



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 987 751**

⑮ Int. Cl.:

A23K 20/174 (2006.01)
A23L 33/105 (2006.01)
A23L 33/155 (2006.01)
A61K 36/18 (2006.01)
A61P 39/06 (2006.01)
C11B 5/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.06.2021** PCT/FR2021/051011

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **09.12.2021** WO21245362

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2021** E 21737706 (8)

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2024** EP 4161285

⑮ Título: **Formulación de vitamina A**

⑯ Prioridad:

05.06.2020 FR 2005883

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.11.2024

⑯ Titular/es:

ADISSEO FRANCE S.A.S. (100.0%)
Immeuble Antony Parc II10, place du Général de Gaulle
92160 Antony, FR

⑯ Inventor/es:

**ALEMAN, CLAUDE y
HUET, ROBERT**

⑯ Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 987 751 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

Formulación de vitamina A

La invención se refiere a la utilización de una mezcla de ácido carnósico y carnosol como agente antioxidante en formulaciones de ingredientes activos hidrofóbicos y liposolubles.

5 Estas moléculas, como las vitaminas y los ácidos grasos, se emplean ampliamente en numerosos campos técnicos, como las industrias farmacéutica, cosmética y alimentaria, y, en especial, en el campo de la nutrición animal. Por ejemplo, las vitaminas liposolubles A, E y D3 se utilizan comúnmente para la preparación de alimentos que promueven el crecimiento de los animales y, en especial, de los animales de granja.

10 Su naturaleza hidrófoba y su fragilidad ambiental, en especial, la fragilidad térmica y química, tanto durante su formulación y almacenamiento como durante su utilización, hacen que su conservación sea necesaria mediante la integración de agentes protectores y/o mediante una fabricación adecuada, en especial, mediante encapsulación.

15 La presente invención se describe a continuación más particularmente con referencia a la vitamina A, combinada opcionalmente con una o más vitaminas liposolubles tales como las vitaminas E y D3, pero, por supuesto, su alcance no se limita a ella, y se puede aplicar a cualquier sustancia activa hidrofóbica y liposoluble y a cualquier mezcla de tales sustancias.

La vitamina A existe en forma libre, pero también en otras formas, en especial, en estado de éster, siendo las formas más estables y, por tanto, las más utilizadas el acetato de vitamina A, el propionato de vitamina A y el palmitato de vitamina A. En el presente texto, cualquiera de estas formas, en especial, libre o esterificada, se incluirá en el término vitamina A, así como cualquier mezcla de al menos dos de estas formas.

20 Incluso en sus formas más estables, la vitamina A sigue siendo muy sensible a la oxidación provocada por agentes oxidantes como el oxígeno, la temperatura, el agua y la luz, así como a la acción de los ácidos. Por lo tanto, en aplicaciones farmacéuticas o en nutrición animal, se degrada muy rápidamente tan pronto como entra en contacto con las primeras condiciones graves, en especial, ácidas, del sistema digestivo, lo que no la convierte en una forma biodisponible de vitamina A.

25 Para conservar mejor la vitamina A, se sabe desde hace tiempo que la protege de la oxidación al combinarla con un antioxidante. Dicho agente se selecciona generalmente entre 3-terc-butil-4-hidroxianisol (BHA), 2,6-di-terc-butil-4-metil-fenol (BHT), 6-etoxy-1,2-dihidroxi-2,2,4-trimetil-quinoleína (etoxiquinina), 2-terc-tiobutil-1,4-dihidroxibenceno o incluso tocoferol, ácido cítrico o ácido fítico y sus sales de metales alcalinos, o incluso el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y el ácido ascórbico. De estos, el BHT sigue siendo el más empleado debido a su potente eficiencia a bajo coste y su estabilidad a la temperatura. Sin embargo, no está exento de toxicidad y es cada vez más criticado, ya que se sospecha que es un disruptor endocrino, además de ser responsable de las alergias y promover el desarrollo de los tumores existentes.

