

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 381 851**

51 Int. Cl.:
A61K 36/45 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 11/04 (2006.01)
A61P 1/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09750005 .2**
96 Fecha de presentación: **05.05.2009**
97 Número de publicación de la solicitud: **2285390**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.02.2011**

54 Título: **Procedimiento de obtención de un extracto de pulpa de arándanos para uso en la prevención y el tratamiento de afecciones tales como caries, gingivitis e infecciones leves de garganta**

30 Prioridad:
05.05.2008 FR 0802463

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.06.2012

73 Titular/es:
Tournay Biotechnologies, Sas
ZAE Le Noyer Brule
24230 Lamothe Montravel, FR

72 Inventor/es:
TOURNAY, David y
TOURNAY, Michaël

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 381 851 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de obtención de un extracto de pulpa de arándanos para uso en la prevención y el tratamiento de afecciones tales como caries, gingivitis e infecciones leves de garganta.

- 5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención de un extracto preparado a partir de la pulpa de arándano (género *Vaccinium macrocarpon* y/o *Vaccinium oxycoccus*) con objeto de obtener un producto que, presentado bajo diversas formas galénicas u otras, tiene numerosas cualidades y propiedades terapéuticas explotables especialmente en el sector de los cuidados y de la prevención dentaria, de la higiene bucal, así como en el de la prevención de las infecciones virales o bacterianas de la orofaringe. Se refiere igualmente a este extracto y a sus utilizaciones.
- 10 Las cualidades terapéuticas del arándano son conocidas desde hace mucho tiempo. Atribuidas primeramente por error a su elevada acidez debida a la presencia de ácidos orgánicos contenidos en el jugo, fue utilizada sobre todo para prevenir y sanar las infecciones urinarias ligeras. Hoy día se sabe que sus cualidades terapéuticas se deben más bien a los polifenoles contenidos en el jugo y en la piel de la baya, y más precisamente, a las proantocianidinas, especialmente de tipo A (Howell et al. 2005), las cuales según AFSSA tienen la propiedad de “contribuir a disminuir la fijación (tienen por tanto un efecto antiadhesivo) de ciertas bacterias patógenas de tipo E. coli sobre las paredes de las vías urinarias”.
- 15 Hasta hoy, este tipo de preparación ha encontrado pocas aplicaciones en razón de los inconvenientes que puede presentar en ciertos casos; así, el jugo de arándano, amargo y acidulado a la vez (pH 2-3), que se debe azucarar fuertemente, no se puede utilizar tal cual para la prevención o los cuidados dentarios porque puede contribuir a la erosión del esmalte y al desarrollo de las caries.
- 20 Según la presente invención, el procedimiento para la obtención del producto de base susceptible de ser utilizado en numerosas aplicaciones no existe en la técnica anterior.
- 25 Las patentes US 5002759 y 5362480 se refieren a preparados que se oponen a la adherencia de bacterias patógenas a nivel de las células de la pared bucal; el género *Vaccinium* o el arándano no se mencionan para cualificar el extracto.
- La patente US 5474774 se refiere a una preparación a base de arándano, rica en polifenoles, exenta de azúcar simple y que tiene un efecto antiadhesivo, pero el procedimiento de extracción y la materia prima obtenida son muy diferentes de la presente solicitud.
- 30 La patente US 0048611 A1 describe una preparación a base de arándano utilizada para la fabricación de una goma de mascar, que posee una actividad antiadhesiva sobre las bacterias. En este caso, la materia prima utilizada es un jugo concentrado de arándano, y no la pulpa, al que se somete a una purificación por diálisis. En la presente solicitud, la materia prima es un extracto de pulpa de arándano totalmente deshidratado, y para su preparación no se utiliza la técnica de la diálisis.
- 35 La patente US 4857327 A1 utiliza una preparación a base de *Vaccinium* con el fin de tratar trastornos digestivos. No se utilizan las especies *Vaccinium macrocarpon* y *Vaccinium oxycoccus*: sólo se citan *Vaccinium myrtillus*, *Vaccinium vitis idaeae*, *Sambucus nigra* y *Vitis vinefera*, que no poseen proantocianidinas de tipo A, pero únicamente las de tipo B. La pulpa de arándano utilizada, exenta de jugo, se deseca y se incorpora tal cual a la preparación; en la presente solicitud se trata de un extracto preparado a partir de esta pulpa.
- 40 La patente W099/12541 se refiere a un extracto de arándanos rico en proantocianidinas, preparado a partir del fruto, las hojas, raíces o los tallos de la planta. El modo de acción fisiológico reivindicado menciona únicamente la inhibición de la adhesión de las bacterias E. coli sobre las células del tracto urinario y digestivo, mientras que la presente solicitud se refiere a una acción no específica sobre E. coli. Las bacterias referidas son de tipo *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* responsables, entre otras, de caries, gingivitis, parodontitis; se refiere igualmente a ciertos virus (Lipson et al 2007).
- 45 Ninguna de estas solicitudes reivindica una actividad bactericida o bacteriostática.
- El mérito de la presente invención es ofrecer una nueva vía de valorización de la pulpa de arándano con el fin de obtener fácilmente un extracto que comprenda proantocianidinas, especialmente de tipo A, con propiedades a la vez antibacterianas, antivirales, antioxidantes y antiadhesivas, presentado bajo diferentes formas galénicas u otras, utilizadas a título preventivo o curativo en las afecciones dentarias o de la orofaringe.
- 50 Según un modo de realización, el procedimiento de obtención apela a técnicas que no se utilizan en el estado de la técnica anterior; permite obtener un extracto de pulpa de arándano, en forma de polvo, composición no conocida hasta ahora y más rica en activos que los que se han podido obtener habitualmente.

