

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 989 356**

51 Int. Cl.:

A61Q 1/02 (2006.01)
A61K 8/97 (2007.01)
A61K 8/04 (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01)
A61K 8/73 (2006.01)
A61K 8/92 (2006.01)
A61K 8/9789 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2016** **E 23151564 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2024** **EP 4218939**

54 Título: **Composiciones de tinta corporal**

30 Prioridad:

19.06.2015 US 201562181918 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
26.11.2024

73 Titular/es:

**INKBOX INK INC. (100.0%)
393 King Street West - Floor 2
Toronto, ON M5V 3G8, CA**

72 Inventor/es:

**HANDLEY, TYLER JAMES;
HANDLEY, BRADEN;
CAPUTO, CHRISTOPHER BLAIN y
ZREHEN, ADAM MANUEL**

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 989 356 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 de tinta corporal

5 **Campo técnico**

La invención se refiere al campo de las tintas corporales y para tatuajes, y específicamente a una composición de tinta corporal temporal.

10 **Antecedentes**

Las tintas corporales o para tatuajes temporales se conocen bien en la técnica y se han utilizado para decorar el cuerpo humano con diversos fines a lo largo de la historia de la humanidad. La decoración corporal está muy extendida en gran parte del mundo. También está muy extendido el uso de tintas temporales u otras sustancias para decorar temporalmente el cuerpo, desde tatuajes de henna hasta tintas sintéticas diseñadas para tener un efecto temporal. Diversos métodos y composiciones para aplicar las tintas dan como resultado diferentes duraciones del propio tatuaje.

Históricamente se han utilizado varias composiciones para proporcionar tatuajes o decoraciones corporales temporales para generar dichas tintas, desde ceniza hasta arcilla y colorantes de plantas. Históricamente se ha sabido muy poco acerca de los efectos a largo plazo de la aplicación de muchas de estas composiciones al cuerpo humano.

Las tintas para tatuajes permanentes también están muy extendidas, aunque su aplicación a menudo es dolorosa y la naturaleza permanente de estas tintas disuade a las personas de usarlas o conduce de otro modo a problemas evidentes al tener marcas permanentes en el cuerpo humano.

El uso de tatuajes temporales ha ganado popularidad en los últimos años. Los padres los aceptan más para usarlos con sus hijos pequeños y preadultos, y se han convertido en una herramienta de expresión útil para usuarios de todas las edades con fines que van desde la expresión artística o personal en general hasta mostrar apoyo en torno a la cultura pop y eventos deportivos.

Muchas tintas para tatuajes y corporales de la técnica anterior adolecen de problemas relacionados con el tiempo durante el cual las tintas son efectivas, que es demasiado corto y/o se vuelven ineficaces con demasiada facilidad debido a las actividades de desgaste regulares. Además, los efectos secundarios para la salud de algunos de los elementos utilizados en las tintas para tatuajes permanentes y temporales de la técnica anterior o bien no se han estudiado exhaustivamente o bien se ha demostrado que tienen al menos algunos efectos perjudiciales. Por consiguiente, existe la necesidad en la técnica de una tinta corporal/para tatuajes temporal mejorada.

El documento WO 2013/045701 A2 describe un procedimiento de tinción de fibras de queratina humana aplicando una composición polimérica, que comprende un compuesto glicosil iridoide y un grupo nucleófilo o un grupo amino o tio.

40 **Resumen de la invención**

La presente invención se define mediante la reivindicación independiente 1. Las reivindicaciones dependientes representan realizaciones adicionales de la invención.

Según la invención, se da a conocer una tinta para tatuajes temporales que comprende genipina, un disolvente y un agente espesante, en donde el agente espesante es goma xantana, y en donde la tinta para tatuajes temporales comprende además un aceite vegetal o un aceite natural o un aceite esencial.

En algunas realizaciones, la tinta para tatuajes temporales comprende además alcohol isopropílico o un codisolvente orgánico que incluye, pero sin limitarse a, acetato de etilo, acetona, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, tetrahidrofurano y éter dietílico.

En algunas realizaciones, la tinta incluye además un aceite vegetal.

En algunas realizaciones, la tinta incluye un aceite seleccionado del grupo que consiste en aceites de canola, romero, oliva, coco, maíz, semilla de algodón, palma, cacahuete, cártamo, sésamo, soja, girasol, almendra, anacardo, avellana, macadamia, nuez pecana, pistacho, nuez y acai.

En algunas realizaciones, la tinta incluye glicerol.

En algunas realizaciones, el disolvente es agua y la tinta contiene del 75 al 99 por ciento en volumen de agua y el 1-25 por ciento en volumen de aceite vegetal, y el 1-20 % de codisolvente orgánico.

En algunas realizaciones, la goma xantana se proporciona en una fracción en masa de entre 0,1-0,15.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra un aplicador a modo de ejemplo para aplicar el tatuaje temporal tal como se describe en la presente memoria.

La figura 2 representa las cantidades de cada residuo de aminoácido presente en pericardios porcinos recién preparados y fijados con genipina que se obtiene en un análisis de aminoácidos.

La figura 3 muestra un mecanismo simplificado propuesto de formación de pigmento azul.

La figura 4 muestra una reacción de genipina-colágeno.

La figura 5 muestra un mecanismo de reacción parcial hacia el pigmento azul.

La figura 6 muestra un método a modo de ejemplo de aplicar un tatuaje temporal a la piel de un usuario.

Descripción detallada

En la técnica anterior se han usado zumos de frutas extraídos de frutas que contienen genipina, tales como *Genipa americana*, en composiciones de tintas corporales y para tatuajes. El zumo de fruta extraído incluye grupos residuales que contienen amina que reaccionan con la genipina formando un color azulado. Parte de este complejo de genipina que reacciona no puede reaccionar con el colágeno y otros grupos anclados que contienen amina que se encuentran en la piel humana, lo que provoca el desperdicio de una parte de la genipina extraída. Además, la genipina reacciona progresivamente con los grupos amina que se encuentran en el zumo, conduciendo así a una fecha de caducidad de la composición de tinta, a menos que se congele. Además, el zumo puede contener azúcares residuales y otros compuestos que pueden atraer contaminación (por ejemplo, contaminación bacteriana) o que no son beneficiosos o pueden dificultar el proceso de tatuaje.

La mejora de la invención incluye, entre otras cosas, una disolución concentrada de genipina. La genipina concentrada mejora la reacción cinética general permitiendo que la tinción y el entintado avancen significativamente más rápido que las tintas de la técnica anterior. Además, la disolución concentrada de genipina da como resultado que haya una cantidad controlada de grupos funcionales amina, lo que permite la coloración de la disolución y al mismo tiempo mantiene >95 % de genipina para tintas de la técnica. Por consiguiente, la vida útil o fecha de caducidad de la composición de la invención se prolonga en órdenes de magnitud con respecto al uso de zumos de genipina de la técnica anterior. Los experimentos han demostrado que la composición de la invención tiene una vida útil de varios años, mientras que los extractos de zumo de fruta de genipina de la técnica anterior tienen una vida útil de varias semanas.