30 Por lo tanto, la invención tiene como objetivo reemplazar, al menos en parte, o incluso en la totalidad, los antioxidantes derivados de la síntesis química que se utilizan habitualmente, y, en particular, el BHT, por un antioxidante más natural en el sentido de que puede obtenerse por rutas en que se usa menos química, es poco o nada nocivo y está fácilmente disponible.

35 Ya se han iniciado investigaciones en esta dirección, en especial, para la alimentación humana. Por lo tanto, algunas plantas de la familia *Lamiaceae*, conocidas por tener un efecto antioxidante, han sido objeto de trabajo, incluido el romero (cuyo nombre científico es *Rosmarinus officinalis*).

40 Según el documento R. Inatani et al. *Agric. Biol. Chem.* (1983) 47 (3), 521, se determina la actividad antioxidante de varios extractos de hojas de romero. Estos extractos se obtienen utilizando diversos disolventes, n-hexano, diclorometano y etanol y se mide su actividad antioxidante. De los extractos que muestran una fuerte actividad antioxidante, se separan las fracciones, cuya actividad antioxidante se mide. Los compuestos se aislan de las fracciones que tienen la mayor actividad, entre las que el rosmanol y el carnosol tienen el mayor poder antioxidante.

45 El documento N. Nakatani et al. *Agric. Biol. Chem.* (1984) 48 (8), 2081 se refiere al aislamiento de dos isómeros del rosmanol, el epirosmanol y el isorosmanol, a partir de un extracto de romero.

El documento M. Loussouarn et al. *Plant Physiology* (2017) 175, 1381 se refiere a un estudio sobre los mecanismos de acción del ácido carnósico y el carnosol como antioxidantes con respecto a los lípidos de la membrana, *in vitro* e *in vivo*.

50 Este trabajo menciona que, según el método para medir el poder antioxidante y las concentraciones probadas, algunos de los compuestos aislados tienen una actividad similar a la del BHT o el BHA, que incluso puede ser similar o incluso mayor.

