

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 988 519**

51 Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)
A61K 31/56 (2006.01)
A23P 10/30 (2006.01)
A23L 33/11 (2006.01)
A23L 33/12 (2006.01)
A61P 3/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.04.2016** **PCT/EP2016/058683**
87 Fecha y número de publicación internacional: **27.10.2016** **WO16169941**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.04.2016** **E 16717375 (6)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2024** **EP 3285749**

54 Título: **Cápsula de gel que contiene esteroles y solubilizante**

30 Prioridad:

23.04.2015 EP 15164868
28.04.2015 EP 15165398

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.11.2024

73 Titular/es:

BASF SE (100.0%)
Carl-Bosch-Strasse 38
67056 Ludwigshafen am Rhein, DE

72 Inventor/es:

GIERKE, JUERGEN;
WEIDNER, MARTIN;
HEER, MARIANNE;
SCHMELLER, THORSTEN;
HELGASON, THRANDUR;
BOHN, HERIBERT y
WEILAND, ANJA

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 988 519 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

Cápsula de gel que contiene esteroles y solubilizante

La presente invención se refiere a cápsulas de gel que contienen éster de esteroles/estanol y solubilizante para su uso como suplemento dietético o como producto farmacéutico.

5 Las cápsulas de gel como tales son conocidas: existen las llamadas cápsulas duras y las cápsulas blandas. Su fabricación, los materiales utilizados y su producción son bien conocidos por los expertos en la materia. También es conocido el uso de cápsulas de gel que contienen esteroides como suplemento dietético o como producto farmacéutico.

10 Dado que los esteroides son muy poco solubles en agua, generalmente se utiliza un aceite como disolvente. Los ésteres de esteroides son más solubles, pero también suelen estar presentes disueltos en aceite o en una sustancia grasa.

15 Dado que los esteroides y ésteres de esteroides se utilizan por tanto en formulaciones oleosas, una proporción significativa de la formulación es un aceite. Sin embargo, la cantidad de formulación que puede suministrarse por unidad de dosificación, es decir, una cápsula de gel, es limitada debido al tamaño máximo aceptable de la cápsula de gel. Si sólo una parte de esta formulación es utilizada por el aceite, la cantidad de esteroles o éster de esteroles que puede añadirse es aún más limitada. A fin de proporcionar la cantidad diaria recomendada de esteroles libre de 2 a 3 g por día y por adulto, el objetivo es suministrar el menor número posible de cápsulas de gel al día, por lo que las cápsulas de gel también deben ser lo más pequeñas posible; esto aumenta el cumplimiento, es decir, la adherencia del paciente a la dosis correcta, y por lo tanto mejora la eficacia general del tratamiento. Además, mejora la aceptación de los complementos alimenticios por parte del usuario y, en última instancia, también la eficacia de la intervención.

20 Para mejorar la eficacia de la formulación del éster de esteroles, los ésteres de esteroles y los demás ingredientes deben formar una emulsión finamente dividida, incluso a bajas velocidades de cizallamiento y pH en el estómago. Esto se consigue en la industria farmacéutica con formulaciones farmacéuticas que utilizan sistemas autoemulsionantes. Sin embargo, se utilizan grandes cantidades de sustancias diluyentes y emulsionantes. Del mismo modo, las autoridades reguladoras aprueban un gran número de emulsionantes para las formulaciones farmacéuticas, por lo que adaptar la formulación para conseguir un sistema autoemulsionante es relativamente más fácil que en el caso de los productos alimenticios. Además, las cantidades de sustancia farmacéuticamente activa que deben administrarse en estos sistemas autoemulsionables suelen ser significativamente menores por dosis que en el caso de las sustancias del sector alimentario.

30 Cuando los ésteres de esteroles se administran por dosis, las cantidades oscilan entre 1 y 3 gramos por dosis, por lo que la cantidad total de formulación a dosificar ya es muy grande si la dosis se va a formular en forma de cápsula. Dado que el número de emulgentes y tensioactivos en el sector alimentario es muy limitado desde el punto de vista normativo y que, por tanto, la gama de propiedades de los emulgentes disponibles también es muy limitada en comparación con las aplicaciones farmacéuticas, conseguir un sistema autoemulsionable con pequeñas cantidades de emulgentes y tensioactivos aprobados para uso alimentario supone un reto mucho mayor. El bajo valor del pH en el estómago reduce la actividad de los tensioactivos aniónicos por neutralización. Por lo tanto, actualmente no se dispone de una formulación eficaz de ésteres de esteroles en cápsulas que permita una dosis única o como máximo doble (es decir, la administración de una o como máximo dos cápsulas al día) para suministrar la cantidad diaria de esteroles en forma de ésteres de esteroles.

Por lo tanto, es deseable mejorar la formulación de esteroides y ésteres de esteroides en cápsulas de gel hasta tal punto que la proporción en peso de esteroles con respecto al esteroles libre en dicha formulación sea máxima para una cápsula de gel.

Se sabe que los esteroides son fitoesteroides, es decir, esteroides obtenidos a partir de plantas.

45 Los ésteres de esteroles son en principio todos los ésteres con todos los ácidos carboxílicos concebibles. Sin embargo, normalmente sólo los ésteres con ácidos grasos son de interés en el sector alimentario y sanitario.

50 Los ésteres esteroides de ácidos grasos pueden producirse según los conocimientos conocidos; el procedimiento más utilizado es la producción a partir de esteroides y ácidos grasos por esterificación. La conversión y, por tanto, también el grado de pureza de los ésteres de esteroles pueden controlarse casi a voluntad mediante la reacción. El objetivo suele ser lograr al menos un 80% de rendimiento al éster de esteroles; se conocen y son técnicamente viables rendimientos de hasta casi el 100%. También se puede conseguir una mayor pureza mediante purificaciones como la cristalización, acondicionamiento para invierno, etc. Todos estos procedimientos son bien conocidos.

55 Se han encontrado formulaciones para cápsulas de gel que contienen esencialmente éster de esteroles/estanol y emulsionante (también denominado solubilizante) según la reivindicación 1, y cápsulas de gel que contienen estas formulaciones según la reivindicación 5, así como procesos para su preparación según la reivindicación 7.

"Esencialmente" significa que la proporción total de la formulación es de al menos el 61% en peso.

"Solubilizante" en el contexto de la presente invención se refiere generalmente a sustancias que tienen un efecto emulsionante y/o estabilizante, y también se denominan "emulsionante" o "tensioactivo" en el contexto de la presente invención, seleccionándose como solubilizantes en las formulaciones según la invención las combinaciones de lecitina y polisorbato 80, lecitina y ésteres de azúcar con ácidos grasos, o lecitina y ésteres ascórbicos de ácidos grasos.

En principio, cualquier éster de esteroles de cualquier esteroles puede utilizarse como éster de esteroles. Se utilizan preferentemente esteroides de origen vegetal ("fitosteroides"), bien conocidos por los expertos. En el contexto de la presente invención, los términos "esteroides" y "fitosteroides" también incluyen sus análogos hidrogenados, los "estanoles", a menos que se describa explícitamente lo contrario.

Particularmente preferentes son los esteroides (no hidrogenados posteriormente).

Los esteroides y estanoles, en particular los esteroides, se esterifican preferentemente con ácidos grasos. En principio, cualquier ácido graso puede utilizarse como tal. Se prefieren los ácidos grasos obtenidos a partir de fuentes naturales, en particular los de origen vegetal y marino, o los ácidos grasos correspondientes a éstos pero producidos sintéticamente. Se favorecen especialmente los ácidos grasos de origen vegetal o marino. Los ácidos grasos pueden utilizarse como sustancia pura o como sustancia que contiene predominantemente uno o unos pocos ácidos grasos, o también como mezcla de muchos ácidos grasos diferentes.

Se da preferencia a los ácidos grasos que tienen beneficios adicionales para la salud. Tales ácidos grasos con beneficios adicionales para la salud son, en particular, los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, como los ácidos grasos omega-3, EPA y DHA; todos estos ácidos grasos, su producción, extracción y purificación son bien conocidos por los expertos en la materia.