La genipina concentrada se obtiene normalmente en forma sólida y puede obtenerse fácilmente con una pureza mayor del 98 %. La invención no está limitada por este nivel de pureza, aunque se prefiere emplear una pureza mayor del 85 % para beneficiarse de las ventajas descritas en la presente memoria.

Se contempla que la composición pueda proporcionarse en varias formas, aunque se prefiere que se proporcione o bien en forma líquida o bien en forma de gel. La forma líquida de la composición se usaría normalmente con un aplicador, tal como un material no tejido, mediante el cual el aplicador se empapa o se sumerge de otro modo en la forma líquida para aplicarse posteriormente a la piel humana mediante la aplicación de presión sobre el aplicador. En forma de gel, la composición puede aplicarse directamente a la piel. A continuación, se analizarán detalles adicionales sobre estos métodos de aplicación.

Fórmula 1 - Forma líquida

En forma líquida, la composición consiste en al menos un disolvente y genipina disuelta en una cantidad en el intervalo de 10 mM a 200 mM (milimolar), con preferencia hacia el extremo superior de este intervalo. El valor de 10 mM es la concentración mínima requerida para que la tinción surta efecto, mientras que 95 mM es el límite de solubilidad de la composición. El límite superior máximo de 200 mM es la cantidad en la que el aplicador de tatuajes se vuelve demasiado rígido y, en última instancia, poco práctico de usar. El disolvente puede ser agua pura o, alternativamente, agua tamponada. Se ha descubierto que mantener un pH óptimo de 7,4 produce el mayor grado de eficacia. El uso de un tampón permite que tal pH se mantenga con precisión en el nivel óptimo de 7,4. Sin embargo, para mayor eficacia puede usarse agua pura en lugar de agua tamponada. El pH del agua es de 7,0, que se aproxima razonablemente al pH óptimo determinado y está dentro de un intervalo de valores de pH que conducen a resultados preferidos. En una realización preferida, se añade alcohol isopropílico o alcohol etílico a la formulación para proporcionar capacidades de secado potenciadas y una mayor solubilidad de genipina.

En general, se prefiere el uso de agua como disolvente a otros posibles disolventes porque determinadas etapas en la reacción de entintado o tinción dependen del agua como catalizador. En particular, la primera unión de genipina a un grupo que contiene amina en la piel humana, hasta la reconfiguración química y estructural de la molécula que

conduce al cambio de color, depende del agua como catalizador. Dado que la cinética de reacción total depende también de la difusión, también se prefiere usar un disolvente con baja viscosidad. Se conoce bien que los niveles de difusión disminuyen a medida que aumenta la viscosidad de un líquido. El agua tiene una viscosidad de 1 centipoise (cP), que es un nivel muy bajo y que se ha determinado que se prefiere para la composición de la invención. Además de las ventajas de la baja viscosidad, la naturaleza catalítica del agua es especialmente beneficiosa; en particular, la combinación de la baja viscosidad y la naturaleza catalítica hacen que las disoluciones a base de agua sean óptimas. Otros disolventes sometidos a prueba incluyen disoluciones viscosas tales como jarabes mezclados con diferentes cantidades de agua que dan como resultado una viscosidad en el intervalo de 500-3500 cP, además de glicerol mezclado con agua y combinaciones de jarabe-glicerol-agua en ese mismo intervalo de viscosidad.

En realizaciones en las que se usa un tampón con agua, el tampón preferido es solución salina tamponada con fosfato (PBS) que tiene un pH de 7,4. También se contemplan otros tampones y la invención no debe considerarse limitada al uso de PBS. La definición de una disolución tampón es “una disolución acuosa que consiste en una mezcla de un ácido débil y su base conjugada, o viceversa”. La disolución tampón debe ser principalmente agua (en una base de peso/volumen). El ácido débil o la base conjugada deben producir una disolución tampón con un intervalo de pH útil de aproximadamente 7,4 +/- 2,0. La barra de error se aplica para incorporar una amplia variedad de tampones.

Cuando se mezcla la composición de genipina, la genipina sólida puede añadirse completamente al disolvente y dejar que se disuelva. Alternativamente, y con el fin de acelerar la disolución de la genipina, puede calentarse la disolución, siempre que la temperatura se mantenga por debajo de 121 °C, que es el punto de fusión de la genipina. También puede usarse agitación o mezclado vigoroso para acelerar la disolución.

En uso, la composición líquida de la invención se empapa preferiblemente en una almohadilla de material textil, lo más preferiblemente un material no tejido, que luego se une a una plantilla que delinea el diseño del tatuaje que va a aplicarse y presionarse sobre la piel. Las almohadillas absorbentes pueden empaparse previamente o empaparse justo antes de usarlas con un paño humedecido con agua. Cuando se empapa previamente, la absorbencia total es lo más preferiblemente de entre 0,5 ml y 7,5 ml, dependiendo del tamaño de la plantilla. La capacidad de hinchamiento del material textil debe ser aproximadamente del 45 % para garantizar que se genere un tatuaje preciso, con escurrimiento mínimo. El material textil está compuesto preferiblemente por un material absorbente de agua, generalmente de un material celulósico de base de fibras que puede retener un contenido de agua de hasta 15 veces su peso. Las almohadillas de algodón son comunes y cumplen este requisito.

Fórmula 2 - Forma de gel

En una realización preferida de la invención, la composición se proporciona en forma de gel, que puede aplicarse directamente al cuerpo o con la ayuda de un aplicador para ayudar a generar el diseño apropiado. La forma de gel no requiere absorción en una almohadilla de material textil como lo haría la forma líquida.

La realización preferida de la forma de gel consiste en aceite vegetal, agua, goma xantana, alcohol etílico o isopropílico y genipina. El aceite vegetal puede sustituirse o complementarse con cualquier aceite natural o esencial incluyendo, pero sin limitarse a, aceites de canola, romero, oliva, coco, maíz, semilla de algodón, palma, cacahuete, cártamo, sésamo, soja, girasol, almendra, anacardo, avellana, macadamia, nuez pecana, pistacho, nuez, acai y otros. En otras realizaciones, se usa glicerol en lugar de aceite vegetal o ácidos grasos de cadena larga. Generalmente, las alternativas al aceite vegetal son compuestos líquidos orgánicos, no tóxicos y que no contienen aminas. El alcohol puede sustituirse o complementarse con cualquier otro disolvente orgánico incluyendo, pero sin limitarse a, alcohol butílico, acetona, acetato de etilo, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, dodecanol y otros.

La goma xantana se usa como agente espesante, que absorbe agua y aumenta la viscosidad del gel sin cambiar sustancialmente sus otras propiedades. Pueden usarse otros agentes espesantes diversos, incluyendo gomas naturales tales como arginina, goma garrofín, goma guar, goma arábica, avena, karaya, tara, gelán, ghatti, konjac, casia, tragacanto, arabinogalactano, algarroba, abeto, chicle, damar y curdlano. Otros polisacáridos que pueden usarse como espesantes incluyen pectina, carragenano, pululano, glicano de levadura de panadería y hemicelulosa de soja.