- Según el documento CN109452467, se han descrito microcápsulas de vitamina A, cuyo núcleo tiene vitamina A en un contenido que puede alcanzar el 54 % en peso con respecto al peso de la microcápsula, mezcladas con palmitato de ascorbilo, ácido carnósico y colina o derivado y posiblemente un aceite, y la cubierta es a base de gelatina y polisacárido(s). Los autores realizaron pruebas comparativas de envejecimiento con varias microcápsulas que no cumplen con la definición anterior y, en especial, microcápsulas cuyo núcleo no comprende colina ni derivados, y microcápsulas cuyo núcleo no comprende palmitato de ascorbilo, colina o derivados. Los resultados demuestran que la presencia de la combinación de palmitato de ascorbilo, ácido carnósico y colina o derivado es indispensable, aunque no suficiente, para dar a la formulación de vitamina A una estabilidad suficiente para su utilización en alimentación o nutrición animal.
- 5 10 En el documento WO 2016/189345 A1 se describe una composición para fines terapéuticos en especial, que comprende dos aceites vegetales, cada uno presente en un contenido del 35 % al 50 %, (p/p), al menos un fitosterol, del 0,005 % al 0,15 %, (p/p), de al menos vitamina A o vitamina D y del 0,02 % al 0,2 %, (p/p), de un antioxidante que puede ser un extracto de romero y también una mezcla de un extracto de romero, tocoferol y/o palmitato de ascorbilo.
- 15 La invención proporciona una solución que permite superar todos los problemas encontrados por las formulaciones existentes al proporcionar un antioxidante que tiene, en relación con la vitamina A y las vitaminas liposolubles que posiblemente estén asociadas a ella, un efecto protector con respecto a la oxidación que resulta ser muy superior al del BHT o el BHA. Además, es de origen natural. Según la invención, este antioxidante comprende una mezcla de ácido carnósico y carnosol, o consiste en esta mezcla, siendo el contenido de ácido carnósico de dicho agente antioxidante del 50 % al 98 %, en peso, con respecto al peso de dicho agente antioxidante.
- 20 25 Como se demostrará en los ejemplos, el poder antioxidante de estos extractos es similar al del BHT o el BHA en proporciones aún más bajas.
- Por lo tanto, un objeto de la invención es una combinación de al menos vitamina A y un agente antioxidante que comprende una mezcla de ácido carnósico y carnosol, o consiste en esta mezcla, siendo el contenido de ácido carnósico de dicho agente antioxidante del 50 % al 98 %, en peso, con respecto al peso de dicho agente antioxidante.
- 30 35 Según una implementación de la invención, el contenido de carnosol de dicho agente antioxidante es del 2 % al 15 %, en peso, con respecto al peso de dicho agente antioxidante.
- El agente antioxidante de la invención puede consistir en dicha mezcla de ácido carnósico y carnosol y, por lo tanto, reemplazar completamente a cualquier otro agente antioxidante empleado tradicionalmente. En esta variante, se ha observado que puede ser eficaz en una concentración con respecto a la vitamina A muy inferior a la de los antioxidantes habituales como el BHT. Sorprendentemente, se ha descubierto que ciertos vehículos potencian su efecto antioxidante, este es el caso de ciertos aceites, preferiblemente aceites comestibles como el aceite de girasol. Por tanto, la mezcla de ácido carnósico y carnosol puede estar en forma de polvo o en un vehículo tal como aceite comestible.
- 40 45 El agente antioxidante de la invención también puede comprender dicha mezcla de ácido carnósico y carnosol. Por lo tanto, además de esta mezcla, puede comprender cualquier otro agente antioxidante de la lista mencionada previamente, tal como BHT, BHA, EDTA y ácido ascórbico, o cualquier compuesto que demuestre ser antioxidante con respecto a la vitamina A. De hecho, se ha observado que la incorporación de compuestos naturales tales como polifenoles, o de extractos naturales, en especial, ricos en polifenoles, y, en particular, de un extracto de té verde, de extracto de semilla de uva o de una mezcla de estos, actúa favorablemente sobre el poder antioxidante de dicha mezcla.
- 50 55 Una combinación puede comprender vitamina A como único ingrediente activo liposoluble, pero también puede comprender, además de la vitamina A, una o más vitaminas liposolubles como la vitamina E y la vitamina D3.
- Como se indicó previamente, el antioxidante es accesible a partir de fuentes vegetales. La mezcla anteriormente mencionada de ácido carnósico y carnosol puede estar efectivamente presente en forma de un extracto de *Lamiaceae* y preferiblemente un extracto de romero, salvia o menta.
- Por extracto de romero, salvia o menta, se entiende un extracto obtenido mediante al menos una etapa de extracción; también se entiende que el extracto se ha sometido a uno o más tratamientos complementarios que dan como resultado la concentración de dicho extracto en ciertos compuestos y, en especial, en ácido carnósico y/o en carnosol. Los extractos de romero, salvia o menta pueden ser extractos alcohólicos o hidroalcohólicos o extractos de CO₂ supercríticos de hojas de romero, salvia o menta, según técnicas habituales bien conocidas por los expertos en la materia. También se comercializan extractos que corresponden a las características de la invención. Ventajosamente, según la invención, se recurre a extractos de romero.
- El extracto de *Lamiaceae* puede estar en forma de polvo o en un vehículo tal como un aceite comestible.
- Según una implementación de la invención, el contenido de vitamina A, y opcionalmente de al menos una de las vitaminas E y D3, en la combinación es del 75 % al 99 %, en peso, con respecto al peso de la combinación.
- La invención también se refiere a una formulación de vitamina A que comprende al menos una combinación tal como se ha definido previamente, un azúcar y un agente gelificante.