Los ésteres de esteroles en el sentido de la presente invención también pueden contener esteroides libres, es decir, no esterificados. Las mezclas de ésteres de esteroles y esteroides libres se utilizan como ésteres de esteroles, en los que el contenido de éster de esteroles es preferentemente al menos del 80, particularmente preferentemente al menos del 90, muy particularmente preferentemente al menos del 95 y en particular al menos del 98 por ciento molar (basado en el contenido de esteroles en el éster) y puede ser cualquier valor entre estos intervalos y hasta el 100 por ciento.

Por consiguiente, las formulaciones para cápsulas de gel según la invención y las cápsulas de gel que contienen estas formulaciones contienen preferentemente ésteres de esteroides, en particular ésteres de esteroides con ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados, particularmente preferentemente poliinsaturados, de origen preferentemente vegetal o marino, al menos un solubilizante seleccionado preferentemente entre polisorbatos tales como polisorbato 20, 40, 60 y 80, lecitinas y estearoil-2-lactilatos de sodio, particularmente seleccionado preferentemente entre polisorbato 80 (monooleato de polioxietileno (20)-sorbitán, E433), lecitina y estearoil-2-lactilato de sodio con un grado de esterificación de 100 a 140, más preferentemente polisorbato 80 y/o lecitina. En particular, se utilizan preferentemente al menos dos emulsionantes diferentes.

Lecitina en el contexto de la presente invención significa una composición que comprende una proporción de lecitina obtenida preferentemente de fuentes naturales de cualquier fuente vegetal o animal. Tales fuentes y la extracción de lecitinas a partir de ellas son bien conocidas por los expertos, por ejemplo a partir de huevos, soja, girasol y colza. La lecitina en el contexto de la presente invención es preferentemente una mezcla que comprende fracciones de lecitina, lisolecitina (como lecitina hidrolizada, lecitina tratada enzimáticamente) y/o fosfolípidos, obtenidos de cualquier fuente vegetal y/o animal, preferentemente fuentes vegetales como colza, girasol y/o soja, particularmente preferente tal mezcla obtenida de habas de soja, más preferentemente una mezcla que contenga al menos un 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 o 75 por ciento o más de fosfatidilcolina y al menos un 3, 4, 5, 6 o 7 por ciento de fosfatidiletanolamina -la cantidad total en cada caso es del 100 por ciento-, por ejemplo los productos comerciales de la gama Lecico, como las lecitinas de soja Lecico F 600, Lecico F 580, Lecico F300, Lecico F 200, Lecico F 100, Lecico P900, Lecico P 700, Lecico P 300, las lecitinas de girasol Lecico SUN 400, Lecico SUN FM 580, la lecitina de colza Lecico RAP 200, las series de lipoides y fosfolípidos, como Lipoid P45, Lipoid P75, Lipoid P75-3, Lipoid P100, Lipoid H100, Lipoid R100, Lipoid P100-3, Lipoid S45, Lipoid S75, Phospholidon 80H, Fosfolidona 90H, fosfolidona 90G, preferentemente en cada caso con al menos un 60, 65, 70 o 75, 80, 85, 90, 95 o más por ciento de fosfatidilcolina, como en particular lipoides P75, lipoides S75, lipoides P75-3, lipoides P100-3, fosfolidona 80H, fosfolidona 90H, fosfolidona 90G, más preferentemente aquellos con un contenido de fosfatidilcolina de aproximadamente 65 a 75, en particular de aproximadamente 70 por ciento.

Las formulaciones para cápsulas de gel y las cápsulas de gel que contienen estas formulaciones pueden además contener agua, alcoholes o mezclas de los mismos. Preferentemente, las formulaciones que contienen lecitina como solubilizante también contienen agua y/o alcoholes, de forma especialmente preferente predominante o totalmente predominante los alcoholes. "Mayoritariamente" significa que los alcoholes aún pueden contener cantidades residuales de agua. Estas cantidades residuales son preferentemente inferiores al 5, menos del 4, menos del 3, menos del 2, menos del 1 o incluso menos del 0,5 por ciento en peso del alcohol.

En otra realización, las formulaciones para las cápsulas de gel que comprenden lecitina como solubilizante comprenden aceites, en particular aceites vegetales como el aceite de girasol. Sin embargo, las cantidades de aceite son preferentemente pequeñas en comparación con la cantidad de éster de esteroles y sólo son lo suficientemente grandes como para conseguir una solución uniforme del éster de esteroles y la lecitina.

- 5 Otros ingredientes son posibles para las formulaciones según la invención, pero reducen la cantidad de esteroles formulable. Por lo tanto, sólo se prefieren los aditivos necesarios para la formulación, por ejemplo, estabilizadores para los ésteres de esteroles, como antioxidantes, así como ésteres de azúcar, como mono-, di- y tri-ésteres de ácidos grasos y azúcares, preferentemente sacarosa, preferentemente monoésteres de ácido palmítico y sacarosa, monoésteres de ácido esteárico y sacarosa y/o monoésteres de ácido oleico y sacarosa. Los antioxidantes comunes y adecuados son bien conocidos por los expertos en la materia. Por lo tanto, las formulaciones anteriores para cápsulas de gel según la invención y las cápsulas de gel que contienen estas formulaciones contienen preferentemente pequeñas cantidades de antioxidantes, seleccionados preferentemente entre antioxidantes fenólicos con impedimentos estéricos como t-butilhidroxitolueno, t-butilhidroxianisol, t-butilhidroxiquinona; tocoferoles como alfa, beta, gamma y delta tocoferol o mezclas que contienen al menos dos de estos tocoferoles; tocotrienoles alfa, beta, gamma y delta o mezclas que contengan al menos dos de estos tocotrienoles; extractos de productos naturales que contengan al menos una de las sustancias mencionadas y/o diterpenos fenólicos como carnosol, ácido carnosólico, polifenoles como galato de epigallocatequina, ácido tánico y/o isoflavonas; en particular los tocoferoles, el ácido ascórbico o el ácido isoascórbico o sus derivados adecuados, como los ésteres con ácidos grasos, como el palmitato de ascorbilo y el estearato de ascorbilo. Se prefieren los tocoferoles y los ésteres de ascorbilo de ácidos grasos, en particular los tocoferoles y el palmitato de ascorbilo.

Las formulaciones según la invención contienen las siguientes cantidades de sustancias:

Éster de esteroles:

- 25 al menos 60, 65 o preferentemente al menos 70, particularmente preferentemente al menos 75, muy particularmente preferentemente al menos 80, como especialmente preferentemente al menos 85 o incluso al menos 88 por ciento en peso basado en la formulación total que sirve como material de relleno para cápsulas de gel, como 60, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 68, 69, 71, 72, 73, 74, 76, 77, 78, 79, 81, 82, 83, 84, 86, 87, 89, 90.

Solubilizante:

- 30 para lecitinas y mezclas que contengan fracciones de lecitina y fosfolípidos: al menos 1, preferentemente al menos 1,1, particularmente preferentemente al menos 1,2, muy particularmente preferentemente al menos 1,3 y especialmente al menos 1,4 por ciento en peso, como límite inferior, y hasta 20 por ciento en peso, preferentemente hasta 15, particularmente preferentemente hasta 10 y especialmente preferentemente hasta 5 por ciento en peso, como límite superior, en cada caso basado en la formulación total que sirve como material de relleno para cápsulas de gel, tal como 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0 y todos los valores intermedios;

- 40 para polisorbatos como el polisorbato 80 y los estearoil-2-lactilatos: al menos 5, preferentemente al menos 5,5, más preferentemente al menos 6,0, más preferentemente al menos 6,5 y en particular al menos 7,0 por ciento en peso basado en la formulación total que sirve como material de relleno para cápsulas de gel, tales como 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9, 9,0, 9,1, 9,2, 9,3, 9,4, 9,5, 9,6, 9,7, 9,8, 9,9, 10,0, 10,1, 10,2, 10,3, 10,4, 10,5, 10,6, 10,7, 10,8, 10,9, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0, 15,5, 16,0, 16,5, 17,0, 17,5, 18,0, 18,5, 19,0, 19,5, 20,0 y todos los valores intermedios.