Obtención de proantocianidinas a partir de la pulpa de arándano

- 5 Según la invención, la técnica propuesta para extraer las proantocianidinas totales a partir de bayas de arándano comprende varias etapas. La primera consiste en obtener la pulpa de arándano por prensado de la baya de *Vaccinium macrocarpon* y/o *Vaccinium oxycoccus*, lo que permite eliminar una gran parte de los hidratos de carbono y de los ácidos orgánicos contenidos en el jugo; la preparación obtenida, con un pH que varía de 3,5 a 4,5, se acepta mejor por este hecho.
- La pulpa de arándano utilizada posee una tasa de materia seca media de 30%, pudiendo variar esta tasa entre 25 y 35% según la presión ejercida durante la operación de prensado. Se presenta en forma de bayas reventadas y las pepitas se pueden conservar porque contienen proantocianidinas. Para facilidades de transporte y almacenamiento, esta pulpa fue congelada.
- 10 En un segundo tiempo, se procede a la extracción de las proantocianidinas con ayuda de una solución acuosa o con ayuda de una solución hidroalcohólica. El traspaso de los extractos a una columna con resina de adsorción permite aislar mejor las proantocianidinas, por tanto incrementar los rendimientos de la extracción.
- 15 1^{er} caso: la extracción se realiza con ayuda de una solución acuosa, a la temperatura ambiente o en agua previamente calentada entre 50 y 70°C. La pulpa sufre previamente una trituración con el fin de aumentar la superficie de intercambio sólido-líquido y, por este hecho, el rendimiento de la extracción, con el material utilizado y una granulometría inferior a 2 mm, aumenta de 10 a 20%.
- La extracción, por sí misma, se puede realizar sobre proporciones de pulpa del orden de 5 a 20% con relación a la del agua, siendo la proporción ideal del 10%.
- 20 Cuando se opera en caliente, en un agua a 60°C, la pulpa introducida a razón del 10% en una cuba provista de un sistema de agitación se somete a una velocidad de agitación constante comprendida entre 200 y 500 revoluciones/minuto, según el tipo de palas utilizadas. La extracción se puede continuar durante 2 a 8 horas, pero la experiencia muestra que un tiempo de 5 horas era lo más apropiado con el fin de no aumentar la proporción de fibras hidrosolubles que perjudican el contenido total en activos del extracto. Al final de las cinco horas, la suspensión sufre eventualmente una filtración grosera, después una separación sólido-líquido en un decantador de flujo horizontal animado con una velocidad de rotación que varía entre 2500 y 6500 revoluciones/minuto; con el material utilizado, los mejores resultados fueron obtenidos a 3500 revoluciones/minuto. Este protocolo es variable cualquiera que sea la temperatura del agua.
- 25 La clarificación de la suspensión prosigue a continuación con una centrifugación efectuada a una velocidad comprendida entre 4000 y 8000 revoluciones/minuto. El extracto líquido así obtenido sufre durante la fase siguiente una desecación, ya sea por secado en una estufa a vacío, a una temperatura inferior a 60°C con el fin de no degradar los activos, ya sea por liofilización, o bien incluso por atomización o nebulización con el fin de obtener una fase sólida pulverulenta. Las mayores tasas de activos en el producto final se obtienen cuando el traspaso a una resina de adsorción se hace a continuación de la centrifugación.
- 30 Según la invención, cualquiera que sea el método empleado, el rendimiento de la extracción es superior al 10% en relación a la cantidad de materia prima seca de partida. En el producto final, la tasa de materia seca es superior al 90%, está comprendida más bien entre 94 y 97%. La dosificación de las proantocianidinas se puede realizar por el método de la vainillina-ácido o el método de Bate Smith, bien conocidos.
- 35 Después de la trituración, el polvo fino y homogéneo obtenido es de color rosa a violeta.
- 40 2^o caso: la extracción de las proantocianidinas se efectúa en este caso a temperatura ambiente, con ayuda de una solución hidroalcohólica cuya tasa de etanol es variable, de 20 a 80%. Las condiciones óptimas fueron obtenidas con 70% de etanol. Las condiciones operativas adoptadas son casi idénticas al caso precedente: la pulpa de arándano se introduce en el medio a razón del 10%. El tiempo de agitación de la suspensión de 3 a 5 horas es igualmente el más apropiado; esta suspensión sufre a continuación una decantación en las mismas condiciones que precedentemente. En esta etapa, una mejora de la calidad del producto se puede obtener por centrifugación y, después, traspaso a una resina de adsorción. Esto permite alcanzar mayores tasas de activos en el producto final pero, en este caso, el alcohol se debe eliminar totalmente antes de traspasar el "extracto" a la resina de adsorción. El secado se realiza, así mismo, en estufa en vacío a una temperatura que no sobrepase de 55°C o bien por liofilización. Una variante de estos procedimientos que permite obtener una fase sólida pulverulenta, consiste así mismo en someter la suspensión a una atomización.
- 45 El rendimiento de la extracción es igualmente de aproximadamente 10% de polvo seco en relación a la materia seca de partida.
- La tasa de materia seca del producto final es superior al 90%, está comprendida más bien entre 94 y 97%.
- La dosificación en proantocianidinas se efectúa igualmente por el método de la vainillina-ácido o de Bate Smith.
- Después de la trituración, el polvo fino y homogéneo es de color rosa-violeta.