Para una implementación beneficiosa de la invención, dicha formulación comprende preferiblemente del 30 % al 35 %, en peso, de vitamina A y opcionalmente de al menos una de las vitaminas E y D3, del 1 % al 10 %, en peso, de dicho agente antioxidante, del 25 % al 30 %, en peso, de un azúcar y del 23 % al 28 %, en peso, de un agente gelificante, expresándose los porcentajes en peso con respecto al peso de la formulación.

5 Una formulación de la invención puede comprender uno o más aditivos seleccionados entre aceites comestibles, agentes reticulantes, agentes antiaglomerantes y surfactantes.

Una formulación de la invención puede estar en forma de polvo, por ejemplo, cuyo tamaño de partícula es preferiblemente del orden de 250 µm a 350 µm, en forma de microperlas.

10 Se ha observado inesperadamente que, además de su poder antioxidante, la mezcla de ácido carnósico y carnosol tiene un poder quelante que luego es capaz de reforzar la protección de la vitamina A contra los cationes perjudiciales que estarían presentes en los ingredientes de la formulación. Esta es una ventaja adicional en comparación con los antioxidantes habituales, especialmente el BHT.

15 Como se presentará con mayor detalle a continuación, una formulación de la invención puede obtenerse mediante doble emulsión o mediante atomización de una emulsión; dicha emulsión comprende preferiblemente al menos del 10 % al 22 %, en peso, de vitamina A y opcionalmente al menos una de las vitaminas E y D3, del 0,5 % al 5 %, en peso, de un agente antioxidante de la invención, del 13 % al 20 %, en peso, de dicho azúcar y del 12 % al 18 %, en peso, de dicho agente gelificante.

Las formulaciones de vitamina A de la invención pueden prepararse mediante procedimientos conocidos tales como los descritos en los documentos EP285682A o WO2011/070300A.

20 Como se detalla en el documento EP285682A, se prepara una emulsión que contiene vitamina A, agua, un antioxidante, gelatina y un azúcar, que se transforma en gotitas mediante pulverización. Estas gotitas se ponen entonces en contacto individualmente con un polvo de celulosa que tiene características bien definidas hasta que las gotitas se endurecen. Las gotitas endurecidas de esta manera se separan entonces del polvo de celulosa mediante tamizado. Las gotitas recuperadas se secan después y, luego, se someten a una operación de calentamiento para garantizar la reticulación de la gelatina mediante la reacción de los grupos amino de la gelatina con las funciones reductoras del azúcar.

25 También es posible fabricar una formulación según el procedimiento descrito en el documento WO2011/070300A según las siguientes etapas:

30 se prepara una emulsión de aceite en agua que comprende, como porcentaje en peso con respecto al peso total de dicha emulsión:

del 8 % al 20 % de al menos una proteína, preferiblemente del 10 % al 15 %,

del 5 % al 15 % de al menos un azúcar, preferiblemente del 8 % al 12 %,

del 0,5 % al 3 % de al menos una sal inorgánica, preferiblemente del 2 % al 3 %,

del 0,68 % al 5 % de un antioxidante de la invención,

35 del 10 % al 22 % de al menos un ingrediente activo liposoluble y, en particular, vitamina A en forma oleosa y/o disuelta en aceite alimentario, preferiblemente del 15 % al 20 %,

q. s. , %, de agua.

las partículas se forman en forma sustancialmente esférica dispersando la emulsión de aceite en agua obtenida al final de la etapa a) en un fluido,

40 se añade al menos un agente para reticular la proteína a la dispersión,

los ingredientes activos se recuperan en forma sustancialmente esférica.

Según las implementaciones particulares de este procedimiento:

las proteínas se seleccionan entre gelatina, caseína o caseinato, proteínas de soja o maíz;

45 los azúcares se seleccionan entre polioles, monosacáridos, disacáridos, jarabes de glucosa y fructosa y maltodextrinas;

las sales inorgánicas se seleccionan entre sales de sodio, potasio, litio de ácido mono-, di- y trifosfórico o sales de ácido polifosfórico, preferiblemente Na₂HPO₄.