- 45 Agua:

- 50 El agua puede estar presente en cantidades del 0 al 25 por ciento en peso. Cuando se utilizan polisorbatos como únicos solubilizantes, se emplean cantidades de agua del 0 al 15 por ciento en peso, preferentemente del 0 al 10 por ciento en peso sobre la totalidad de la formulación, como material de relleno de las cápsulas de gel, así como todos los valores comprendidos entre estos puntos finales. "Pequeña cantidad" en este contexto significa que no más del 10, preferentemente no más del 5 por ciento de agua está presente en la formulación.

- 55 Cuando se utilicen lecitinas y mezclas que contengan fracciones de lecitina y fosfolípidos como únicos solubilizantes, se emplearán cantidades de agua del 0 al 25 % en peso, preferentemente del 5 al 23 % en peso y, de forma particularmente preferente, del 10 al 20 % en peso sobre la formulación total que sirva como material de relleno para las cápsulas de gel, así como todos los valores comprendidos entre estos puntos finales. "Pequeña cantidad" en este contexto significa

que no más del 20, preferentemente no más del 15 por ciento de agua está presente en la formulación.

Aceites:

- 5 Uno o más aceites pueden estar presentes en cantidades del 0 al 25 por ciento en peso, pero preferentemente no más del 20, particularmente preferentemente no más del 15, más preferentemente no más del 10 y particularmente preferentemente no más del 5 por ciento en peso basado en la formulación total. "Pequeña cantidad" significa que no más del 10, preferentemente no más del 5 por ciento de aceite está presente en la formulación.

- 10 Los aceites adecuados son, en principio, todos los aceites (es decir, triglicéridos) de origen natural y sintético, pero preferentemente de origen natural, en particular de origen vegetal o marino, en particular de origen vegetal, como los aceites de girasol, linaza, lino, cártamo, almendra, colza, coco, palma, etc., o sus mezclas, como es bien sabido por el experto en la materia. Se utilizan preferentemente aceites con bajas proporciones de ácidos grasos saturados y/o altas proporciones de ácidos grasos insaturados y, en particular, poliinsaturados, ya que aportan un beneficio adicional para la salud durante su uso, mientras que los ácidos grasos saturados y, en particular, los ácidos grasos trans deben evitarse preferentemente en la medida en que sea técnicamente posible y/o comercialmente viable (es decir, sobre todo en términos de coste).

- 15 Por lo tanto, se prefieren las mezclas de ácidos grasos que tienen pequeñas cantidades de ácidos grasos trans, preferentemente menos del 5, 4, 3, 2, o incluso el 1 por ciento o menos de ácidos grasos trans, y/o, preferentemente y cantidades de ácidos grasos saturados de menos del 7 por ciento, preferentemente menos del 6, 5, 4, 3 o incluso el 2 o 1 por ciento de ácidos grasos saturados, en cada caso basado en la masa total de ácidos grasos en la mezcla.

De manera particularmente preferente, las formulaciones no contienen aceites.

- 20 Se utilizan preferentemente otros ingredientes: Palmitato de ascorbilo y ésteres de azúcar, cada uno en cantidades de hasta el 20, preferentemente hasta el 15, particularmente preferentemente hasta el 10 y sobre todo hasta el 5 por ciento en peso sobre la base de la formulación total, que sirve como material de relleno para cápsulas de gel. Preferentemente se utiliza al menos un 1 por ciento en cada caso, como 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4 o 4,5 por ciento en peso.

Por lo tanto, la presente invención también comprende un proceso para preparar una formulación según la invención, preferentemente para preparar una de las realizaciones preferentes de la formulación, como en particular las realizaciones A y AA.

- 30 Dicho procedimiento comprende, preferentemente consiste en, las siguientes etapas: (a) adición de ésteres de esteroles y solubilizantes individualmente uno tras otro, por parejas, varios simultáneamente o todos simultáneamente, preferentemente todos uno tras otro, particularmente preferentemente adición del éster de esteroles como primera sustancia y adición posterior de las demás sustancias antes, durante o después del calentamiento en la etapa b), particularmente preferentemente antes del calentamiento en la etapa b), en un recipiente de mezcla; b) calentar la sustancia aportada individualmente o una mezcla de varias sustancias a una temperatura superior al punto de fusión del éster de esteroles; c) mezclar la mezcla calentada a 500 a 2500 rpm durante un periodo de 1 a 60 minutos para obtener una mezcla uniforme.

- 35 En principio, todos los tipos de cápsulas duras y blandas son adecuadas como cápsulas de gel, fabricadas a partir de sustancias de origen natural, por ejemplo de origen vegetal y/o animal, así como de origen sintético, por ejemplo polímeros producidos sintéticamente o polímeros producidos mediante procesos biotecnológicos. Se prefieren las cápsulas de gel elaboradas a partir de sustancias vegetales y las elaboradas a partir de polímeros sintéticos.

- 40 Tales materiales, su producción y extracción, así como su transformación en cápsulas de gel son bien conocidos por los expertos en la materia. En el Textbook of Pharmaceutical Technology se pueden encontrar resúmenes básicos, por ejemplo en el capítulo IV, "La fabricación de cápsulas de gelatina duras y blandas, autor: Kurt H. Bauer, Friburgo, páginas 58 a 82, o en la 8ª edición de este libro de texto en el capítulo 14, subcapítulo 6, páginas 344 a 355, así como en muchos otros libros de texto estándar. Las cápsulas duras, por ejemplo, se caracterizan porque se fabrican como cápsulas vacías ensambladas en dos partes que sólo se rellenan y sellan después de la producción. En la mayoría de los casos, las cápsulas duras se producen a partir de una solución acuosa mediante el denominado proceso de inmersión (S. Stegmann, PZ Prisma, 5, 42-56, 1998). L. Eith et al. ofrecen una visión general del estado actual del moldeo por inyección para la producción de cápsulas duras farmacéuticas a partir de almidón o gelatina en Drug Dev. Ind. Pharm., 12, 2113-2126 (1986). Los procesos completamente diferentes para la producción de cápsulas de gelatina duras y blandas se describen en W. Fahrigr y U. Hofer, Die Kapsel, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1983, páginas 58-82.

- 50 Las cápsulas y su fabricación y uso también pueden encontrarse en muchas especificaciones de patentes. Conocidos fabricantes de cápsulas para aplicaciones principalmente farmacéuticas, complementos alimenticios, etc. son las empresas Catalent (R.P. Scherer se fusionó con Catalent), Banner, Capsugel, Accucaps, Swiss Caps

(fusionada con Aenova). Se conocen las publicaciones correspondientes y las solicitudes de patentes y patentes de estas y otras muchas empresas.

A continuación se enumeran algunos ejemplos: El documento WO2014/202754 divulga cápsulas blandas que contienen goma acilgellan, almidón y agente plastificante; el documento US 20010098784 divulga cápsulas que contienen preparados vegetales; el documento US6790495B divulga la producción de cápsulas blandas que contienen almidón y un aparato para su producción; el documento WO2007/116062 divulga cápsulas o extruidos fundidos que contienen un extracto vegetal; El documento US2010291197 divulga cápsulas hechas de material polimérico producido por extrusión en fusión; el documento EP2042180A1 divulga cápsulas blandas que contienen fitoesteres, entre un 10 y un 100 por ciento de triglicéridos, entre un 1 y un 40 por ciento de un emulsionante con un valor HLB superior a 12 y entre un 1 y un 80 por ciento de un coemulsionante con un valor HLB inferior a 11, relleno autoemulsionante y sin agua; el documento WO2002074861 divulga el uso de un poliol como formador de gel y de cápsulas de gelatina solubles en agua fría a partir de él; el documento US2004060258 divulga la producción de cápsulas, en particular cápsulas blandas, por el procedimiento del troquel giratorio; el documento DE2237545A1 divulga un proceso para la producción de microcápsulas evaporando una solución polimérica en un disolvente orgánico; el documento EP1138322A2 divulga cápsulas duras y el documento EP1136070 (A1) cápsulas blandas, en cada caso, por ejemplo, cápsulas duras y cápsulas blandas B. para aplicaciones farmacéuticas que contienen polímeros de ésteres de vinilo y opcionalmente otros monómeros, excipientes que mejoran la estructura y otros componentes convencionales de la cubierta, su uso y preparación; el documento EP1926480(B1) divulga cápsulas blandas y su preparación con cubiertas de cápsula blanda basadas en copolímeros de injerto de éster de polivinilo-poli(etilenglicol); el documento US55699466 A divulga composiciones de relleno para cápsulas blandas elásticas; el documento US5505961A divulga cápsulas de gelatina; el documento US2003085487A divulga un aparato para producir cápsulas blandas; el documento US2003232076A divulga cápsulas blandas masticables.