Mejora del rendimiento en proantocianidinas por traspaso sobre una resina de adsorción

Principio: esta operación, cuando se domina bien, permite incrementar el rendimiento de extracción; consiste en separar las antocianinas y las proantocianidinas de otras sustancias indeseables contenidas en el extracto líquido obtenido después de agotar la pulpa de arándano mediante agua a 60°C o por la solución hidroalcohólica. Después de sufrir una clarificación por filtración grosera, decantación y después centrifugación, los polifenoles contenidos en el extracto líquido después de la eliminación del alcohol, si es que lo contienen, van a ser adsorbidos sobre la resina y el resto se elimina. Para recuperar los activos es suficiente hacer a continuación una elución.

Las columnas de absorción utilizadas son de acero inoxidable tipo 316L, rellenas de resina adsorbente de tipo sílices injertadas FPX 66 o de cualquier otra resina con propiedades equivalentes. Las resinas se activan gracias a un baño de etanol del 96% durante 24 horas como mínimo. A continuación, se aclaran con agua hasta la elución total del alcohol.

Separación de los activos: la columna preparada para este fin contiene un volumen BV (Bed volume, volumen del lecho) de resina adsorbente. Un volumen BV de extracto líquido de arándano se carga en contracorriente por la base de la columna, a una velocidad de 2BV/hora. El agua en la cual se baña la resina se elimina por arriba; así mismo, la fracción no fijada, eluída directamente, se recupera.

Cuando se ha cargado el volumen BV de extracto líquido, se efectúa un aclarado con agua, esta vez por la parte superior de la columna a una velocidad de 2 BV/hora. Tiene por finalidad eluir los compuestos no adsorbidos sobre las resinas, especialmente las sustancias no fenólicas y los azúcares; este aclarado se continúa hasta que la tasa de materia seca del eluido es inferior a 0,5%, lo que corresponde aproximadamente a un volumen de 3 BV de agua.

La recuperación de los polifenoles adsorbidos sobre las resinas se efectúa a continuación con etanol del 75%, introducido por la parte superior de la columna a razón de 2 BV/hora. La recuperación de los compuestos polifenólicos se continúa hasta la desaparición total del color violeta del eluido.

El volumen generalmente necesario para eluir la totalidad de los polifenoles adsorbidos sobre la resina es del orden de 2 BV. En esta etapa, es deseable una dosificación de los polifenoles para asegurar que la totalidad de los polifenoles, que son por lo menos del orden del 20% de la cantidad de materia seca de partida, ha sido eluída.

El eluido alcohólico recuperado, se concentra entonces en vacío parcial, a una temperatura inferior a 55°C; simultáneamente, una adición regular de agua a este medio hidroalcohólico previene cualquier riesgo de deterioro de los polifenoles. En la etapa terminal, las proantocianidinas se encuentran en un medio 100% acuoso. Como ya se ha mencionado, el producto sufre a continuación una desecación en una estufa en vacío parcial o, preferentemente, una liofilización; puede sufrir así mismo una atomización.

El polvo fino, violeta a negro, contiene en esta etapa al menos 20% de las proantocianidinas totales.

Según el método de extracción y el método de dosificación utilizados, las tasas de proantocianidinas totales (PACs) obtenidas en el extracto seco final, dicho de otro modo las tasas de pureza media, son las siguientes con 1a:

- Método de la vainillina-ácido:

o bien 1 a 10% de PACs sobre materia seca para un extracto acuoso

o bien 10 a 20% de PACs sobre materia seca para un extracto alcohólico

o bien superior a 20% de PACs sobre materia seca para un extracto después de pasar por la resina.

- Método de Bate Smith:

o bien 5 a 20% de PACs sobre materia seca para un extracto acuoso

o bien 10 a 30% de PACs sobre materia seca para un extracto alcohólico

o bien superior a 40% e incluso más del 50% de PACs sobre materia seca para un extracto después de pasar por la resina.

APLICACIONES

El extracto de pulpa de arándano, principalmente por el hecho de su riqueza en proantocianidinas especialmente de tipo A solubles a diferentes pH (y por tanto en la saliva) y de las propiedades antibacterianas, antivirales, antioxidantes, antiadhesivos, se puede utilizar a diferentes concentraciones y en formas galénicas u otras variedades, a título preventivo o curativo, para luchar contra las afecciones dentarias o de la orofaringe en el ser humano o animal.

El producto final se puede presentar finamente triturado, granulado o encapsulado especialmente en forma de comprimidos, comprimidos orodispersables, cápsulas de gelatina, pastillas a base de goma arábiga. Dada su

- compatibilidad con la mayoría de los excipientes utilizados en el sector farmacéutico, este tipo de preparación, especialmente sin problemas, se puede aromatizar con aromas afrutados o con aceites esenciales, edulcorar con aspartamo, acetilsulfamo, stevia rebaudiana, colorear con colorantes alimentarios autorizados. Así mismo, como es igualmente compatible con los gelificantes tales como las pectinas, las gomas (xantano, goma arábica, gelano), las dextrinas, los emulsionantes, los polisacáridos, los glucomananos, los polioles tales como sorbitol, xilitol, maltitol, lactilol, se puede incluir, por ejemplo, en las tabletas de goma de mascar a base de polioles y de glicerina, incorporar en los dentífricos en forma de pastas o de geles a base de resinas carboxivinílicas, en los colutorios de boca por disolución en agua con glicerina y, de una manera general, en cualquier forma sólida, líquida o pastosa, administrada por vía oral y que permita su liberación y disolución a nivel bucal y de la orofaringe.
- 5
- 10 La eficacia de estas proantocianidinas sobre las bacterias bucales fue probada en ensayos antibacterianos y ensayos de adherencia realizados con tres tipos de extractos de arándano, cuyas concentraciones son respectivamente de 2 mg/ml, 5 mg/ml y 10 mg/ml, denominados para la experimentación Exocyan cran 1, Exocyan cran 2 y Exocyan cran 10; cada uno de estos extractos fue preparado a partir de extractos secos de proantocianos titulados al 1%, 2% y 10%, lo que quiere decir que, por ejemplo la serie exocyan cran 1, preparada a partir de extractos secos al 1% permitió obtener los tres tipos de extractos en concentraciones respectivas de 2 mg/ml, 5 mg/ml y 10 mg/ml.
- 15