El intervalo de concentración de genipina es el mismo que el de la fórmula 1 anterior: de 10 mm a 500 mm. El agua, el aceite vegetal, un codisolvente orgánico y la goma xantana pueden añadirse en diferentes concentraciones, tal como se ejemplifica en la tabla 1:

	Volumen aproximado (ml)	Masa aproximada (g)	Intervalo de fracción volumétrica	Intervalo de fracción másica
Agua	20,55	N/D	0,75-0,99	N/D
Aceite vegetal	5,45	N/D	0,01-0,25	N/D
Goma xantana	N/D	1,35		0,01-0,15

	Volumen aproximado (ml)	Masa aproximada (g)	Intervalo de fracción volumétrica	Intervalo de fracción másica
5	5	N/D	0,01-0,25	

En la tabla 1, los intervalos de fracción volumétrica y fracción másica mostrados pretenden ilustrar composiciones alternativas de agua, aceite vegetal, goma xantana y disolvente orgánico. Por ejemplo, para un volumen total de 25 ml, el volumen de agua puede oscilar entre 18,75 ml y 24,75 ml. De manera similar, el volumen total de aceite vegetal puede oscilar entre 0,25 ml y 6,25 ml. Para una masa total de 25 g, la masa de goma xantana puede oscilar entre 0,25 g y 3,75 g. Finalmente, la cantidad total de codisolvente orgánico sería de aproximadamente 5 ml o una fracción volumétrica de 0,01-0,25 en general.

Se añade al gel un alcohol, tal como alcohol isopropílico o alcohol etílico, para potenciar las capacidades de absorción y tinción de la piel. La cantidad preferida de alcohol isopropílico/alcohol etílico añadida está en el intervalo del 5 - 40 % en volumen. El alcohol se añade tras la disolución de la genipina en agua.

Al preparar la realización preferida del gel, la primera etapa es la adición de goma xantana al aceite deseado. Si se añade goma xantana directamente al disolvente, se aglutina y resulta difícil distribuirla completamente, requiriéndose un mezclado vigoroso no deseado durante un período prolongado. Este mezclado introduce burbujas en la disolución, lo que disminuye la calidad del tatuaje que puede prepararse. La goma xantana es un compuesto a base de carbono que es ligeramente hidrófobo. Por tanto, se disuelve mejor en compuestos orgánicos como el aceite vegetal.

La mezcla de agua/genipina se prepara por separado. La mezcla de agua/genipina se añade directamente a la mezcla de goma xantana/aceite vegetal. Entonces se agitan los dos o se mezclan de otro modo. La goma xantana promueve una mayor miscibilidad entre la fase oleosa y acuosa, permitiendo que las dos fases se mezclen completamente. La goma xantana actúa eficazmente como agente espesante y como emulsionante. Resulta beneficioso decantar cualquier exceso de aceite que suba a la parte superior y no mezclarlo completamente. El gel resultante está entonces listo y puede almacenarse en botellas de plástico.

La invención, tal como se describe en la presente memoria, proporciona una composición mejorada de tinta corporal y para tatuajes, que tiene un efecto temporal en el cuerpo. En varios experimentos, y dependiendo de los elementos constituyentes específicos y del método de aplicación usado, el tatuaje temporal normalmente durará entre 10-18 días con consistencia de coloración, mientras que todo el tatuaje tiene una apariencia uniforme sin agrietamiento ni deterioro apreciable en la calidad. La tinta generalmente se desvanece con el tiempo y no deja efectos duraderos en el cuerpo humano. La tinta en sí es relativamente fácil de aplicar al cuerpo y pueden usarse diversos diseños mediante una plantilla.

Fórmula 3 - Aplicación preferida

En otra variación de la invención, que incluye un método y dispositivo preferidos para aplicar el tatuaje temporal al cuerpo, el componente activo (genipina) se embebe en un aplicador con una plantilla grabada en la parte inferior, mediante un procedimiento de corte o bien por tinte o bien por láser.

Con referencia a la figura 1, se muestra una realización preferida de la invención en la que un aplicador **5** incluye cuatro capas. La capa inferior **40** es un adhesivo médico de doble cara, tal como el vendido por 3M™ como adhesivo médico 9835. Por encima de esta capa hay un adhesivo secundario **50**, preferiblemente de calidad para medicina tal como el vendido por 3M™ como adhesivo médico 1509 o CCT MD-1320. El diseño de tatuaje temporal deseado (no mostrado) se corta en cada una de estas capas. Por encima del adhesivo secundario hay un material no tejido **60**, tal como el vendido como Delstar™ Stratex en el que está embebido el componente activo del tatuaje, es decir, la genipina, tal como se describe en la presente memoria. Finalmente, una capa superior **70** es una que se corta de manera que el centro quede expuesto para descubrir el material no tejido **60**. La capa **70** podría ser 3M 764 o mactac™ VDG 9511.

La genipina puede añadirse al material no tejido usando diversos métodos. En un método a modo de ejemplo, el material no tejido precortado se sumerge en una disolución acuosa de genipina, normalmente en el intervalo de 75 mmol - 200 mmol, o pipeteando la misma disolución de concentración sobre el material no tejido en el aplicador completamente ensamblado. **5**. La genipina tiene una solubilidad limitada en agua, por lo que la disolución se calienta hasta aproximadamente 40 grados Celsius para disolverla. Puede añadirse alcohol a la disolución acuosa para aumentar la solubilidad de la genipina. Si se pipetea, el volumen óptimo requerido está en el intervalo de 0,8 ml por pulgada cuadrada de material no tejido. Se dejan secar durante aproximadamente 24 horas y opcionalmente se añade una capa protectora **80** para evitar que la genipina manche las manos del usuario.

Con referencia ahora a la figura 6, desde la perspectiva del usuario, para aplicar el tatuaje temporal usando el aplicador **5**, primero se despegla la capa inferior **40**, revelando el lado pegajoso del adhesivo secundario **50**. Luego se aplica el lado pegajoso a la piel y se aplica presión presionando manualmente hacia abajo. Luego se despegla la capa superior **80** para exponer el material no tejido activado **60**. Con el material no tejido **60** presionado sobre la piel (A), se frota un

hisopo con alcohol (tal como etanol o isopropanol) sobre el material no tejido; y se calienta una toalla humedecida (por ejemplo, en el microondas durante 15 segundos) y se presiona firmemente sobre el aplicador de tatuaje 5 (B). Lo ideal es que el nivel de agua de la toalla humedecida sea de aproximadamente 1,5 oz de agua por toalla de 9x9". Después de aproximadamente 5-15 minutos, se retiran la toalla y el aplicador (C) y pueden desecharse, produciendo el tatuaje temporal (D) que se oscurece durante las siguientes 36 horas hasta alcanzar su máxima intensidad.

Para explicar más a fondo los principios de funcionamiento detrás de la invención, se llevó a cabo una revisión detallada de diversa bibliografía y experimentación. Estos se presentan ahora a continuación.

Principios de funcionamiento

Al final de esta descripción se proporciona una lista de referencias a las que se refieren las referencias en los siguientes párrafos.

