina sintética se lleva a presión atmosférica en un intervalo de tiempo de 2 a 5 minutos, o la presión se reduce en un intervalo de 1 a 2,5 bares por minuto.  
45

Etapa f)/etapa vi)

Preferiblemente, la suspensión metanólica de astaxantina sintética, con lo cual su contenido de diclorometano es  $\leq$  250 ppm, se enfría a una temperatura en el intervalo de 15-30°C, más preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 20 a 25°C.

5 Etapa h)/etapa h1)

Los cristales de astaxantina sintética se separan por filtración (Procedimiento A) o no se separan por filtración (Procedimiento B) y se secan.

El secado de los cristales de AXN sintética obtenidos se lleva a cabo generalmente a una temperatura por debajo de 140°C, preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 40 a 140°C, y en vacío. El vacío está preferiblemente en un intervalo de entre 0 y 20 mbara.

En una forma de realización de la presente invención, el secado de los cristales de AXN sintética se lleva a cabo a una temperatura de 80°C y a 20 mbar. En una forma de realización adicional de la presente invención, el secado de los cristales de AXN sintética se lleva a cabo a una temperatura en el intervalo de 55 a 70°C y a una presión por debajo de 20 mbar.

15 Realizaciones especialmente preferidas de la presente invención son aquellos procedimientos en los que se realizan una o más de las condiciones preferidas arriba dadas. Los procedimientos más preferidos de la presente invención son aquellos en los que se realizan todas las condiciones preferidas arriba dadas.

La invención se ilustra ahora adicionalmente en los siguientes ejemplos no limitativos.

**Ejemplos**

20 **Ejemplos 1-3: Procedimientos para obtener astaxantina sintética de calidad alimentaria**

**Ejemplo 1**

120 g de astaxantina (97%) que contenía 2000 mg/kg de diclorometano se introducen en un autoclave de acero de 1000 ml bajo condiciones inertes con 280 ml de metanol. El autoclave se cierra, la mezcla se agita a 350 rpm (rotaciones por minuto) y se calienta a 105°C durante 6 horas. Después de eso, se realiza un destello abriendo la válvula de salida, llevando la presión interna a la presión normal en 10 minutos. Después de eso, la mezcla se enfría a 25°C y se diluye con 190 ml de metanol. Los cristales se separan por filtración, se lavan con 150 ml de metanol y se secan en un horno de secado durante 16 horas a 80°C bajo 20 mbara. Se obtienen 118,6 g de astaxantina seca que contiene 61 mg/kg (61 ppm) de diclorometano y 40 mg/kg (40 ppm) de metanol.

**Ejemplo 2**

120 g de astaxantina (97%) que contenía 2000 mg/kg de diclorometano se introducen en un autoclave de acero de 1000 ml bajo condiciones inertes con 280 ml de metanol. El autoclave se cierra, la mezcla se agita a 350 rpm y se calienta a 105°C durante 15 minutos. Después de eso, se realiza un destello abriendo la válvula de salida, llevando la presión interna a la presión normal en 10 minutos. Después de eso, la mezcla se enfría a 25°C y se diluye con 200 ml de metanol. Los cristales se separan por filtración, se lavan con 150 ml de metanol y se secan en un horno de secado durante 16 horas a 80°C bajo 20 mbara. Se obtienen 118,0 g de astaxantina seca que contiene 240 mg/kg de diclorometano y 45 mg/kg de metanol.

**Ejemplo 3:**

El Ejemplo 1 puede repetirse, con lo que la mezcla se calienta a 110°C durante 6 horas.

En principio es posible realizar el ejemplo 1, 2 o 3 como se ha descrito arriba también a cualquier otra temperatura en el intervalo de 80 a 140°C en lugar de 105°C y 110°C, respectivamente. Estas otras temperaturas son, p. ej., 80°C, 85°C, 90°C, 95°C, 100°C, 115°C, 120°C, 125°C, 130°C, 135°C, 140°C y cualesquiera otras temperaturas entremedias. Los Ejemplos 1, 2 y 3 pueden repetirse especialmente a una temperatura de 115°C.

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento para la fabricación de astaxantina sintética de calidad alimentaria con un contenido de diclorometano  $\leq$  250 ppm, que comprende las siguientes etapas:
  - a) proporcionar en un reactor cristales de astaxantina sintética que contienen diclorometano; y
  - 5 b) añadir metanol a los cristales de astaxantina sintética en una cantidad para obtener una suspensión de astaxantina sintética en metanol, con lo cual la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión está en el intervalo de 5 a 70% en peso, basado en el peso total de la suspensión, y cerrar el reactor; y
  - c) llevar la suspensión obtenida en la etapa b) a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C; y
  - d) mantener la suspensión a la temperatura tal como se alcanza en la etapa c); y
  - 10 e) llevar la suspensión metanólica de astaxantina sintética a la presión atmosférica liberando sobrepresión;
  - f) enfriar la suspensión de astaxantina sintética a una temperatura en el intervalo de 10 a 35°C; y
  - g) separar por filtración los cristales de astaxantina sintética y secarlos;

con lo cual durante el procedimiento la cantidad total de astaxantina sintética no se disuelve por completo al mismo tiempo en el metanol, y

15 con lo cual se obtiene una astaxantina sintética con un contenido de diclorometano  $\leq$  250 ppm.
  
2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que en la etapa b) la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión está en el intervalo de 20 a 50% en peso, preferiblemente en el intervalo de 30 a 40% en peso, basado en el peso total de la suspensión.
  
3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 y/o la reivindicación 2, en el que en la etapa c) la suspensión se lleva a una temperatura en el intervalo de 100 a 120°C, preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 105 a 115°C.
  
4. Un procedimiento para la fabricación de astaxantina sintética de calidad alimentaria con un contenido de diclorometano  $\leq$  250 ppm, mediante purificación de una solución de astaxantina sintética en diclorometano, que comprende las siguientes etapas:
  - 25 i) proporcionar una solución de astaxantina sintética en diclorometano; y
  - ii) añadir metanol a la solución de astaxantina sintética en una cantidad para obtener una suspensión de astaxantina sintética, con lo que la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión está en el intervalo de 5 a 70% en peso, y cerrar el reactor; y
  - 30 iii) llevar la suspensión obtenida en la etapa ii) a una temperatura en el intervalo de 80 a 140°C; y
  - iv) mantener la suspensión a la temperatura tal como se alcanza en la etapa iii); y
  - v) llevar la suspensión metanólica de astaxantina sintética a la presión atmosférica liberando sobrepresión; y
  - vi) enfriar la suspensión de astaxantina sintética a una temperatura en el intervalo de 10 a 35°C; y
  - 35 vii) secar la suspensión de astaxantina sintética obtenida en la etapa vi);

con lo cual durante el procedimiento la cantidad total de astaxantina sintética no se disuelve por completo al mismo tiempo en el metanol, y

con lo cual se obtiene una astaxantina sintética de calidad alimentaria con un contenido de diclorometano  $\leq$  250 ppm.
  
5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, en el que en la etapa ii) la cantidad de astaxantina sintética en dicha suspensión está en el intervalo de 20 a 50% en peso, preferiblemente en el intervalo de 30 a 40% en peso, basado en el peso total de la suspensión.
  
6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4 y/o la reivindicación 5, en el que en la etapa iii) la suspensión se lleva a una temperatura en el intervalo de 100 a 120°C, preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 105 a 115°C.