Ensayos antibacterianos:

- La eficacia de los extractos de arándano se puede evaluar in vitro. Los productos se consideran como que tienen un carácter bacteriostático cuando el número de gérmenes disminuye por lo menos en 1/10 (un log vs testigo) o son considerados como bactericidas cuando se obtiene la inhibición total del cultivo bacteriano.
- 20

Si los extractos se consideran como activos in vitro en relación con un medio testigo que reproduce el medio salivar, cabe esperar a que tengan la misma actividad in vivo; la saliva, asegurando la dispersión de las proantocianidinas en la cavidad bucal, la garganta y el sistema digestivo, permite que el activo se ponga en contacto con las células de las mucosas e inhiba la formación de la biopelícula.

- 25 Resultados: se ha constatado que los tres extractos en la concentración de 10 mg/ml tienen una actividad bacteriostática sobre Streptococcus mutans, lo que permite pensar que tienen una actividad bactericida a una concentración superior (efecto dosis dependiente).

Sólo el extracto Exocyan cran 10, a la concentración de 10 mg/ml, tiene una actividad bacteriostática sobre Porphyromonas gingivalis.

- 30 Fusobacterium nucleatum es la bacteria más sensible a los tres extractos en la concentración de 10 mg/ml ; Exocyan cran 1 y Exocyan cran 10 tienen una actividad bactericida mientras que Exocyan cran 2 muestra una actividad bacteriostática.

El crecimiento de Lactobacillus rhamnosus no se modifica por ninguno de los extractos, y esto cualquiera que sea su concentración.

- 35 **Control del efecto antiadhesivo:**

Las bacterias tienen la propiedad de adherirse las unas a las otras para formar una biopelícula bajo la cual proliferan los microorganismos responsables de las caries, la gingivitis y las enfermedades paradontales.

Se considera que se tiene un resultado positivo cuando se produce una inhibición total o parcial de la biopelícula ("scores" puntuaciones de 0 a 3), obteniéndose la inhibición más débil con la puntuación más elevada.

- 40 Se ha observado que los tres extractos a concentraciones de 5 mg/ml tienen una acción sobre la biopelícula de Streptococcus mutans; ocurre lo mismo para Exocyan cran 1 y 10 a la concentración de 10 mg/ml (puntuación = 1); sin embargo, Exocyan cran 1 muestra una actividad inhibidora más débil (puntuación = 3) que los demás extractos.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la obtención de un extracto de arándanos, **caracterizado porque** a partir de las bayas de arándano, género *Vaccinium macrocarpon* y/o *Vaccinium oxycoccus*, se obtiene un extracto de pulpa de arándano que contiene un gran porcentaje de proantocianidinas de tipo A, comprendido entre 1% y más de 20% con el método de la vainillina-ácido y entre 5% y más del 50% con el método de Bate Smith, el cual presenta propiedades antibacterianas, antivirales y antiadhesivas:
- por prensado de la baya,
 - después, extracción de las proantocianidinas contenidas en la pulpa así obtenida con ayuda de una solución acuosa en caliente o a la temperatura ambiente, o de una solución hidroalcohólica a temperatura ambiente, operación que va seguida de técnicas de separación sólido-líquido conocidas,
 - después, traspaso sobre una resina de adsorción de tipo sílices injertadas, la cual permite aislar las antocianinas y las proantocianidinas de las sustancias indeseables y
 - recuperación a partir del eluido de estas mismas proantocianidinas en forma de polvo seco, por secado en vacío o liofilización o atomización o nebulización.
2. Procedimiento para la obtención de un extracto de arándanos según la reivindicación 1, **caracterizado porque** el extracto de la pulpa de arándano se obtiene por extracción acuosa de las proantocianidinas a partir de la pulpa de arándano triturada, después se mezcla con agua en una proporción de 5 a 20% a temperatura ambiente o calentada a una temperatura comprendida entre 50 y 70°C, todo ello mantenido bajo agitación a una velocidad constante comprendida entre 200 y 500 revoluciones/minuto durante 2 a 8 horas, separándose a continuación las materias hidrosolubles que contienen las proantocianidinas de las materias insolubles, por filtración grosera, traspaso a un decantador de flujo horizontal cuya velocidad de rotación está comprendida entre 2500 y 6500 revoluciones/minuto, centrifugación y después aislamiento por traspaso sobre una resina de adsorción de tipo sílices injertadas, recuperación y desecación por secado en vacío o liofilización o atomización o nebulización, con el fin de obtener una fase sólida pulverulenta.
3. Procedimiento para la obtención de un extracto de arándanos según la reivindicación 1, **caracterizado porque** el extracto de la pulpa de arándano se obtiene por extracción hidroalcohólica de las proantocianidinas a partir de la pulpa de arándano triturada, después se mezcla a razón de 5 a 20% con la solución acuosa que contiene 20 a 80% de etanol, todo ello mantenido bajo agitación a una velocidad constante comprendida entre 200 a 500 revoluciones/minuto, a temperatura ambiente, durante 2 a 8 horas, separándose entonces las materias solubles que contienen las proantocianidinas de las materias insolubles por filtración grosera, traspaso a un decantador de flujo horizontal cuya velocidad de rotación está comprendida entre 2500 y 6500 revoluciones/minuto, centrifugación y después aislamiento por traspaso sobre una resina de adsorción de tipo sílices injertadas, después de la eliminación del alcohol, recuperación y desecación por secado en vacío, liofilización, atomización o nebulización, con el fin de obtener una fase sólida pulverulenta.
4. Procedimiento para la obtención de un extracto de arándanos según la reivindicación 2, **caracterizado porque** el extracto de arándanos obtenido por extracción acuosa de las proantocianidinas a partir de la pulpa de arándanos triturada, se mezcla en una proporción de 10% de agua a temperatura ambiente o calentada a una temperatura de 60°C, todo ello mantenido bajo agitación a una velocidad constante comprendida entre 200 y 500 revoluciones/minuto durante un tiempo de cinco horas, separándose a continuación las materias hidrosolubles que contienen las proantocianidinas de las materias insolubles por filtración grosera, traspaso a un decantador de flujo horizontal cuya velocidad de rotación es de 3500 revoluciones/minuto, centrifugación, después aislamiento por traspaso sobre una resina de adsorción de tipo sílices injertadas, recuperación y desecación por secado en vacío o liofilización o atomización o nebulización, con el fin de obtener una fase sólida pulverulenta.
5. Procedimiento para la obtención de un extracto de arándanos según la reivindicación 3, **caracterizado porque** el extracto de arándanos se obtiene por extracción hidroalcohólica de las proantocianidinas a partir de la pulpa de arándano triturada, después se mezcla en la proporción de 10% con la solución acuosa que contiene 70% de etanol, todo ello mantenido bajo agitación a una velocidad constante comprendida entre 200 a 500 revoluciones/minuto, a temperatura ambiente, durante un tiempo de 5 horas, separándose entonces las materias solubles que contienen las proantocianidinas de las materias insolubles por filtración grosera, traspaso a un decantador de flujo horizontal cuya velocidad de rotación es de 3500 revoluciones/minuto, centrifugación y después aislamiento por traspaso sobre una resina de adsorción de tipo sílices injertadas después de la eliminación del alcohol, recuperación y desecación por secado en vacío, liofilización, atomización o nebulización, con el fin de obtener una fase sólida pulverulenta.
6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado porque** después de pasar sobre la resina de adsorción de tipo sílices injertadas, el rendimiento de la extracción obtenido por medio de una solución acuosa o por medio de una solución hidroalcohólica es superior al 10% en relación a la cantidad de materia seca de partida, y la tasa de materia seca en el producto final es superior al 90%.