Por lo tanto, la presente invención también comprende un proceso para preparar una cápsula de gel que comprende la formulación según la invención, preferentemente una de las realizaciones preferentes de la formulación, como en particular las realizaciones A y AA. En principio, todos los materiales y procesos y etapas de fabricación conocidos por el experto pueden utilizarse como materiales para cápsulas de gel, siempre que sean compatibles con la formulación según la invención.

Esta compatibilidad puede evaluarse fácilmente, por una parte, mediante las sustancias utilizadas para la formulación y los materiales de la cápsula y, por otra, mediante pruebas sencillas con los materiales de la cápsula correspondientes.

Como se muestra en los ejemplos, el uso de emulsionantes individuales no dio buenos resultados de autoemulsificación. Sin embargo, cuando se mezclaron dos emulsionantes, se obtuvieron muy buenos resultados y sistemas autoemulsionantes. Esto fue especialmente sorprendente en el caso de SUN FM 580 (lecitina) y Systema SP 70 (éster de azúcar), ya que el producto Systema por sí solo es insoluble en la formulación y tuvo que dispersarse utilizando un mezclador rotor-estator. Sin embargo, el uso de una pequeña cantidad de producto Systema mejoró drásticamente la autoemulsificación.

También se descubrió que la adición de un éster de ácido graso ascórbico como el palmitato de ascorbilo y/o el estearato de ascorbilo, en particular el palmitato de ascorbilo, a una formulación que contiene lecitina mejora significativamente las propiedades de autoemulsificación en el modelo gástrico, aunque, por una parte, el palmitato de ascorbilo no es soluble en el aceite a estas temperaturas y, por otra, como emulsionante aniónico no está cargado en estas condiciones de pH y, por tanto, sólo tiene una actividad estabilizadora de la emulsión muy baja, así como una solubilidad baja en el medio acuoso. Por último, también se observó que la fase de polisorbato, como el polisorbato 80, se separa de la fase de éster de esteroles, pero que la adición de lecitina al sistema evita la separación y mejora significativamente las propiedades autoemulsionantes en comparación con las sustancias utilizadas individualmente.

En resumen, cabe señalar que la combinación de éster de ácido graso ascorbilo, preferentemente palmitato de ascorbilo, y lecitina y polisorbato, preferentemente polisorbato 80, produce propiedades particularmente buenas, en particular muy buenas propiedades de autoemulsificación, de una formulación de éster de esteroles que contiene aceite como componente adicional, de modo que esta combinación es una realización particularmente preferente (realización A) de la presente invención, en la que pueden cumplirse las proporciones anteriormente mencionadas (los intervalos amplios, así como los límites más estrechos y preferentes respectivamente divulgados, como en particular también combinaciones de los intervalos respectivamente preferentes de los diversos componentes) y pueden incluirse los posibles ingredientes opcionales adicionales. En una realización especialmente preferente AA, no se incluye ninguno de los ingredientes adicionales opcionales.

Ejemplos

Producción de las formulaciones

Los ésteres de fitosterol y los emulsionantes se añadieron juntos y se calentaron a 60 °C para evitar la cristalización y/o, preferentemente, para reducir la viscosidad. A continuación, se realizó la mezcla (mezclador Thinky ARE-250

(Thinky Corporation, EE.UU.) a 2000 rpm durante 1 minuto, o en un impulsor de tubos Ultra-turrax (IKA, Alemania) a 2000 rpm durante unos 30 minutos. El mezclador Thinky se utilizó cuando todas las materias primas estaban presentes en forma líquida, mientras que el mezclador Ultra turrax se utilizó cuando al menos una de las materias primas estaba presente como semisólido o sólido y no podía disolverse fácilmente en la fase líquida o éster de fitosterol licuada a unos 60 °C (por ejemplo, proteínas, palmitato de ascorbilo). La formulación se llevó a temperatura ambiente (aprox. 20 a 25 °C) para permitir que cualquier formación de espuma durante la producción se disolviera durante la noche (es decir, después de aprox. 8 a 12 horas) y se analizó la separación de fases. Si no se observaba separación de fases, se realizaban las pruebas de aplicación descritas a continuación.

Todos los resultados que se muestran a continuación se expresan en porcentaje en peso.

10 Pruebas de aplicación

Solución estomacal artificial:

Se añadieron 2 g de ácido clorhídrico 1 M a 900 ml de agua destilada, se ajustó el pH a 1,6 con ácido clorhídrico 1 M y se completó hasta 1 litro con agua destilada.

Solución de intestino delgado:

15 Se disolvieron 0,42 g de pellets de NaOH, 3,95 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y 6,19 g de NaCl en 900 ml de agua destilada. El pH se ajustó a 6,5 con una solución de hidróxido de sodio y la solución se enrasó a 1 litro con agua destilada.

Pruebas en el modelo estomacal:

La formulación de éster de fitosterol/emulsionante se calentó a unos 60 °C para obtener una fase líquida uniforme. A continuación, se calentaron 100 ml de la solución de estómago y 100 ml de la solución de intestino delgado a 37-38 °C y se añadió 1 g de la formulación a cada una. Los sistemas se agitaron a 200 rpm durante una hora y después se inspeccionaron visualmente.

Véanse los resultados en la Tabla 3.

Modelo CaCo2

25 Las formulaciones también se probaron en el llamado modelo Caco2. Se comprueba el efecto de la administración de una formulación sobre la captación de colesterol en células Caco2. Esta es una medida de si los ésteres de esteroles de la formulación pueden reducir la captación de colesterol de las células y en qué medida. Cuanto mayor sea la prevención (es decir, cuanto menor sea) de la ingesta de colesterol, más eficaz será una formulación.

Principio de las pruebas CaCo2:

30 Cultivo de células Caco 2 sobre una membrana porosa; estructura polarizada de las células, que contienen nutrientes (aquí Colesterol) en la cara apical y volver a segregarlo en la cara basal.

Se examina en qué medida influye en el transporte de colesterol la suplementación simultánea de fitosteroles en combinación con diversos vehículos

35 Etapas de la prueba: Cultivo de las células; preparación de las denominadas "micelas mixtas"; determinación de la citotoxicidad y determinación de la concentración de trabajo; medición de la concentración de colesterol en el compartimento basal (6 y 24 horas después del inicio de la suplementación) en 2 pasadas, medición de 3 veces en cada caso

Prueba de citotoxicidad: se pueden utilizar concentraciones de 150 µg/ml de todas las sustancias de prueba sin afectar a las células; se seleccionaron concentraciones de trabajo de 50 - 100 - 150 µg / ml

40 Para la formación de las micelas, la cantidad de colesterol utilizada se mantuvo constante para todos los grupos de tratamiento. Al analizar las soluciones aplicadas apicalmente, se observó que el contenido de colesterol en las micelas preparadas difería (posiblemente debido al desplazamiento mutuo previsto del colesterol y los fitosteroles durante la formación de las micelas).

Por lo tanto, los resultados de la absorción y el transporte de colesterol se corrigieron en función del contenido real de colesterol de las soluciones de suplemento.