Este procedimiento de preparación también puede comprender una etapa previa durante la cual la vitamina A se disuelve en aceite alimentario tal como aceite de cacahuate, aceite de girasol, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de soja, aceite de palma o aceite de hígado de bacalao.

5 La invención también se refiere a un alimento o forraje para la nutrición animal que comprende una formulación de vitamina A como la descrita anteriormente en cualquiera de sus variantes.

10 La invención también se refiere a la utilización de una mezcla de ácido carnósico y carnosol como un agente antioxidante o en un agente antioxidante en una formulación de vitamina A y, opcionalmente, al menos una de las vitaminas E y D3. Preferiblemente, el contenido de ácido carnósico de dicho agente antioxidante es del 50 % al 98 %, e incluso más preferiblemente, el contenido de carnosol de dicho agente antioxidante es del 2 % al 15 %, en peso, con respecto al peso de dicho agente antioxidante.

La invención se ilustra a continuación en los siguientes ejemplos, que describen en detalle ciertas implementaciones y demuestran sus prestaciones.

Ejemplos

15 Los métodos para medir el poder antioxidante utilizados en los ejemplos de mezclas de antioxidantes y vitamina A (en forma de acetato de vitamina A) se indican en adelante.

1) Prueba de oxidación dinámica DSC (calorímetro diferencial de barrido).

Se lleva a cabo bajo un flujo de oxígeno (50 ml/min) y, luego, la temperatura se eleva a una temperatura superior al punto de fusión de la vitamina A (es decir, superior a 60 °C).

20 La oxidación corresponde a un fenómeno exotérmico que se produce a una temperatura determinada. En el caso del BHT, se produce a 153 °C. Cuanto mayor sea la temperatura de oxidación, mayor será el poder antioxidante.

Todas las muestras con una temperatura mayor o igual que 120 °C se conservarán durante una prueba de Oxipres mucho más prolongada.

2) Prueba de Oxipres:

25 Esta prueba consiste en poner las muestras bajo presión de Oz a una temperatura determinada. El método permite determinar la cinética del consumo de oxígeno, expresada por una variación en Oz (ΔP en bares), siendo esta variación tanto menor cuanto mayor es el poder antioxidante.

Ejemplo 1: Preparación de las muestras que hay que probar

Las muestras 2-6 se preparan mezclando acetato de vitamina A y un antioxidante presente en la combinación en un contenido del 20 % en peso.

30 Después, se prueban según los modelos de evaluación descritos anteriormente, junto con una muestra 1 de acetato de vitamina A (sin antioxidante).

Ejemplo 2: Resultados de las pruebas DSC (1) y Oxipres en mezclas binarias

Los resultados de las pruebas en las muestras 1-6 se presentan en la siguiente tabla. La mezcla de ácido carnósico/carnosol se abrevia AC/c.

35

[Tabla 1]

Muestra n.º	Antioxidante	Inicio de DSC DYN (°C)	Oxipres, tiempo (h), ΔP [kPa (bares)]
1	Ninguno	60 °C	0 (0)
			500 (5,0)
2	BHT	153,60	>1,68x10 ⁴ (168) $\Delta P = 1,8$
3	α -tocoferol	127,00	>1,68x10 ⁴ (168)

Muestra n.º	Antioxidante	Inicio de DSC DYN (°C)	Oxipres, tiempo (h), ΔP [kPa (bares)]
			ΔP = 2,25
4	Extracto de té verde AC/c + extracto de semilla de uva*	130,00	>1,68x10 ⁴ (168) ΔP = 1,2
5	AC 85 % / c 15 % en forma de extracto de romero	132,00	>1,68x10 ⁴ (168) ΔP = 1,2
6	AC 85 % / c 15 % en aceite de girasol (4 %)	143,00	

* La mezcla de extracto de té verde AC/c + extracto de semilla de uva la comercializa LAYN con la referencia TruGro@11136-19080504.