7. Procedimiento según la reivindicación 6, **caracterizado porque** la tasa de materia seca en el producto final está comprendida entre 94 y 97%.

5 8. Extracto de arándano **caracterizado porque** se obtiene a partir de la pulpa de arándano según las reivindicaciones 1, 2 o 3, y comprende proantocianidinas de tipo A, con propiedades antibacterianas, antivirales y antiadherentes, para ser utilizado, asociado con excipientes farmacéuticos y en formas galénicas u otras, tales como comprimidos, tabletas de goma de mascar, dentífricos, colutorios de boca, a título preventivo o curativo, para el tratamiento de afecciones dentarias o de la orofaringe, en el caso del ser humano o animal.

Ensayos antibacterianos

Número de bacterias expresadas en log₁₀ UFC/ml

	L.rahmnosus	S.mutans	P.gingivitis	F.nucleatum
Testigo	9,45	8,92	8,54	8,35
Exocyan Cran 1	9,47	8,63	8,47	8,49
Exocyan Cran 2	9,49	8,88	8,76	8,50

Concentración de los productos: 2 mg/ml

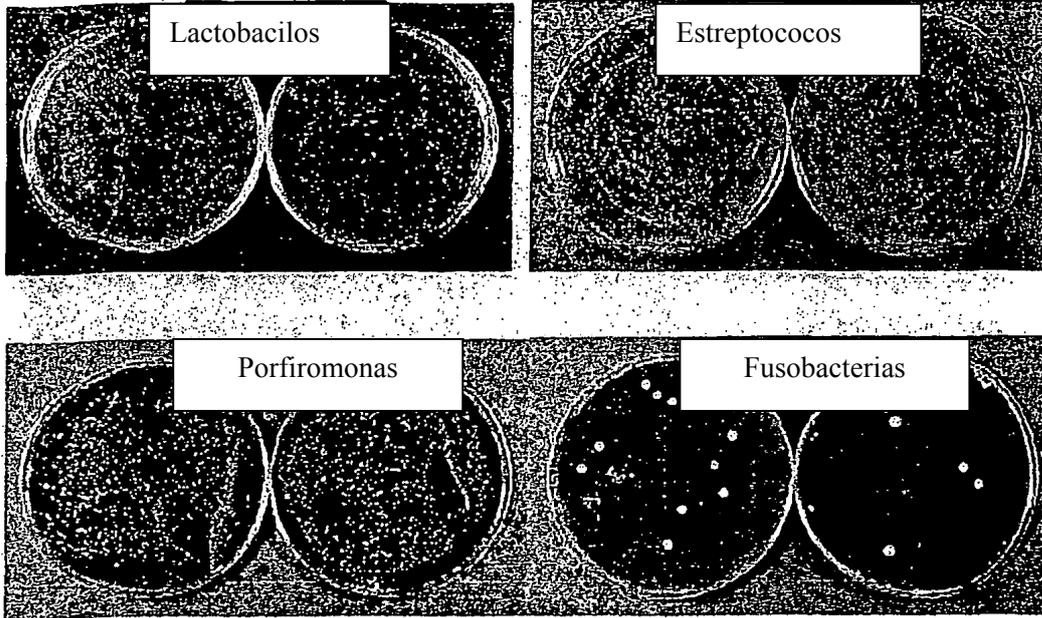
	L.rahmnosus	S.mutans	P.gingivitis
Testigo	9,32	8,40	8,68
Exocyan Cran 1	9,31	8,48	8,62
Exocyan Cran 2	9,45	8,08	8,78
Exocyan Cran 10	9,47	8,1	8,54