45 Éster esteroles utilizado:

Vegapure 95 E, de BASF SE, contiene pequeñas cantidades de diversos tocoferoles y palmitato de ascorbilo como antioxidante; proporción de ésteres de esteroles: al menos 97% (área por ciento); proporción de esteroles libres: hasta 6% (área por ciento)

Solubilizantes utilizados:

ES 2 988 519 T3

- Polisorbato 20: Monolaurato de sorbitán polioxietilenado (20), E432
 - Polisorbato 80: Monooleato de sorbitán polioxietilenado (20), E433, "Tween 80"
 - Lipoide P 75: Fracción de lecitina y fosfolípidos de habas de soja, contiene aprox. 75% de fosfatidilcolina, 7% de fosfatidiletanolamina
- 5 - Prefera SSL 6000: Estearoil-2-lactilato de sodio con un grado de esterificación de 100 a 140
- Lametop P 65: DATEM según especificación de la FDA, (DATEM = éster diacetil tartárico de mono- y diglicéridos, alemán: Ésteres de ácido diacetil tartárico con mono- y diglicéridos), E472e
 - Phosal 40 IP: composición líquida que contiene aproximadamente un 40% de fosfatidilcolina de soja y aceite de girasol, así como tocoferoles mixtos
- 10 - MCT: Triglicéridos de cadena media Es decir, triglicéridos de cadena media, un aceite con predominio de ácidos grasos C8 a C10
- Lecico SUN FM 580: Lecitina de girasol de Lecico; lecitina de girasol líquida, modificada enzimáticamente, 56 % AU
 - CholestOff: producto de referencia comercial de NatureMade, EE.UU.; contiene esteroides y estanoles vegetales.
- 15 La siguiente Tabla 1 (1a y 1b) muestra las formulaciones de referencia probadas.

Tabla 1a: Composiciones

		en gramos					
No.	Vehículo		Vegapure 95 E	Propilenglicol	MCT	Agua	Total
1	Polisorbato 20	7,5	31,5	0	0	0	39
2	Prefera SSL 6000	7,5	31,5	0	0	0	39
3	Polisorbato 80 + agua	3,75	31,5	0	0	3,75	39
4	Polisorbato 80	7,5	31,5	0	0	0	39
5	Lametop P 65 + MCT	3,75	31,5	0	3,75	0	39
6	Lametop P 65 + propilenglicol	3,75	31,5	3,75	0	0	39
7	Lametop P 65	7,5	31,5	0	0	0	39
8	Phosal 40 IP	7,5	31,5	0	0	0	39
9	Lipoide P 75 + agua	0,63	31,5	0	0	6,87	39

Tabla 1b: Composiciones (continuación de la Tabla 1a)

		Porcentaje en peso					
No.	Vehículo	Vehículo	Vegapure 95 E	Propilenglicol	MCT	Agua	Total
1	Polisorbato 20	19,23%	80,77%	0,00%	0,00 %	0,00%	100,00%
2	Prefera SSL 6000	19,23%	80,77%	0,00%	0,00 %	0,00%	100,00%

		Porcentaje en peso					
No.	Vehículo	Vehículo	Vegapure 95 E	Propilenglicol	MCT	Agua	Total
3	Polisorbato 80 + agua	9,62%	80,77%	0,00%	0,00 %	9,62%	100,00%
4	Polisorbato 80	19,23%	80,77%	0,00%	0,00 %	0,00%	100,00%
5	Lametop P 65 + MCT	9,62%	80,77%	0,00%	9,62 %	0,00%	100,00%
6	Lametop P 65 + propilenglicol	9,62%	80,77%	9,62%	0,00 %	0,00%	100,00%
7	Lametop P 65	19,23%	80,77%	0,00%	0,00 %	0,00%	100,00%
8	Phosal 40 IP	19,23%	80,77%	0,00%	0,00 %	0,00%	100,00%
9	Lipoide P 75 + agua	1,62%	80,77%	0,00%	0,00 %	17,62%	100,00%

Resultados de las pruebas:

Tabla 1 (1a y b): formulaciones ensayadas - composición

5 Figura 1: Contenido de colesterol del medio receptor basal después de 6 horas (en % de la concentración inicial aplicada)

Figura 2: Contenido de colesterol del medio receptor basal tras 24 horas (en % de la concentración inicial aplicada)

Figura 3: Espectros infrarrojos de las soluciones micelares de colesterol ("CHOL") solas y en combinación con las formulaciones ensayadas

10 Figura 4: Análisis PCA de soluciones micelares de colesterol (CHOL) solo y en combinación con diversas sustancias de ensayo (C1 a C10)

Figura 5: Resultados de la tabla 4

Otros resultados del modelo Caco2 (figura de la Tabla 3)

Tabla 2: Influencia de la combinación fitosterol-vehículo en el transporte de colesterol en comparación con Vegapure 95E como sustancia única

15 Tabla 3: Otros resultados del modelo CaCo2

Tabla 4: Resultados del ensayo en el modelo de estómago ("ésteres de estero" = Vegapure 95 E de BASF)

Tabla 2: Influencia de la combinación fitosterol-vehículo (formulaciones de referencia) en el transporte de colesterol en comparación con Vegapure 95E como sustancia única

		Después de 6 horas		Después de 24 horas	
Formulación contenida como solubilizantes	Dosificación de la sustancia de ensayo	Colesterol en el compartimento receptor (% de la cantidad utilizada)	% menos de colesterol que Vegapure 95E sin vehículo	Colesterol en el compartimento receptor (% de la cantidad utilizada)	% menos de colesterol que Vegapure 95E sin vehículo
Control del colesterol		78,72		76,11	
sin solubilizante (sólo Vegapure 95 E)	50 µg / ml	70,85		67,62	

		Después de 6 horas		Después de 24 horas	
Formulación contenida como solubilizantes	Dosificación de la sustancia de ensayo	Colesterol en el compartimento receptor (% de la cantidad utilizada)	% menos de colesterol que Vegapure 95E sin vehículo	Colesterol en el compartimento receptor (% de la cantidad utilizada)	% menos de colesterol que Vegapure 95E sin vehículo
	100 µg / ml	70,79		63,54	
	150 µg / ml	66,32		59,05	
Prefera 6000 SSL	50 µg / ml	54,46	23%	56,96	16%
	100 µg / ml	54,46	23%	59,97	6%
	150 µg / ml	45,10	32%	55,46	6%
Polisorbato 80	50 µg / ml	59,23	16%	56,77	16%
	100 µg / ml	66,56	6%	60,32	5%
	150 µg / ml	65,02	2%	62,11	n.d.
Lametop P65 + MCT	50 µg / ml	69,41	2%	72,51	na.
	100 µg / ml	53,04	25%	63,92	n.d.
	150 µg / ml	50,74	23%	55,64	6%
Phosal 40 IP	50 µg / ml	57,76	18%	71,85	n.d.
	100 µg / ml	53,88	24%	65,75	n.d.
	150 µg / ml	49,67	25%	58,78	0%

Medición del desplazamiento del colesterol por los fitosteroles durante la formación de micelas

El colesterol y los fitoesteroles son poco solubles en agua y se transportan en el organismo junto con los ácidos grasos y las sales biliares en las micelas mixtas.

- 5 El desplazamiento del colesterol de las micelas se considera un importante mecanismo de acción de los fitoesteroles para la reducción del colesterol.

El objetivo de la medición es determinar la influencia de las sustancias de ensayo sobre la concentración de colesterol en la solución micelar resultante, a fin de obtener una indicación del posible desplazamiento del colesterol de las micelas.

- 10 Las sustancias de ensayo se utilizaron en 5 concentraciones diferentes junto con una concentración de colesterol definida para la formación de micelas in vitro.

Las emulsiones micelares obtenidas se analizaron por espectroscopia infrarroja utilizando el analizador SpeCCs (Cetecs Healthcare).

- 15 A primera vista, los espectros infrarrojos (Figura 3) difieren sólo ligeramente debido a la similitud en la estructura química del colesterol y los fitoesteroles. La evaluación posterior se lleva a cabo estadísticamente mediante el análisis de componentes principales (PC), que puede utilizarse para determinar la similitud de las muestras.