Finnegan y col. (1960) aislaron del fruto maduro de *Genipa americana* L. (nombre binomial), su principio "activo" (la parte de la planta responsable de sus propiedades de tinción) como un sólido cristalino incoloro, al que han denominado genipina.¹ La genipina corresponde a la fórmula molecular $C_{11}H_{14}O_5$. Durante las últimas décadas, se ha estudiado y determinado con precisión la estructura exacta de la genipina. Además, los investigadores han estado investigando el mecanismo exacto de reacción que produce el pigmento azul oscuro, además de las propiedades de reticulación de la molécula para bioprótesis. Esto último es particularmente interesante debido a la alta biodegradabilidad de la genipina y su baja citotoxicidad (nocividad para las células).

La genipina, un iridoide (metabolito), se produce principalmente a partir de la hidrólisis enzimática del genipósido, que se encuentra en el fruto de *Genipa americana*, así como en *Gardenia jasminoides* y otras plantas diversas, aunque se han desarrollado otros mecanismos de producción sintéticos. Estas plantas se conocen bien como fuente de colorantes usados en la química de los alimentos. Con el objetivo de diseñar sistemas químicos nuevos y de bajo impacto, se han realizado grandes esfuerzos para imitar estructuras y funciones naturales. Las moléculas coloreadas/que contienen cromóforos de manera natural, tales como la genipina, se estudian cada vez más para desarrollar nuevas tecnologías y obtener productos finales no tóxicos y eficaces^{2,3}. Por ejemplo, Di Tommaso y col. (2014), financiado en parte por L'Oreal Research and Innovation, presentan un estudio teórico mecanicista sobre la reactividad de la genipina.⁴

A pesar del interés industrial de la genipina y su amplia variedad de posibles aplicaciones, su caracterización completa y reactividad están lejos de estar claras. Por ejemplo, recientemente se ha caracterizado la estructura de la genipina en estado sólido. También se encuentran disponibles en la bibliografía algunos indicios sobre el comportamiento de la genipina en disolución. En particular, se ha observado que, a pH básico, la genipina es inestable y experimenta autopolimerización, mientras que en condiciones de pH más suaves⁵, se ha propuesto una reacción de apertura de anillo.^{6,7}

Sin embargo, se conoce bien en el campo de la investigación de coloración que la reacción entre la genipina y los grupos amina produce pigmentos azules.^{8,9} Esto ocurre a través de aminas primarias o aminoácidos, que están presentes en las proteínas y en la piel humana. Touyama y col. notificaron que sólo las aminas primarias, en lugar de las aminas secundarias o terciarias, pueden reaccionar con la genipina.⁶ Esta afirmación la confirma Sung y col. (1998) en un estudio de viabilidad de la genipina como agente reticulante natural para la fijación de tejidos biológicos.¹⁰

Sung y col. usan pericardios porcinos recién preparados obtenidos de un matadero para imitar la piel humana y determinar las propiedades de reticulación y tinción de la genipina. Después de la fijación, se descubrió que el tejido biológico fijado con genipina se volvió de color azulado oscuro.¹¹ Determinaron que los residuos de aminoácidos que pueden reaccionar con la genipina son lisina, hidroxilisina y arginina, tal como se demuestra en la figura 2. De estos residuos de aminoácidos que reaccionaron, la lisina fue la más reactiva. Todos estos tienen grupos amino primarios. Nota: Investigadores posteriores han identificado otros aminoácidos que pueden reaccionar.

Touyama y col. (1994) estudiaron las estructuras de los productos intermedios que conducen a un pigmento azul producido a partir de genipina y metilamina, la amina primaria más simple. En la bibliografía pueden encontrarse el monómero de genipina-metilamina y los polímeros de pigmento azul propuestos por el grupo de Touyama.^{12,13} Brevemente, el monómero de genipina-metilamina se forma a través de un ataque nucleofílico por parte de la metilamina en el carbono olefínico en C-3 de la genipina, seguido por la apertura del anillo de dihidropirano y el ataque por el grupo amino secundario en el grupo aldehído resultante (mostrado en la figura 3). Los polímeros de pigmento azul presumiblemente se forman mediante deshidrogenación y polimerización inducida por radicales de oxígeno de varios pigmentos intermedios.

Fujikawa y col. también notificaron resultados similares que explican el mecanismo de reacción.^{12,13} En el estudio de la estructura de un pigmento azul formado a partir de glicina (otro aminoácido) y genipina, el grupo de Fujikawa encontró múltiples componentes azules. Notificaron que el componente más simple en el pigmento azul era un aducto 1:1 (adición directa de moléculas). A partir de la estructura de este componente más simple, propusieron que la genipina reacciona espontáneamente con un aminoácido para formar un complejo nitrógeno-genipina, que

experimenta deshidratación para formar un monómero aromático y estable. La dimerización se produce en la segunda etapa, quizás por reacción de radicales.

Los resultados de los estudios mencionados anteriormente sugieren que la genipina puede formar reticulaciones intramoleculares e intermoleculares con estructura cíclica dentro de las fibras de colágeno en el tejido biológico (mostrado en la figura 4).

Con el avance de la reacción se observó un cambio drástico de color de la disolución, de incolora a amarilla y luego a roja. Estas investigaciones experimentales permitieron la identificación de dos especies, a saber, un producto intermedio amarillo y el producto completamente caracterizado, 2-metil-4-metoxycarbonil-8-metil-2-piridina. Este último da un color rojizo a la disolución y se supone que es el punto de partida para la producción de oligómeros azules.

Según Di Tommaso y col., quienes realizaron una extensa investigación experimental para determinar el mecanismo de reacción paso a paso, desde un punto de vista termodinámico, las barreras de activación para todas las reacciones son bajas y la endotermia (absorción de calor) no es considerable, por lo que la reacción transcurre principalmente de manera autocatalítica y sin detenerse hasta llegar al producto azul final. En la figura 5 se muestra una representación parcial del complejo mecanismo de reacción.

También cabe señalar que la primera oxidación de 7 no se ha determinado de manera inequívoca y probablemente sea necesaria la presencia de un oxidante (tal como oxígeno) para desencadenar el ciclo. El papel catalítico del agua se ha destacado en muchas etapas del procedimiento, hasta la producción del primer producto intermedio amarillo 4.

En una patente de 1986, investigadores de Suntory Limited demuestran que la reacción de la genipina con taurina, un tipo de ácido aminosulfónico, da como resultado una composición colorante azul con mucha mejor estabilidad que los colorantes conocidos derivados de *Gardenia* (similar a *americana*). Además, se ha demostrado que variar el pH en el intervalo de 4-9 cambia el color del colorante de azul oscuro a morado azulado 14. Esto es coherente con el estudio elaborado por Di Tommaso y col., y está claro en la figura 5 que el pH puede alterar el equilibrio entre los componentes.

