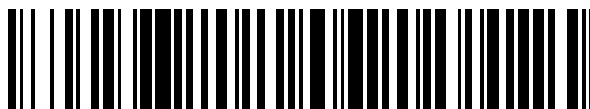


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 532 852**

51 Int. Cl.:

A23K 1/14	(2006.01) A23L 1/30	(2006.01)
A23K 1/16	(2006.01) A23L 1/0528	(2006.01)
A23K 1/175	(2006.01) A23L 1/164	(2006.01)
A23K 1/18	(2006.01) A23L 1/18	(2006.01)
A23L 1/03	(2006.01)	
A61K 36/28	(2006.01)	
A61K 36/74	(2006.01)	
A61K 36/48	(2006.01)	
A61P 29/00	(2006.01)	
A61P 35/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.06.2003 E 08010165 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.01.2015 EP 1969951**

54 Título: **Extracto de café extruido para su uso en el tratamiento de la osteoartritis**

30 Prioridad:

26.06.2002 US 391739 P

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

01.04.2015

73 Titular/es:

**NESTEC S.A. (100.0%)
Avenue Nestlé 55
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**MALNOE, ARMAND;
CAVIN, CHRISTOPHE;
OFFORD, CAVIN ELIZABETH y
GRIGOROV, MARTIN**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 532 852 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

Extracto de café extruido para su uso en el tratamiento de la osteoartritis

5 La presente invención se refiere a composiciones que incluyen material de plantas extrusionado, térmicamente procesado, tal como achicoria y/o sus extractos, para mejorar la salud en humanos y animales. El material de plantas deriva, por ejemplo, de la familia de plantas *Asteraceae* que contiene cantidades deseables y efectivas de lactonas de sesquiterpeno, produciendo por tanto un fragmento activo de las mismas, tal como la α -metilen- γ -butirolactona (α -MGBL) al calentarse u otras plantas, tales como café, que contienen la misma, o sustancialmente la misma, clase de compuestos.

Más específicamente, la presente invención se refiere a composiciones que comprenden un extracto de café extrusionado, térmicamente procesado, para su uso en la reducción del riesgo de osteoartritis.

15 Antecedentes de la invención

La necesidad de mejorar la salud, en mamíferos, ha involucrado, y continúa involucrando, continuos esfuerzos de investigación y descubrimientos, para prevenir y/o tratar enfermedades. Así, por ejemplo, a partir de una inflamación, puede aparecer una irritación o incomodidad, en un mamífero, debido, por ejemplo, a una inflamación en la piel, una inflamación en los ojos, una inflamación en el intestino, o por el estilo. Adicionalmente, además, se cree, de una forma general, el hecho de que, la inflamación crónica, puede incrementar el riesgo de desarrollar otra enfermedad o achaque, tal como, por ejemplo, la osteoartritis, la enfermedad inmune, cáncer, o por el estilo. En este sentido, se entiende, de una forma general, el hecho de que, la inflamación, se desencadena mediante una actividad de transcripción del factor NF κ B, aumentada, la cual conduce a la expresión de enzimas y receptores de proinflamación y de inflamación. De una forma más específica, puede acontecer una inflamación, debido a la actividad enzimática aumentada, en los mamíferos, tal como la consistente en una actividad de oxigenasa incrementada, incluyendo la ciclooxigenasa-1, la ciclooxigenasa-2 y por el estilo.