Análisis PCA de soluciones micelares de colesterol (CHOL) solo y en combinación con diversas sustancias de ensayo (C1 a C10) (Figura 4)

Resultado: La formulación con Lipoid P75 + agua difiere más claramente de las micelas de colesterol puro, seguida de Vegapure 95 E, Polisorbato 80, Lametop P65+ MCT y Prefera SSL 6000, lo que puede interpretarse como una medida del desplazamiento del colesterol de las micelas.

5

Tabla 3: CaCo2 - Modelo Resultados provisionales - Influencia de las combinaciones de ésteres de fitosterol y emulsionantes en el transporte del colesterol (las formulaciones utilizadas en los ensayos 88 y 89, así como CholestOff, son formulaciones de referencia)

Formulaciones probadas	Dosis de la sustancia de ensayo (µg / ml)	Concentración de colesterol en el medio receptor en µg / ml (después de 6 horas)	Concentración de colesterol en el medio receptor en µg / ml (después de 24 horas)
Ensayo 88; Vegapure 95 E (sin emulsionante)	150	69,9	64,9
Ensayo 88; Vegapure 95 E (sin emulsionante)	100	65,0	64,7
Ensayo 88; Vegapure 95 E (sin emulsionante)	50	68,2	64,4
Ensayo 89: Vegapure 95 E con Lipoid 75 y aceite de girasol	150	63,2	63,3
Ensayo 89: Vegapure 95 E con Lipoid 75 y aceite de girasol	100	65,7	61,0
Ensayo 89: Vegapure 95 E con Lipoid 75 y aceite de girasol	50	62,7	59,4
Ensayo 100: Vegapure 95 E y Lecico SUN FM 580 y Tween 80	150	61,3	57,4
Ensayo 100: Vegapure 95 E y Lecico SUN FM 580 y Tween 80	100	60,6	60,1
Ensayo 100: Vegapure 95 E y Lecico SUN FM 580 y Tween 80	50	57,2	58,6
CholestOff (producto de comparación disponible en el mercado)	150	59,42	60,4
CholestOff (producto de comparación disponible en el mercado)	100	56,93	58,3
CholestOff (producto de comparación disponible en el mercado)	50	60,66	60,5

Los resultados de la Tabla 3 muestran que el transporte de colesterol puede verse más influido por el uso de una combinación de éster de fitosterol y emulsionante(s) que por el éster de fitosterol solo.

La Tabla 4 muestra la evaluación de las pruebas de las formulaciones de la Tabla 3.

La Figura 5 muestra resultados seleccionados en la prueba CaCo2 de las formulaciones de la Tabla 3.

5 Evaluación de la Tabla 4: **Evaluación visual: Escala**

1 = homogénea, sin aceite en la superficie

2 = muy homogénea con gotas de aceite pequeñas o medianas en la superficie

3 = turbidez media, capa de aceite apreciable en la superficie

4 = aspecto ligeramente blanquecino y turbio, gruesa capa de aceite en la superficie

10 5 = sin efecto emulsionante, es decir, separación de fases casi completa

15

20

25

Tabla 4. Resultados de la prueba en el modelo de estómago ("Estómago de cerdo" = Vegapure 95 E de BASF); véase también la figura 5 (las pruebas 88-97 son pruebas con formulaciones de referencia)

Número de ensayo	Concentración de ácidos esteáricos (% en peso)	Materia prima 1	Concentración de Materia prima 1 (% en peso)	Materia prima 2	Concentración de Materia prima 2 (% en peso)	Materia prima 3	Concentración de Materia prima 3 (% en peso)
88	100	Vegapure 95E	100				
89	80	P75	1,0	Acacia de ginseng	17,6		
90	80	Lecico SUN FM 580	20				
91	85	Lecico SUN FM 580	15				
92	90	Lecico SUN FM 580	10				
93	80	Tween 80	20				
94	85	Tween 80	2				
95	90	Parafato de acorbato	10				
96	98	Parafato de acorbato	2				
97	80	Lecico SUN 400	20				
98	80	Lecico SUN FM 580	15	Tween 80	1		
99	90	Lecico SUN FM 580	18	Tween 80	2		
100	80	Lecico SUN FM 580	15	Tween 80	4		
101	80	Lecico SUN FM 580	18	Parafato de acorbato	3		
102	80	Lecico SUN FM 580	16	Parafato de acorbato	4		
103	80	Lecico SUN FM 580	12	Parafato de acorbato	3		

Número de ensayo	Concentración de ésteres estéricos (% en peso)	Materia prima 1	Concentración de Materia prima 1 (% en peso)	Materia prima 2	Concentración de Materia prima 2 (% en peso)	Materia prima 3	Concentración de Materia prima 3 (% en peso)
104	80	Lecico SUN FM 580	0	Pantenato de ascorbilo	12		
105	80	Lecico SUN FM 580	13,5	Pantenato de ascorbilo	1,5		
106	90	Lecico SUN FM 580	9	Pantenato de ascorbilo	1		
107	80	Lecico SUN FM 580	16	Pantenato de ascorbilo	2	Tween 80	2
108	80	Lecico SUN FM 580	10	Systema SP70	1		
109	80	Lecico SUN FM 580	18	Systema SP70	2		

ES 2 988 519 T3

Tabla 4 - continuación: Resultados de la prueba en el modelo de estómago ("Ester de esteroles = Vegapure 95 E de BASF); véase también la figura 5

Número de ensayo	Solución estomacal: Turbidez (NTU)	Solución estomacal: Evaluación visual	Solución intestinal: Turbidez (NTU)	Solución intestinal: Evaluación visual
88	0,3	5	1	5
89	485	2	317	3
90	266	3	1000	2
91	59	4	763	3
92	71	4	492	4
93	63	4	111	4
94	102	3	27	4
95	9,2	4	1000	2
96	1,1	5	90	4
97	31	4	814	2
98	554	2	1000	1
99	1000	1	1000	1
100	769	2	1000	1
101	25	4	922	2
102	237	2	46	5
103	516	2	50	5
104	1000	3	1000	1
105	43	4	679	2
106	18	5	379	3
107	383	2	1000	2
108	375	2	830	2
109	51	4	539	3

REIVINDICACIONES

1. Una formulación para cápsulas de gel que contienen éster de estero/estanol y solubilizante, en la que al menos el 61% en peso de la formulación consiste en éster de estero/estanol y solubilizante, en la que se seleccionan como solubilizante las combinaciones de lecitina y polisorbato 80, lecitina y éster de azúcar con ácidos grasos, o lecitina y éster ascórbico de ácido graso.
5
2. La formulación según la reivindicación 1, en la que la lecitina y los ésteres de ácidos grasos de ascorbilo, preferentemente el palmitato de ascorbilo, se seleccionan como solubilizantes.
3. La formulación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en la que la formulación contiene, además de ésteres de estero/estanol y solubilizantes, sólo agua y/o aceite en cantidades de hasta 10% en peso en cada caso e independientemente uno del otro, sobre la base de la formulación.
10
4. La formulación según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que los ácidos grasos del éster de estero/estanol comprenden ácidos grasos omega-3, tal como EPA y/o DHA, en una cantidad de al menos el 30 por ciento en peso en base al contenido de ácidos grasos.
5. Una cápsula de gel que contiene una formulación según una de las reivindicaciones 1 a 4 en forma de cápsula blanda o cápsula dura.
15
6. La cápsula de gel según la reivindicación 5 para su uso como complemento alimenticio o como producto farmacéutico.
7. Un proceso para la preparación de una formulación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** el proceso comprende las siguientes etapas, preferentemente consistente sólo en las siguientes etapas:
20
 - a. Adición del éster de estero/estanol y los solubilizantes individualmente uno tras otro, por parejas, varios simultáneamente o todos simultáneamente, preferentemente todos uno tras otro, de manera particularmente preferente adición del éster de estero/estanol como primera sustancia y adición subsiguiente de las demás sustancias antes, durante o después del calentamiento en la etapa b), de manera particularmente preferente antes del calentamiento en la etapa b), en un recipiente mezclador;
25
 - b. Calentamiento de la sustancia cargada individualmente o de una mezcla de varias sustancias a una temperatura superior al punto de fusión del éster de estero/estanol y, en caso necesario, adición adicional de sustancias según la etapa a) durante el calentamiento continuado;
 - c. Mezclar la mezcla calentada a 500 a 2500 revoluciones por minuto durante un período de 1 a 60 minutos para obtener una mezcla uniforme.
30