Métodos existentes para alterar las propiedades de tinción de genipa

En la patente de Wild Flavours, Inc., se describe un método para fabricar un colorante rojo usando un extracto rico en genipina. En primer lugar, el extracto de genipina se hidroliza para eliminar un grupo metilo y convertir la genipina en ácido genipínico. Entonces, la genipina hidrolizada se neutraliza usando ácidos y luego se calienta hasta 70-75 °C durante 10-20 minutos. La disolución se purifica entonces mediante métodos de filtración o centrifugación para eliminar un producto marrón insoluble. Finalmente, la disolución se ajusta a un pH de 4,0-4,6 con ácido orgánico o sal, tal como ácido acético o acetato de sodio. El color rojo se genera después de mezclarlo con compuestos que contienen amina y calentarlo hasta aproximadamente 70-95 °C durante aproximadamente 2 horas, por lo que no es factible usarlo como tatuaje. El rojo genipa es un pigmento termoestable y también es estable a un pH alto.¹⁵

En la patente de Ecoflora SAS, se describen compuestos colorantes y métodos de aislamiento de los compuestos colorantes derivados de una reacción con genipina y una amina. En la introducción de la patente, los inventores describen los resultados de una búsqueda de patentes y un análisis bibliográfico exhaustivos destinados a encontrar todas las soluciones existentes para cambiar los colores de tinción de la genipina y análogos de genipina derivados de *Genipa americana*. Estas soluciones se han descrito anteriormente. Además, los autores afirman que “la presente invención contribuye a superar la falta de conocimiento sobre las estructuras moleculares del material de pigmento azul derivado de una reacción de genipina con un aminoácido”.¹⁶ Esta afirmación está respaldada por los resultados experimentales de Di Tommaso y col.

Los autores proporcionan métodos para preparar colorantes morados, negros y verdes a partir del zumo de *Genipa americana*. El extracto de zumo se hace reaccionar con glicina, prolina o triptófano (tipos de aminoácidos), seguido por etapas de aislamiento.¹⁶ No está claro si esta formulación teñiría la piel humana y dependerá de si se mantienen las propiedades de reticulación de la genipina.

Bibliografía

1. Finnegan, R. A., G. Naturally Occurring Oxygen Heterocyclics. Journal of Organic Chemistry. (1960) 110(9), 2174-2177.
2. D. Frick, Rev. Prog. Color. Relat. Top. (2003) 33, 15.
3. O. J. X. Morel y R. M. Christie. Current trends in the chemistry of permanent hair dyeing. Chem. Rev. (2011) 111, 2537.
4. Di Tommaso, S., David, H., Gomar, J., Leroy, F. y Adamo, C. From iridoids to dyes: a theoretical study on genipin reactivity. RSC Advances, (2014) 4(22), 11029.

5. F. L. Mi, S. S. Shyu y C. K. Peng, J. Characterization of ring-opening polymerization of genipin and pH-dependent cross-linking reactions between chitosan and genipin. *Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* (2005) 43, 1985.

6. J.-E. Park, J.-Y. Lee, H.-G. Kim, T.-R. Hahn y Y.-S. Paik, J. Agric. Isolation and characterization of water-soluble intermediates of blue pigments transformed from geniposide of *Gardenia jasminoides*. *Food Chem.* (2002) 50, 6511.

7. P. Slusarewicz, K. Zhu y T. Hedman. Kinetic analysis of genipin degradation in aqueous solution. *Nat. Prod. Commun.* (2010) 5, 1853.

8. S. W. Lee, J.-M. Lim, S.-H. Bhoo, Y.-S. Paik y T.-R. Hahn Structure of genipin in solution: a combined experimental and theoretical study. *Anal. Chim. Acta.* (2003) 480, 267.

9. S. Fujikawa, Brilliant skyblue pigment formation from *Gardenia* fruits. *Tetrahedron Lett.* (1987) 28, 4699. 11

10. Sung, H., Huang, R., Huang, L. L. H., Tsai, C., y Chiu, C. Feasibility study of a natural crosslinking reagent for biological tissue fixation. (1998).

11. Sung, H., Liang, I., Chen, C., Huang, R., y Liang, H. Stability of a biological tissue fixed with a naturally occurring crosslinking agent (genipin). (2000).

12. Touyama R, Takeda Y, Inoue K, Kawamura I, Yatsuzuka M, Ikumoto T, Shingu T, Yokoi T, Inouye H. Studies on the blue pigments produced from genipin and methylamine. I. Structures of the brownish-red pigments, intermediates leading to the blue pigments. *Chem Pharm Bull.* (1994). 42:668-673.

13. Touyama R, Inoue K, Takeda Y, Yatsuzuka M, Ikumoto T, Moritome N, Shingu T, Yokoi T, Inouye H. Studies on the blue pigments produced from genipin and methylamine. II. On the formation mechanisms of brownish-red intermediates leading to the blue pigment formation. *Chem Pharm Bull.* (1994) 42:1571-1578.

14. Koga, K., Fujikawa S., Fukui, Y. Natural blue dye composition and colorant using the same: prepared by reacting taurine and genipin. (1988) Documento EP0251063 A2.

15. Wu, S., y Horn, G. Genipin-rich material and its use. (2013) Documento US2012 /063836.

16. Varas, E., y col. Colorant compounds derived from genipin or genipin containing materials. (2014) Solicitud de patente estadounidense 2014/0350127.

REIVINDICACIONES

1. Una tinta para tatuajes temporales que comprende genipina, un disolvente y un agente espesante, en donde el agente espesante es goma xantana, y en donde la tinta para tatuajes temporales comprende además un aceite vegetal o un aceite natural o un aceite esencial.
2. Tinta para tatuajes temporales según la reivindicación 1, que comprende además alcohol etílico o isopropílico o un codisolvente orgánico.
3. Tinta para tatuajes temporales según la reivindicación 2, en donde la cantidad de alcohol etílico o alcohol isopropílico está en el intervalo del 5 al 40 % en volumen.
4. Tinta para tatuajes temporales según la reivindicación 2, en donde el codisolvente orgánico se elige de acetato de etilo, acetona, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, tetrahidrofurano y éter dietílico.
5. Tinta para tatuajes temporales según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el aceite vegetal, el aceite natural o el aceite esencial se selecciona del grupo que consiste en aceites de canola, romero, oliva, coco, maíz, semilla de algodón, palma, cacahuete, cártamo, sésamo, soja, girasol, almendra, anacardo, avellana, macadamia, nuez pecana, pistacho, nuez y acai.
6. Tinta para tatuajes temporales según una de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la goma xantana se proporciona en una fracción de masa de entre 0,1-0,15.
7. Tinta para tatuajes temporales según una de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la tinta para tatuajes temporales comprende glicerol.
8. Tinta para tatuajes temporales según una de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el disolvente es agua y la tinta comprende un aceite vegetal y un codisolvente orgánico, y en donde la tinta contiene el 75-99 por ciento en volumen de agua y el 1-25 por ciento en volumen de aceite vegetal, y el 1-20 % de codisolvente orgánico.
9. Tinta para tatuajes temporales según una de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la tinta para tatuajes temporales está en forma de gel.
10. Tinta para tatuajes temporales según la reivindicación 9, en donde la cantidad de genipina disuelta está en el intervalo de 10 mM a 500 mM.