De una forma general, se conoce el hecho de que, los dietéticos, y otras fuentes nutricionales, contienen un determinado número de constituyentes o agentes, los cuales se cree que son capaces de proteger contra enfermedades, a los humanos y a los animales. Así, por ejemplo, los oligosacáridos, tales como la inulina, y varios fructo-oligosacáridos, según se reporta, tienen efectos prebióticos, tales como el de fomentar el crecimiento de bifido- y lacto-bacterias, en el tracto gastro-intestinal, a expensas de patógenos, incluyendo, por ejemplo, al *Clostridium perfringens*. Véase, por ejemplo, Gibson et al., *Food Microbiology*, 11, paginas 491 – 498 (1994). Si bien la mayoría de experimentaciones reportadas, se han llevado a cabo in vitro, ha habido reportes, en los que se dice que, estos oligosacáridos, tienen un efecto similar, en el intestino de ratas y de humanos. En este sentido, se conoce, de una forma general, el hecho de que, la promoción del crecimiento del crecimiento de bifido- y lacto-bacterias, mediante la utilización de oligosacáridos, puede proporcionar una variedad de efectos beneficiosos, en animales y en humanos, tales como la prevención y/o el tratamiento de la diarrea, crecimiento incrementado, capacidad mejorada para engendrar, u otros efectos beneficiosos semejantes, los cuales mejoran la salud.

La inulina y otros agentes patógenos, los cuales se cree que fomentan la salud, en humanos y en animales, tal y como se ha comentado anteriormente, en general, pueden derivar de las plantas o de otras fuentes naturales. Así, por ejemplo, se conoce, de una forma general, el hecho de que, la inulina, se purifica a partir de plantas que contienen altas concentraciones de inulina, tales como la achicoria, la alcachofa de Jerusalén, el puerro y los espárragos. En este sentido, la planta, de una forma típica, se purifica, o de otro modo, se trata antes de su uso, con objeto de mejorar un sabor de planta, de tal forma que se elimine, o por lo menos se minimice, un sabor amargo, típicamente asociado con la achicoria. Véase, por ejemplo, la patente estadounidense US nº 4.864.852.

De una forma general, el producto de planta purificado, se prepara mediante hidrolización con ácidos o enzimas. A continuación, se procede a recoger y condensar el hidrolizado, para obtener el agente bioactivo, tal como la inulina. Así, por ejemplo, la patente japonesa JP 63-309147, da conocer el molido de tubérculos de achicoria, hidrolizándolos parcialmente con ácidos y, a continuación, secando el hidrolizado con neutralización o sin ella. No obstante, la purificación de, por ejemplo, fructo-oligosacáridos e inulina, puede incrementar enormemente el coste del producto dietético. Por consiguiente, el uso de tales tipos de productos dietéticos, se ha limitado, de una forma general, a alimentos o productos dietéticos especiales, en humanos y animales.

Las composiciones que comprenden extractos de café, en particular ésteres del ácido cafeico, se conocen en cosméticos por sus propiedades antiinflamatorias (véase el documento WO02/094210 A2). Las composiciones de bebida que comprenden café y componentes del café, tales como cafestol y kahweol, se conocen por sus funciones beneficiosas como composiciones anticancerosas (véase CN1113114A, Huggett y Schilter, coloquio Internacional científico sobre el café, vol. 2 págs 65-72 (1995) y Hubert et al. Archivos de Toxicología, 76 (4) págs. 209-217 (2002))

65 Existe por lo tanto una necesidad, en cuanto al hecho de poder disponer de una composición que incluya ingredientes naturales, tales como la achicoria térmicamente procesada y/o extractos de ésta, los cuales sean

sabrosos, en humanos y animales, las cuales puedan producirse de una forma barata, y que puedan mejorar la salud en humanos y en animales, tal como la prevención y/o tratamiento de la inflamación.

Resumen de la invención

5 La presente invención, se refiere a composiciones, las cuales se encuentran definidas en las reivindicaciones anexas, que pueden utilizarse para mejorar la salud en humanos y animales, particularmente para la prevención y/o tratamiento de la inflamación. La composición de la presente invención incluye uno o más agentes fitoquímicos derivados de una fuente vegetal extrusionada, térmicamente procesada.