Figura 1:

Contenido de colesterol del medio receptor basal después de 6 horas (en % de la concentración inicial aplicada)

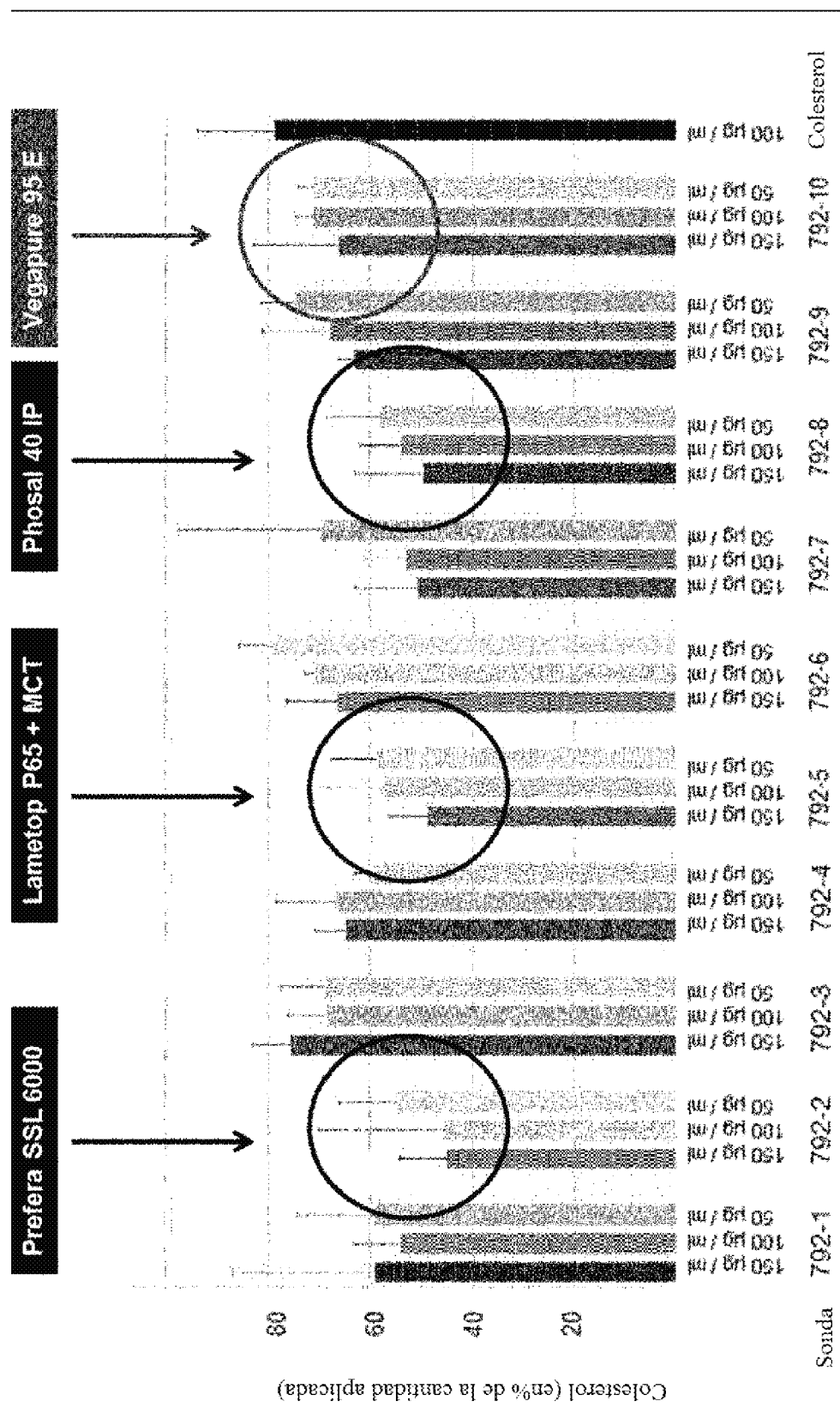


Figura 2:

Contenido de colesterol del medio receptor basal después de 24 horas (en % de la concentración inicial aplicada)

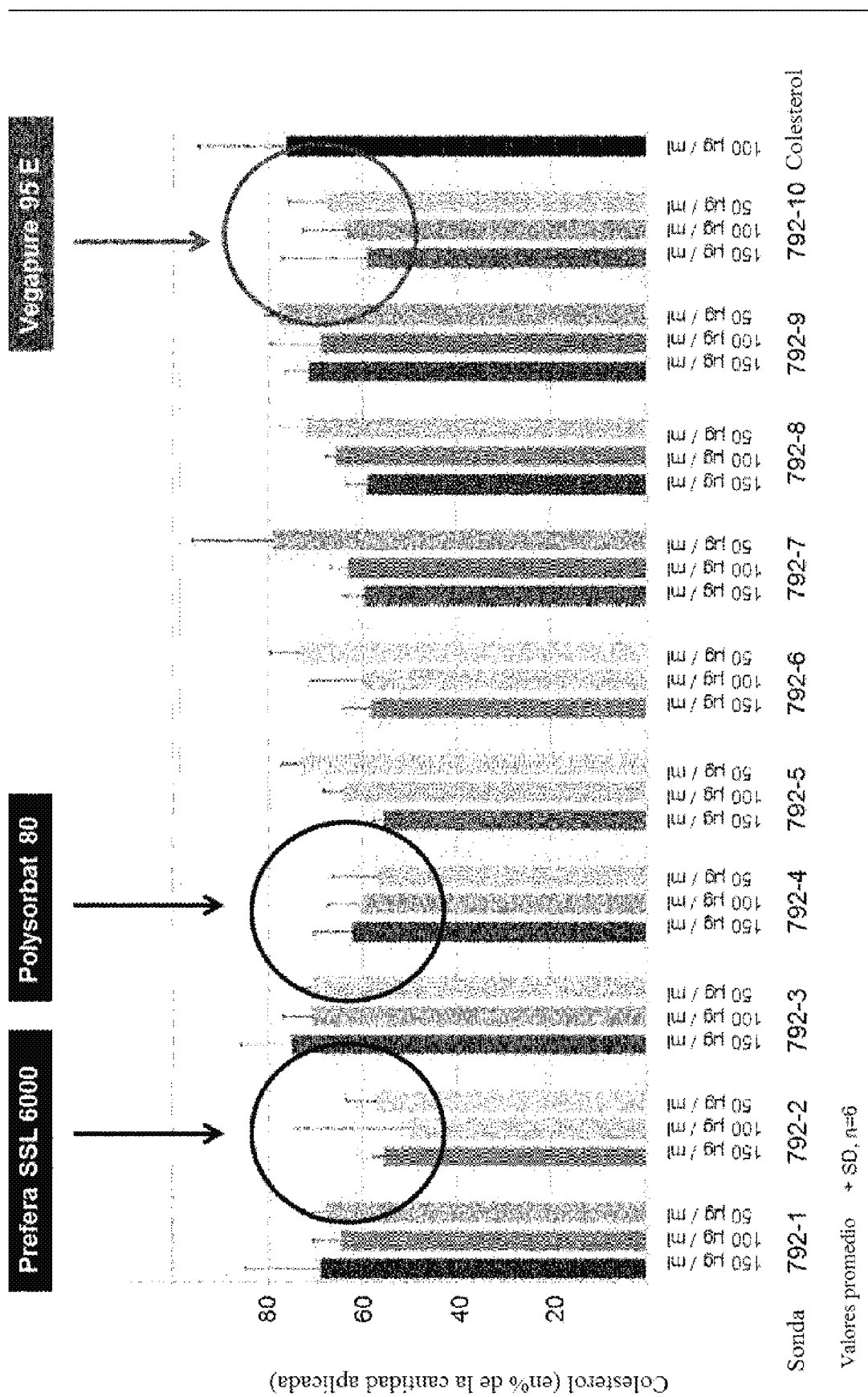


Figura 3:

Espectros infrarrojos de las soluciones micelares de colesterol ("CHOL") solas y en combinación con las formulaciones probadas.