Se observa que el poder de los antioxidantes en las muestras 4 a 6 que ilustran la invención es siempre mayor que el del α -tocoferol en las dos pruebas de evaluación, y es similar o incluso mayor en la prueba de evaluación de Oxipres que el del BHT. También se observa que esta potencia se expresa en contenidos muy bajos de la mezcla AC/c; el resultado de la muestra 6 es particularmente interesante.

REIVINDICACIONES

1. Combinación de al menos vitamina A y un agente antioxidante que comprende una mezcla de ácido carnósico y carnosol, o consiste en dicha mezcla, siendo el contenido de ácido carnósico de dicho agente antioxidante del 50 % al 98 %, en peso, con respecto al peso de dicho agente antioxidante.
- 5 2. Combinación según la reivindicación 1, caracterizada por que el contenido de carnosol de dicho agente antioxidante es del 2 % al 15 %, en peso, con respecto al peso de dicho agente antioxidante.
3. Combinación según la reivindicación 1 o 2, caracterizada por que el antioxidante también comprende al menos uno de los ácidos BHT, BHA, EDTA y ácido ascórbico.
- 10 4. Combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que el antioxidante también comprende polifenoles, tales como polifenoles naturales y, en especial, un extracto de té verde o un extracto de semilla de uva o una mezcla de dichos extractos.
5. Combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, vitamina A y al menos una vitamina seleccionada entre la vitamina E y la vitamina D3.
- 15 6. Combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que la mezcla de ácido carnósico y carnosol está presente en forma de un extracto de *Lamiaceae* y preferiblemente un extracto de romero, salvia o menta.
7. Combinación según la reivindicación 6, caracterizada por que el extracto de romero se selecciona entre extractos alcohólicos o hidroalcohólicos y extractos de CO₂ supercríticos de hojas de romero.
- 20 8. Combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada por que dicha mezcla o dicho extracto de *Lamiaceae* está en forma de polvo o en un vehículo tal como un aceite comestible.
9. Combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizada por que el contenido de vitamina A, y opcionalmente al menos una de las vitaminas E y D3, es del 75 % al 99 %, en peso, con respecto al peso de la combinación.
- 25 10. Formulación de al menos vitamina A que comprende al menos una combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, un azúcar y un agente gelificante.
11. Formulación según la reivindicación 10, caracterizada por que comprende del 30 % al 35 %, en peso, de vitamina A y opcionalmente al menos una de las vitaminas E y D3, del 1 % al 10 %, en peso, de dicho agente antioxidante, del 25 % al 30 %, en peso, de un azúcar y del 23 % al 28 %, en peso, de un agente gelificante.
- 30 12. Formulación según la reivindicación 10 u 11, caracterizada por que comprende uno o más aditivos seleccionados entre aceites comestibles, agentes reticulantes, agentes antiaglomerantes y surfactantes.
13. Formulación según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, caracterizada por que se obtiene por doble emulsión o atomización de una emulsión que comprende al menos del 10 % al 22 %, en peso, de vitamina A y opcionalmente al menos una de vitamina E y vitamina D3, del 0,5 % al 5 %, en peso, de dicho agente antioxidante, del 13 % al 20 %, en peso, de dicho azúcar y del 12 % al 18 %, en peso, de dicho agente gelificante.
- 35 14. Formulación según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, en forma de polvo.
15. Alimento o forraje para la nutrición animal que comprende una formulación de vitamina A según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14.
16. Utilización de una mezcla de ácido carnósico y carnosol como un agente antioxidante, o en un agente antioxidante, en una formulación de vitamina A y, opcionalmente, al menos una de las vitaminas E y D3.