10 Los solicitantes, han demostrado el hecho de que, los extractos de raíces de achicoria, contienen uno o más productos fitoquímicos con la capacidad de inhibir actividad enzimática y/o de transcripción, en mamíferos, tal como la actividad enzimática relativa a la ciclooxigenasa, y la actividad de transcripción relativa al NF-κB. Los solicitantes, han demostrado adicionalmente el hecho de que, los extractos térmicamente procesados de raíces de achicoria extrusionadas, poseen una actividad de inhibición enzimática mejorada, relativa a la ciclooxigenasa y/o la inhibición
15 mejorada, relacionada con el NF-κB. Los solicitantes, han demostrado una relación entre la mejora de la inhibición con la generación, durante el procesamiento térmico, de una especie molecular activa, a saber, la α-metilen-γ-butirolactona (α-MGBL).

20 En este sentido, ha sido probado el hecho de que, la inhibición de tal tipo de actividad enzimática / de transcripción, previene y/o trata la inflamación, en mamíferos. Mediante la inhibición del proceso de inflamación, puede reducirse el riesgo de incidencia de otra enfermedad o achaques, tales como el cáncer, los cuales se cree que resultan de la inflamación (por ejemplo, la inflamación crónica).

25 Con esta finalidad, en una forma de presentación de la presente invención, se proporciona una composición nutritiva. La composición incluye una cantidad terapéuticamente efectiva de un material de plantas que incluye uno o más extractos de café extrusionados, térmicamente procesados, capaces de inhibir la actividad enzimática para prevenir y/o tratar la inflamación en un mamífero. De una forma preferible, el material de plantas comprende una cantidad de por lo menos un porcentaje correspondiente a un 0,5% en peso.

30 El material de plantas, en una forma de presentación, deriva de la familia de plantas *Asteraceae* o de algunas otras plantas, tales como la del café. De una forma preferible, el material de plantas deriva del café.

35 Las composiciones pueden incluir otros agentes dietéticos, derivados de la fuente de plantas, además de los agentes fitoquímicos. Estos agentes dietéticos, pueden incluir cualquier constituyente apropiado, capaz de inhibir la actividad enzimática asociada con la ciclooxigenasa. En una forma de presentación, los agentes dietéticos, además de a los productos fitoquímicos, incluyen a los antioxidantes, glucosalina, condroitina sulfato, ácidos grasos omega-3, cualesquiera otros agentes dietéticos apropiados, y combinaciones de éstos.

40 La presente invención, proporciona, también, un producto alimenticio para animales domésticos. El producto para animales domésticos, incluye una matriz de almidón; y una cantidad efectiva de un extracto de café, extrusionado, térmicamente procesado, el cual incluye un agente fitoquímico capaz de inhibir la actividad enzimática, en un mamífero, para reducir un riesgo de inflamación.

45 En otra forma de presentación de la presente invención, se proporciona un procedimiento para preparar un producto alimenticio nutritivo capaz de reducir el riesgo de incidencia de inflamación en un mamífero. El procedimiento se define en las reivindicaciones anexas, incluye las etapas de proporcionar un material de planta; incluyendo el procesamiento térmico del material de planta formar un extracto de planta que incluya uno o más agentes fitoquímicos capaces de inhibir la actividad enzimática en el mamífero; y procesar el extracto de planta y uno o más
50 ingredientes alimenticios para formar el producto alimenticio nutritivo que incluya por lo menos un porcentaje del 1%, en peso, del extracto de planta.

De una forma preferible, el extracto de café, se procesa desgrasando el material de café, para formar un primer extracto de café y, posteriormente, procesar el primer extracto de café, con acetato de etilo, vía hidrólisis ácida, para formar el extracto de plantas.

55 La presente invención, proporciona, también, el uso de una cantidad terapéuticamente efectiva de un extracto de café extrusionado, térmicamente procesado, incluyendo uno o más agentes fitoquímicos capaces de inhibir la actividad enzimática en el mamífero, para la preparación de una composición pretendida para reducir el riesgo de inflamación en un mamífero en riesgo de inflamación. Con una actividad enzimática disminuida, el riesgo de
60 inflamación en el mamífero, puede reducirse, reduciendo con ello un riesgo de otros achaques o enfermedades, tales como la osteoartritis, las cuales pueden resultar a raíz de la inflamación.