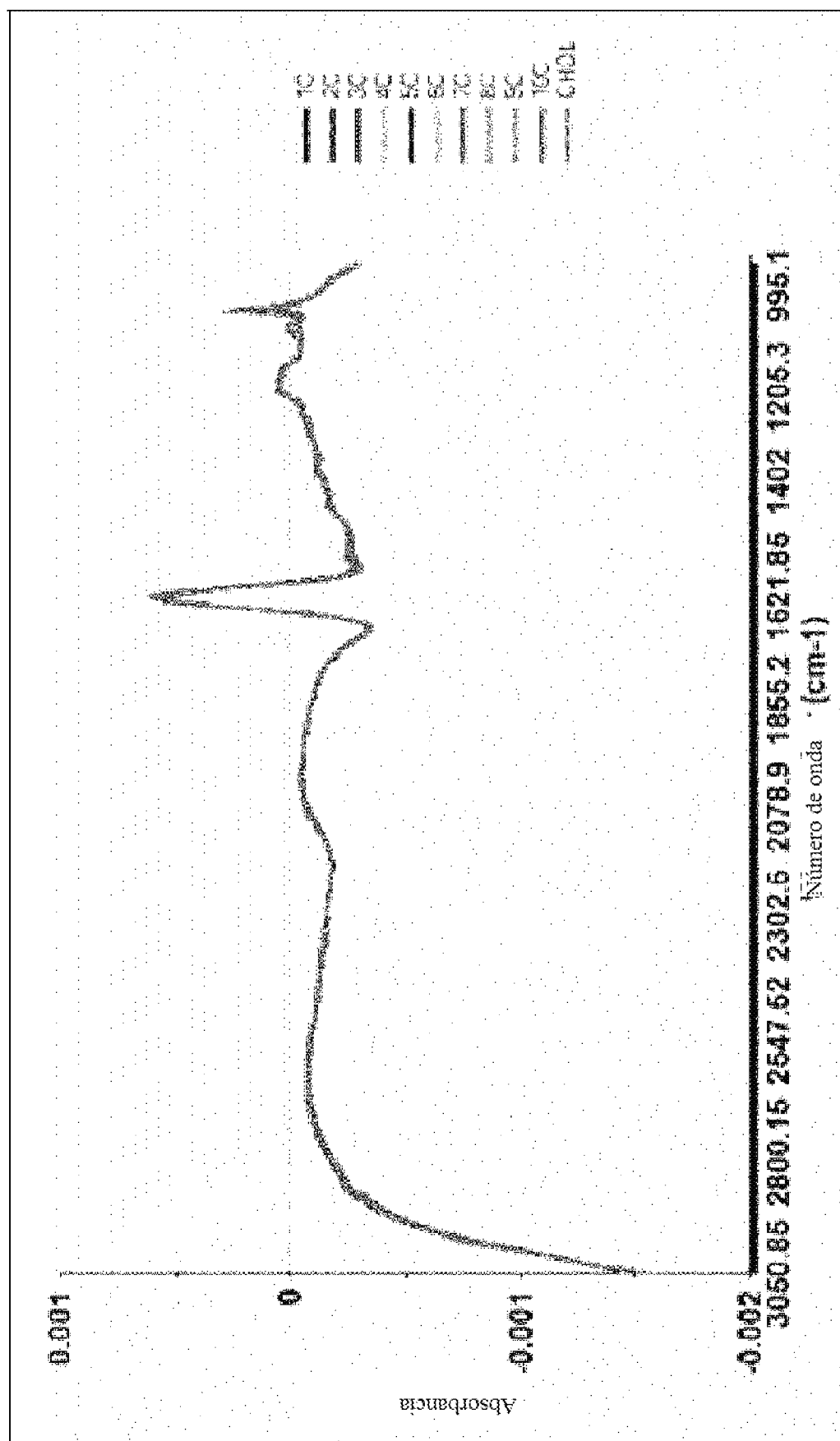


Figura 4:
Análisis PCA de soluciones micelares de colesterol (CHOL) solas y en combinación con diversas sustancias de prueba (C1 a C10)

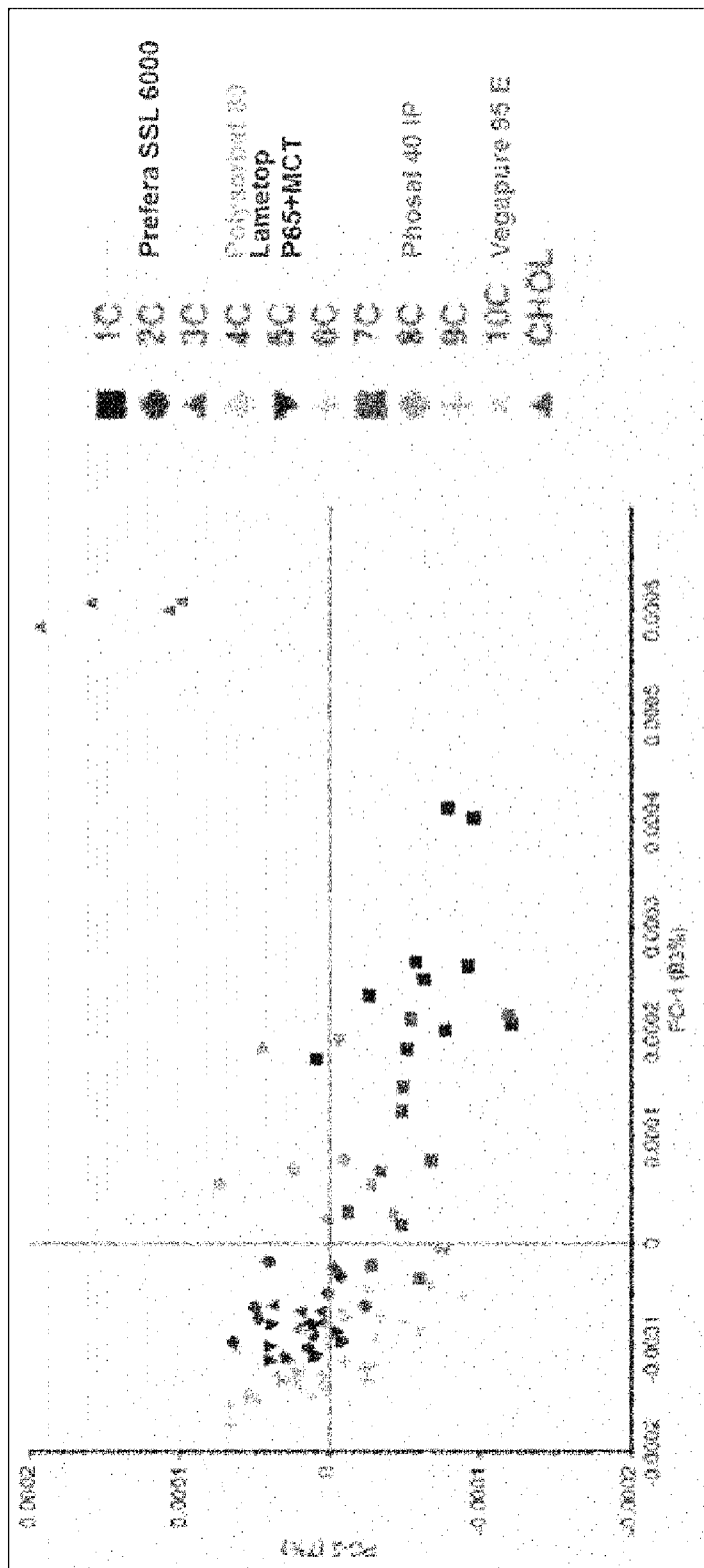


Figura 5 (a Tabla 4): Influencia en el transporte de colesterol por combinaciones de ésteres de fitosterol y emulsionantes (después de 6 horas)