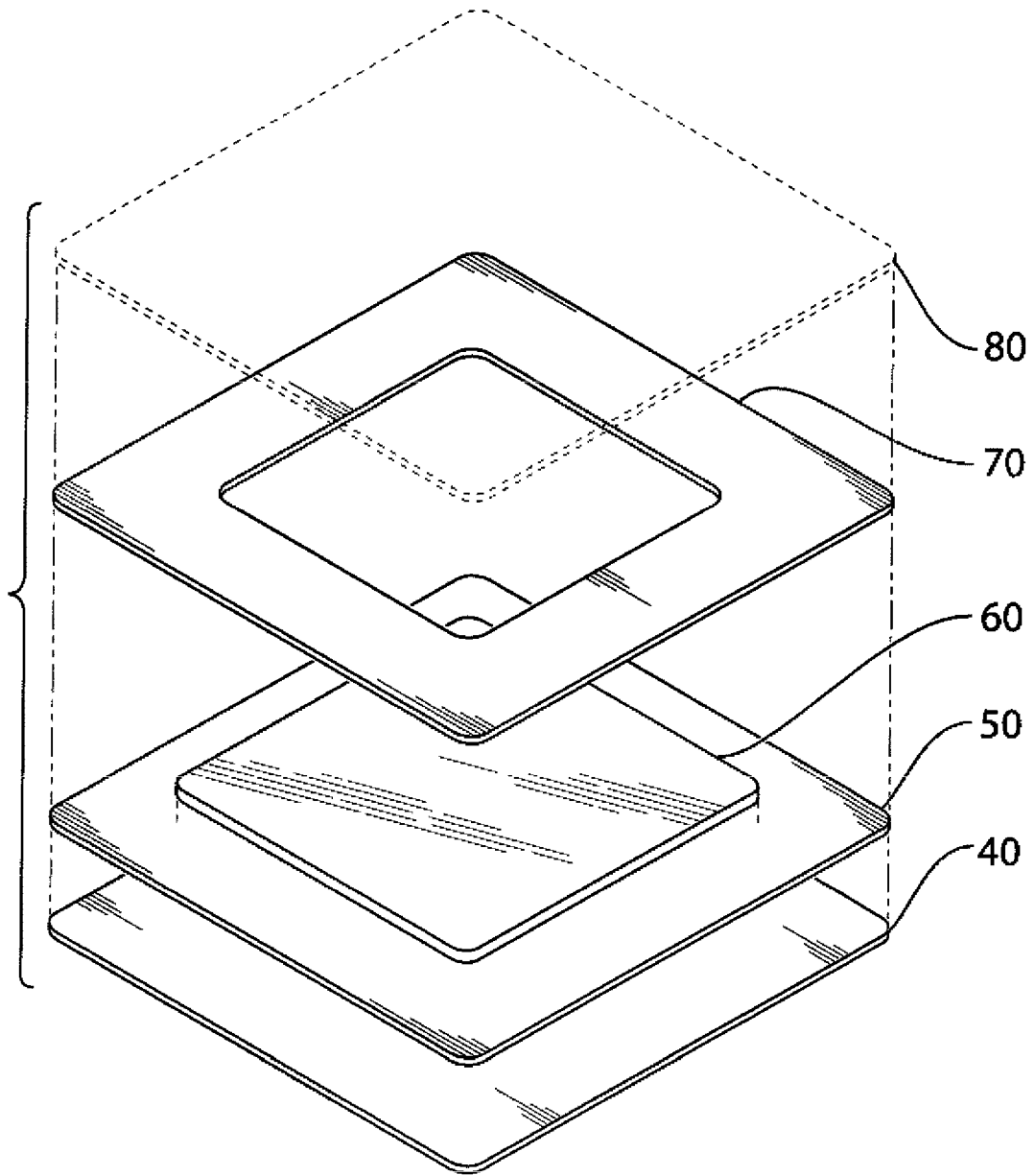


Figura 1

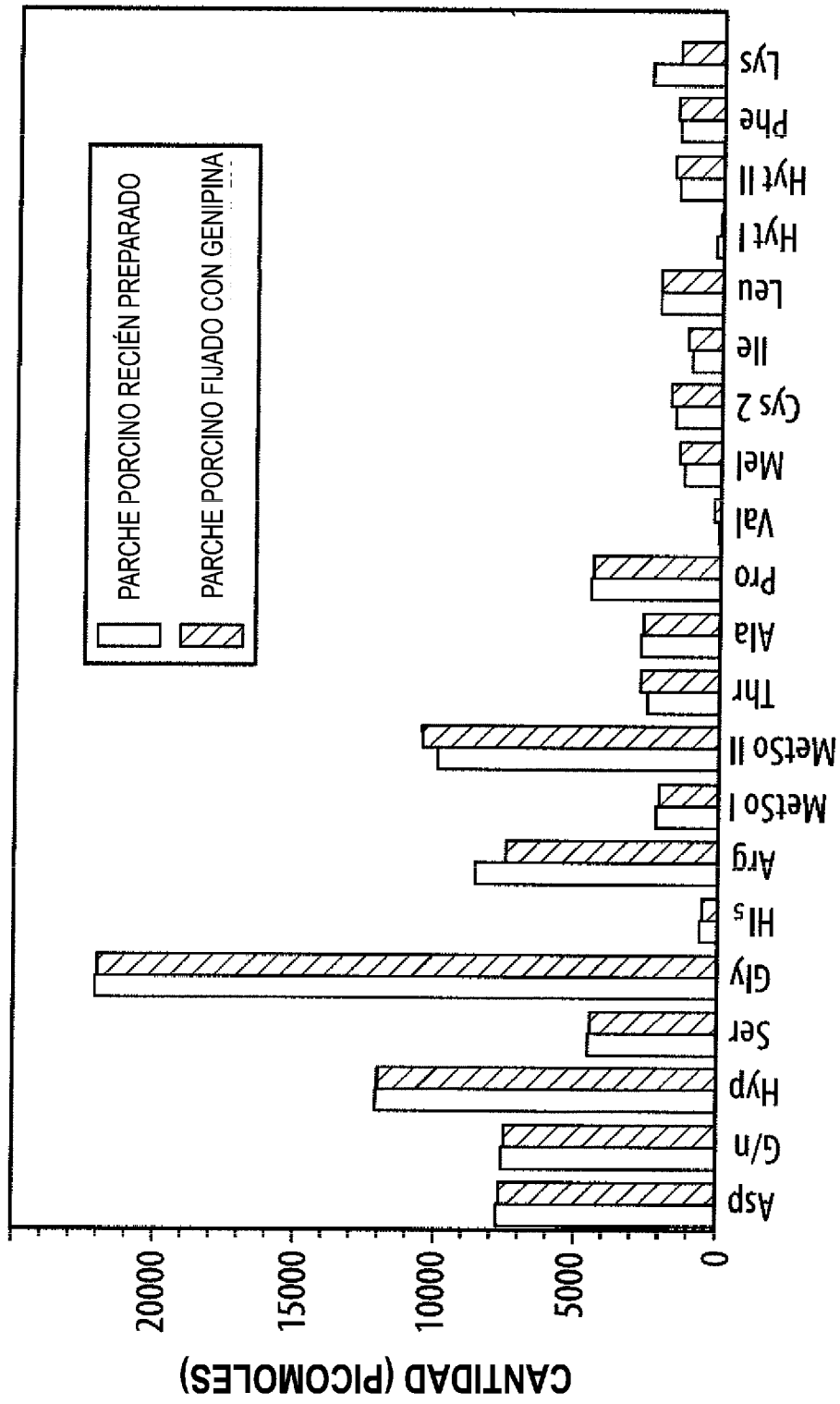


Figura 2