Concentración de los productos: 5 mg/ml

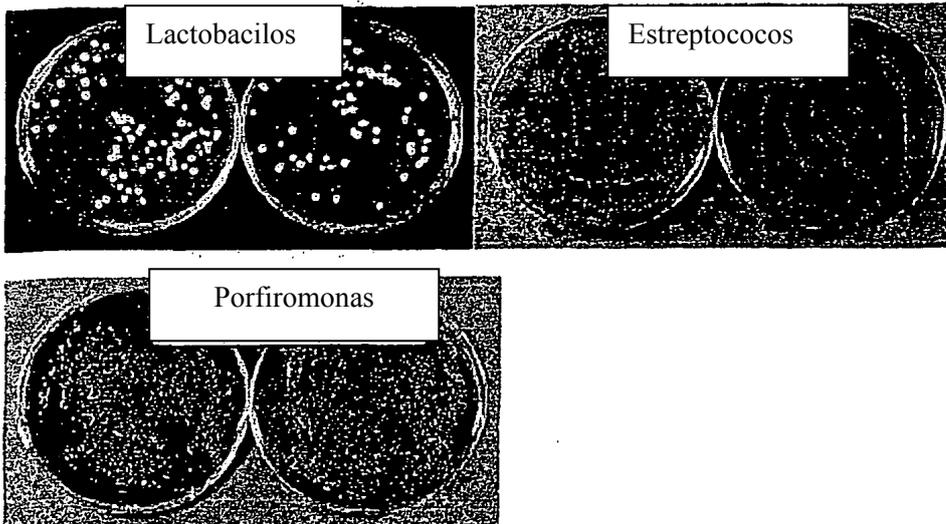
	L.rahmnosus	S.mutans	P.gingivitis	F.nucleatum
Testigo	9,43	8,63	8,63	6,02
Exocyan Cran 1	9,48	7,78	8,75	0
Exocyan Cran 2	9,39	7,28	8,52	5,74
Exocyan Cran 10	9,25	5,70	7,7	0