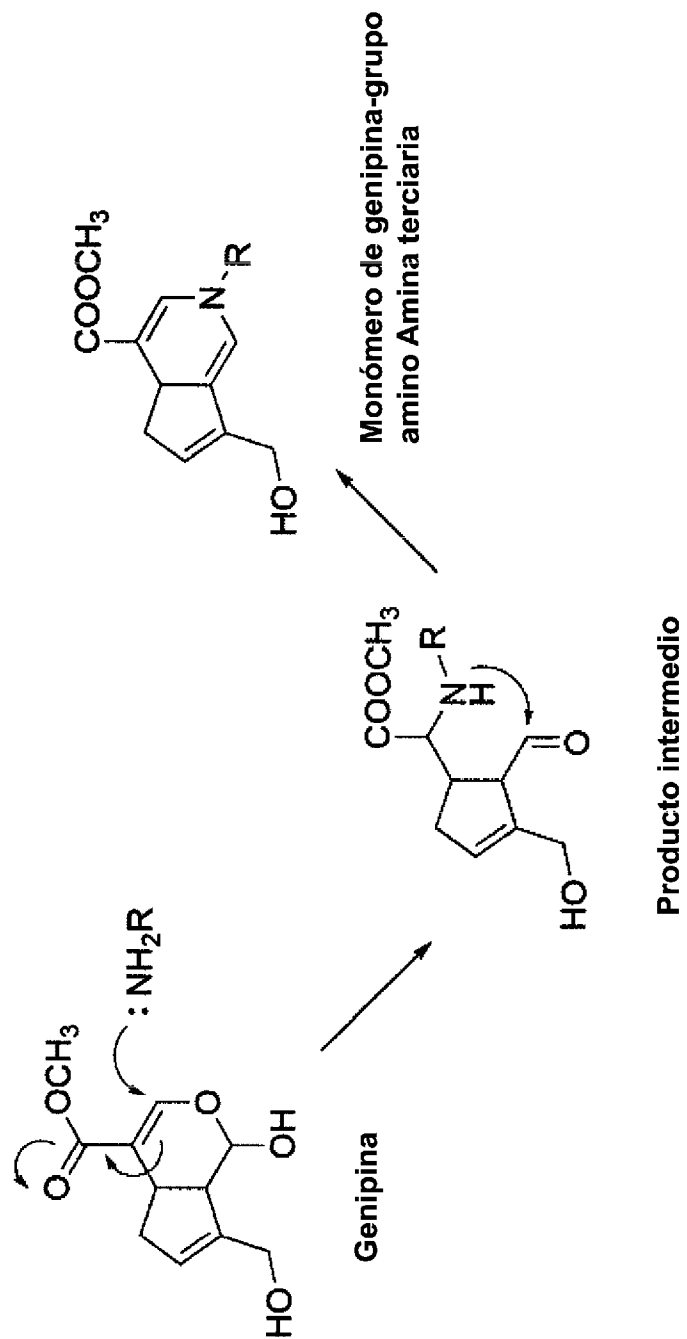


Figura 3

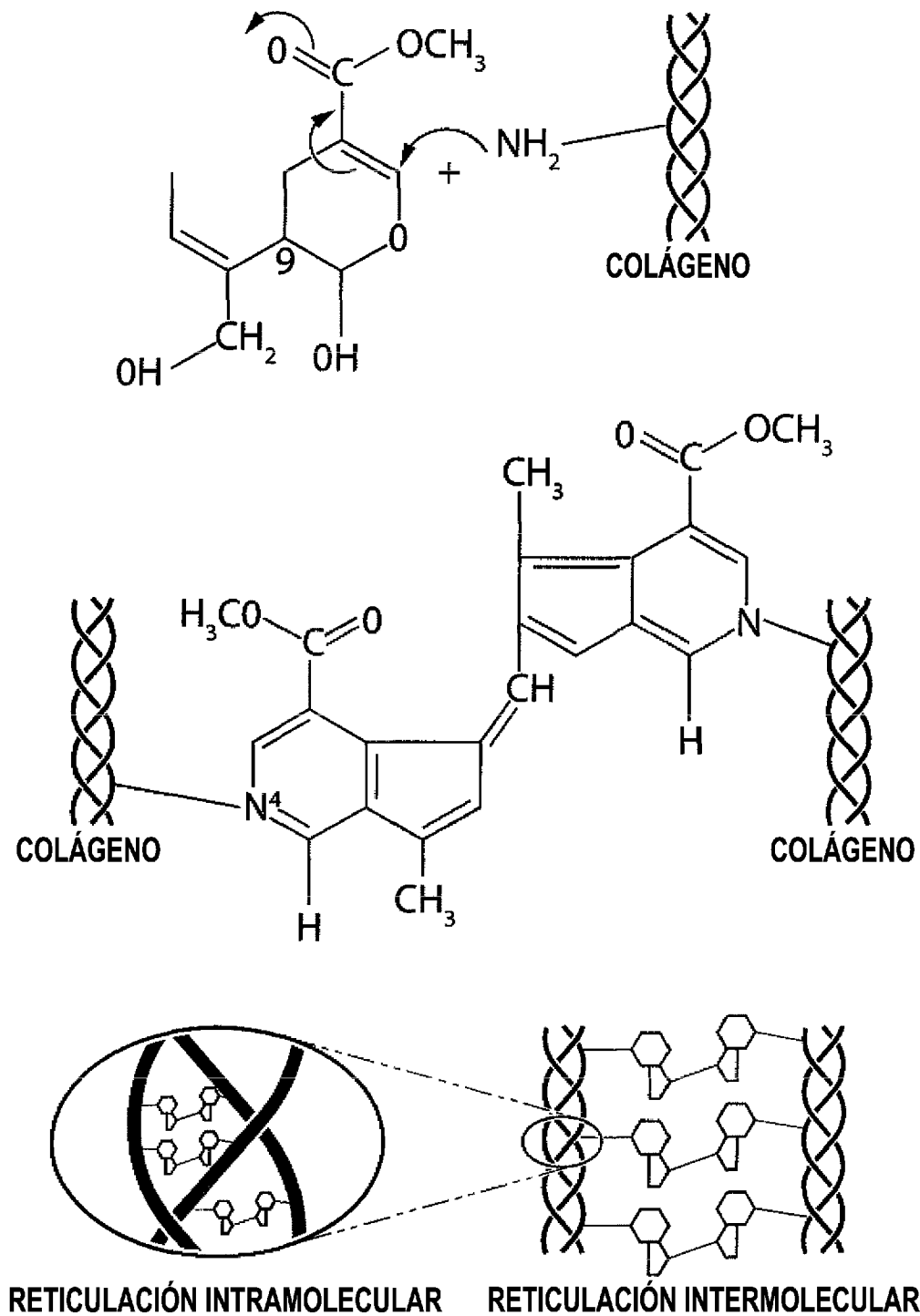


Figura 4