Concentración de los productos: 10 mg/ml

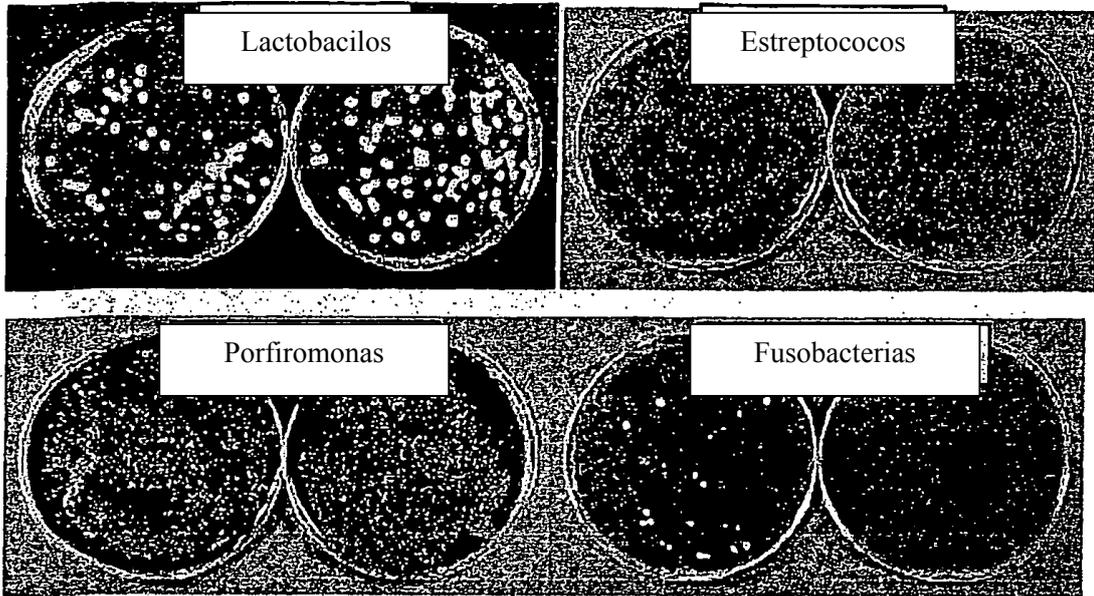
Exocyan Cran 1 : 2mg/ml



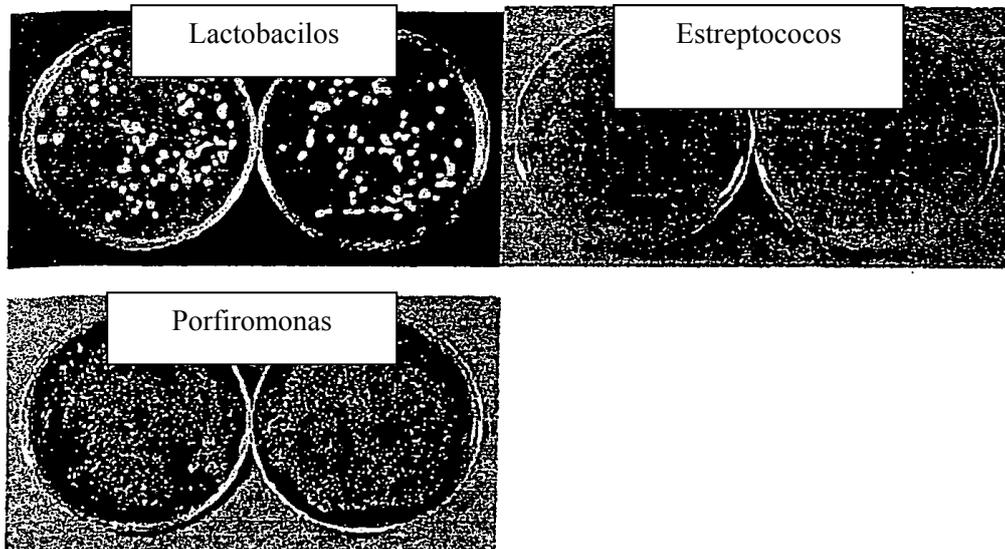
Exocyan Cran 1 : 5mg/ml



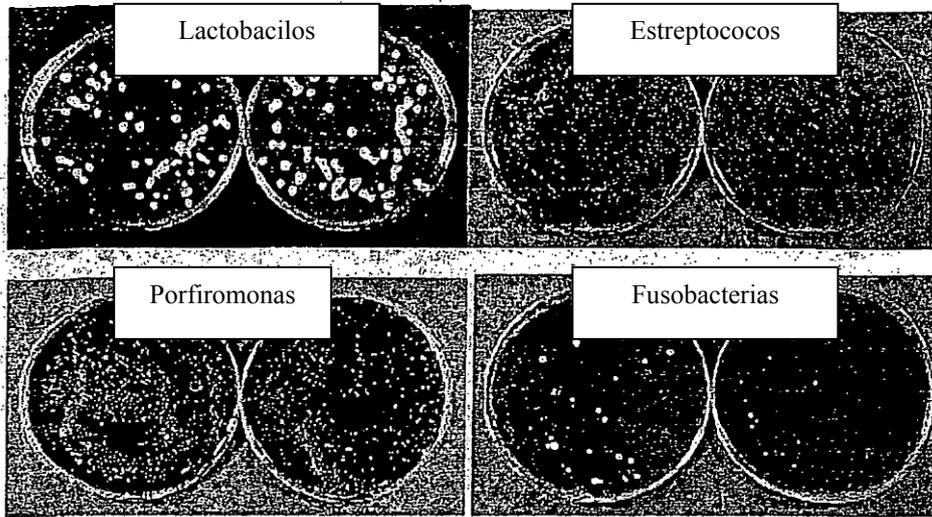
Exocyan Cran 1 : 10mg/ml



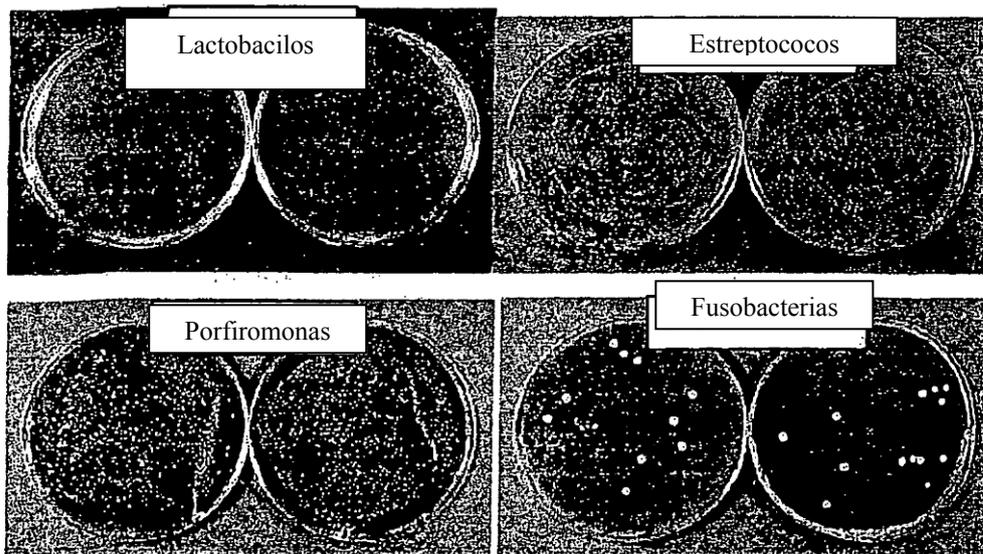
Exocyan Cran 2 : 5mg/ml



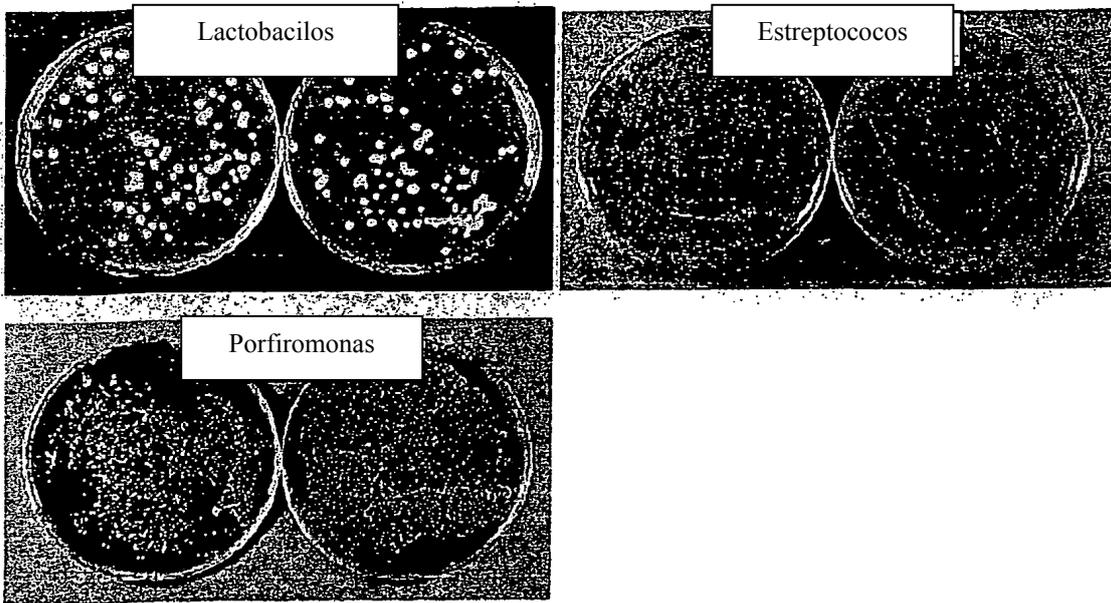
Exocyan Cran 2 : 10mg/ml



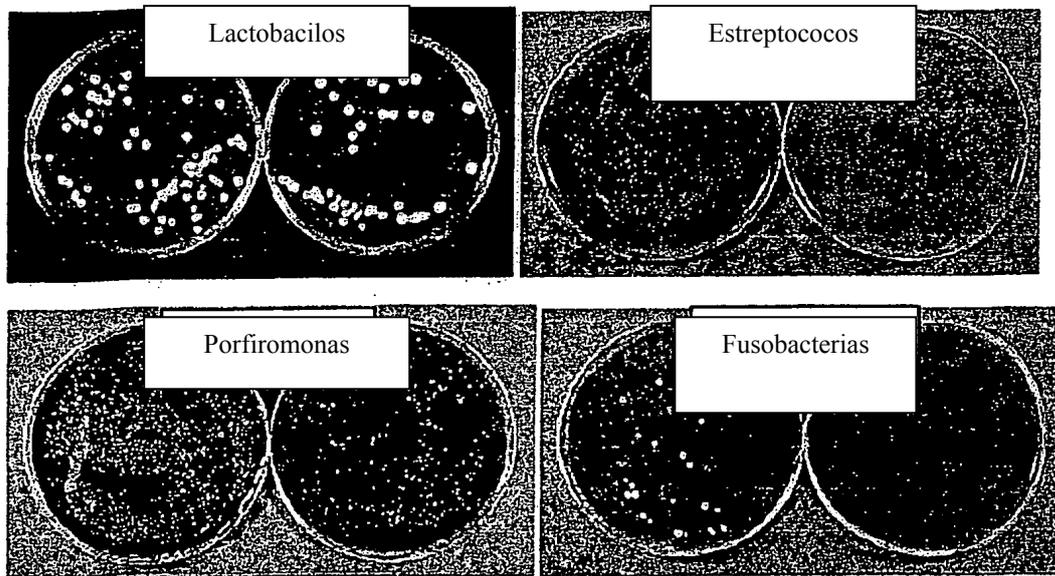
Exocyan Cran 10 : 2mg/ml



Exocyan Cran 10 : 5mg/ml

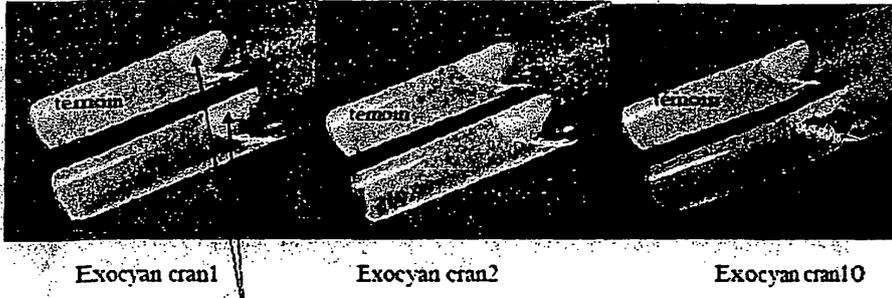


Exocyan Cran 10 : 10mg/ml



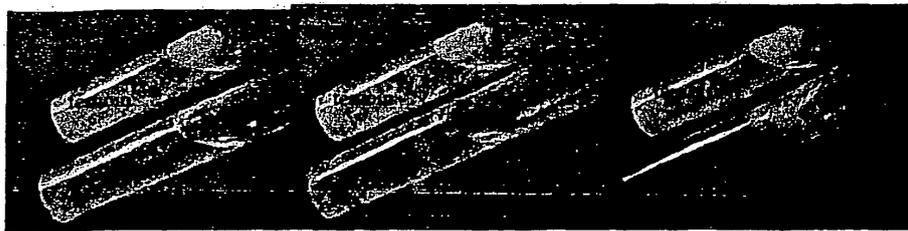
Ensayos de adherencia

Concentración 2 mg/ml



Ninguna inhibición: es visible una biopelícula espesa y fuertemente adherente (score 4)

Concentración 5 mg/ml



Exocyan cran1
Ligera inhibición
biopelícula más fina
(score 3)

Exocyan cran2 Exocyan cran10
Inhibición más marcada
biopelícula no adherente a las paredes (score 1)