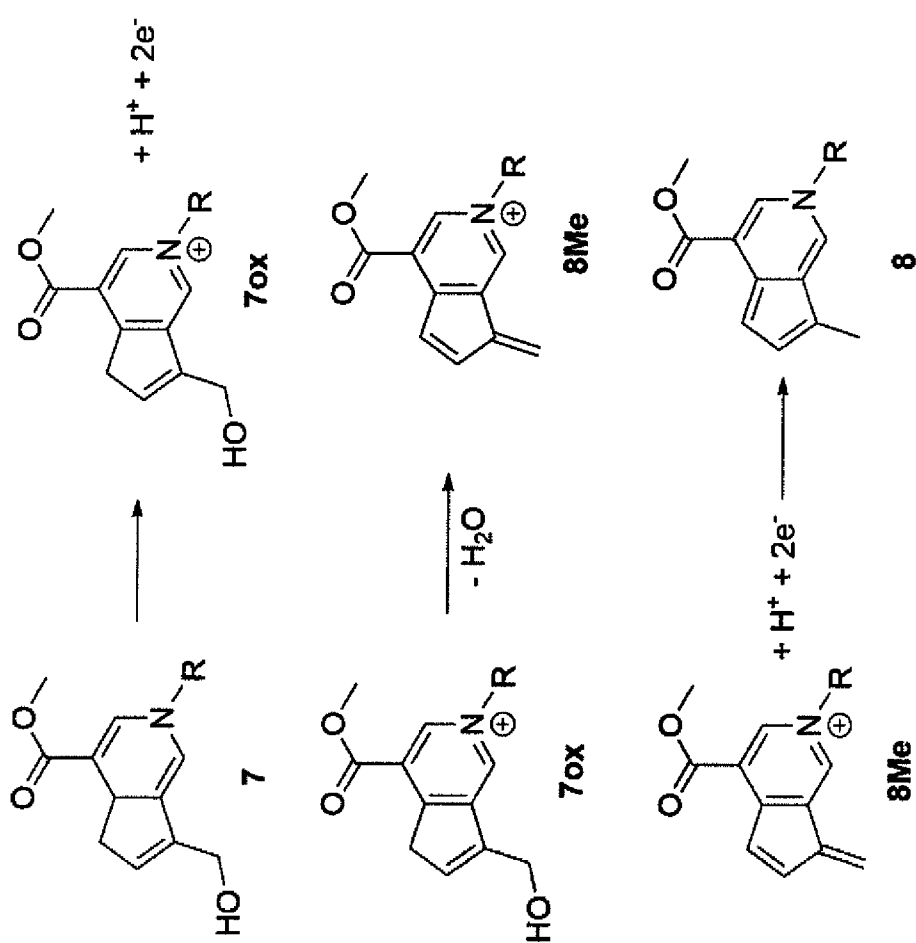


Figura 5

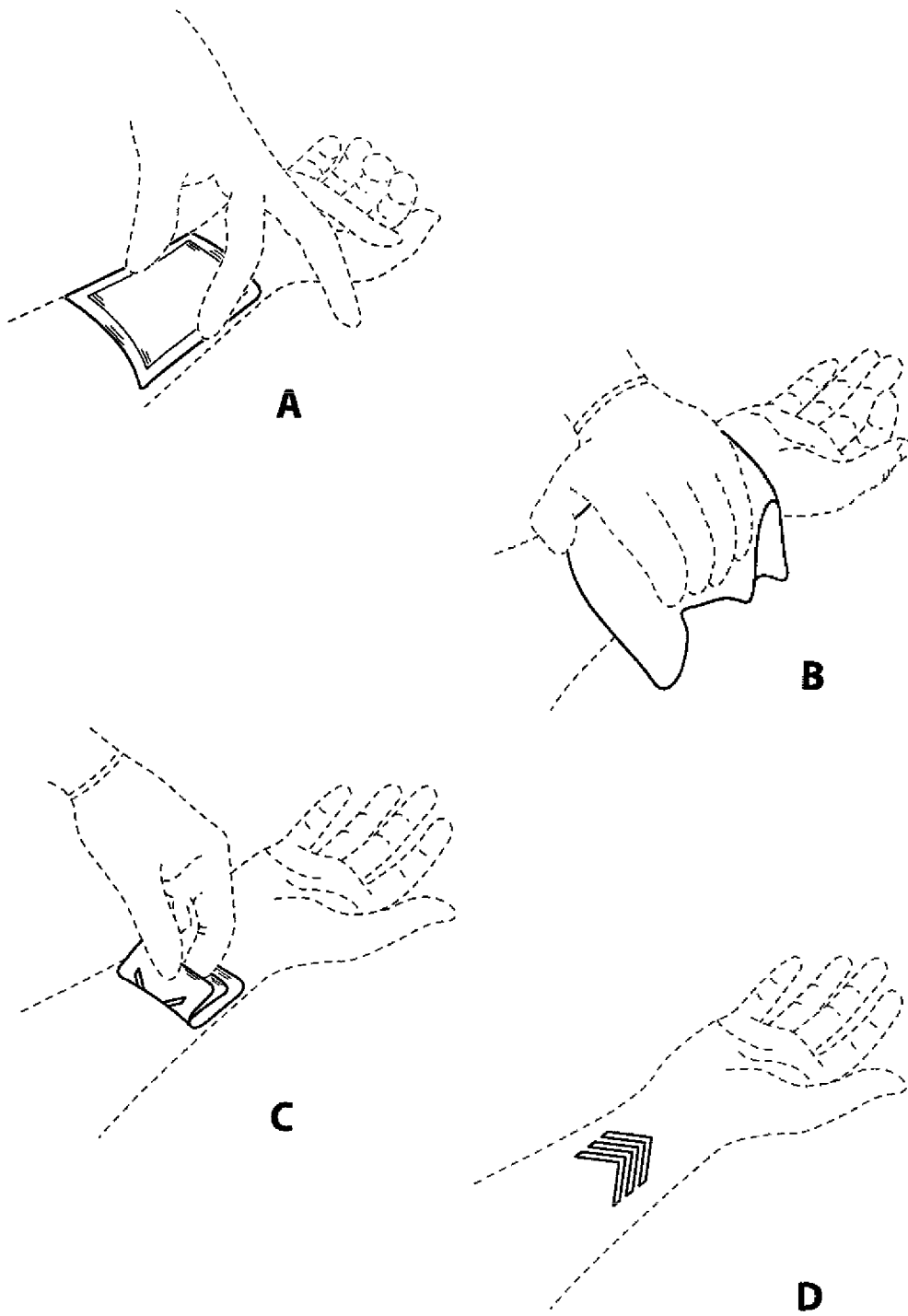


Figura 6