Una ventaja de la presente invención, es la de proporcionar una composición mejorada, la cual puede utilizarse para reducir el riesgo de incidencia de inflamación en mamíferos. En este sentido, la composición, es capaz de inhibir la
65 actividad enzimática, cuyo resultado se cree que trata y/o previene la inflamación.

Otra ventaja de la presente invención, es la de proporcionar una composición mejorada, la cual incluya un extracto de café que contenga uno o más productos fitoquímicos, capaces de inhibir una actividad enzimática, tal como la relativa a la ciclooxigenasa, la cual se cree que previene y/o trata la inflamación, en mamíferos.

5 Todavía otra ventaja de la presente invención, es la de proporcionar procedimientos para producir composiciones mejoradas, que contengan un extracto de café, el cual pueda mejorar la sabrosidad de la composición, al mismo tiempo que mantener las propiedades de inhibición enzimática del material de plantas, que sean capaces de reducir el riesgo de inflamación en mamíferos.

10 Aún todavía otra ventaja de la presente invención, es la de proporcionar procedimientos de tratamiento y/o prevención contra la inflamación en mamíferos, que incluyan la administración de una composición mejorada.

Ventajas y características adicionales de la presente invención, se describen en la descripción detallada de la invención, la cual se facilita a continuación, y éstas resultarán evidentes, a raíz de dicha descripción.

15 Breve descripción de los dibujos

La figura 1 ilustra la inhibición de la expresión de COX-2 en células HT29, mediante la α -metilen- γ -butirolactona (α -MGBL), de acuerdo con una forma de presentación de la presente invención.

20 Descripción detallada de la invención

La presente invención, se refiere a composiciones tal y como se definen en las reivindicaciones anexas.

25 Los solicitantes, han descubierto, de una forma sorprendente, el hecho de que, mediante el procesado térmico, ciertas plantas y/o extractos de plantas de éstas, tales como la achicoria, los productos fitoquímicos, y por el estilo, pueden generarse con una inhibición mejorada de la actividad enzimática de la ciclooxigenasa y/o la actividad de transcripción mejorada del NF- κ B, en mamíferos, la cual se cree que reduce el riesgo de inflamación, incluyendo, por ejemplo, a la inflamación de la piel, la inflamación de los ojos, la inflamación del intestino, la inflamación del colon, y por el estilo. En una forma de presentación, la actividad enzimática, deriva de la ciclooxigenasa, tal como la ciclooxigenasa-1 y /o la ciclooxigenasa-2.

Los solicitantes, han demostrado, mediante tests de ensayo, el hecho de que, los extractos tales como los extractos de plantas estrusionados, térmicamente procesados, particularmente, los extractos de achicoria, pueden inhibir la actividad ciclooxigenasa, así como la actividad de transcripción del NF- κ B. De una forma particular, se cree que, los extractos de café, extrusionados, térmicamente procesados, tienen un efecto más pronunciado en la inhibición de la ciclooxigenasa-2, si se compara con la ciclooxigenasa-1. Así, de este modo, se cree que, la inhibición de este tipo de actividad enzimática, reduce la inflamación en mamíferos. Se cree que, mediante la reducción de la inflamación, puede reducirse el riesgo de incidencia de otras enfermedades o achaques que se cree que resultan de la inflamación, particularmente, los niveles crónicos de inflamación. Los otros tipos de enfermedades, pueden incluir, por ejemplo, al cáncer, la enfermedad autoinmune, la osteoartritis, y combinaciones de éstas.

Además de los productos fitoquímicos, tal y como se ha comentado anteriormente, es conocido el hecho de que, las plantas, tales como la achicoria, contienen también fibras prebióticas, tales como los oligosacáridos, incluyendo a la inulina, que se cree que reducen la incidencia del cáncer, particularmente, en el colon. En este sentido, los solicitantes, creen que, pueden realizarse los beneficios mejorados, debido al efecto combinado de las fibras prebióticas y productos fitoquímicos, que pueden inhibir la actividad enzimática, para prevenir y/o tratar la inflamación en mamíferos, particularmente, la inflamación crónica, la cual puede provocar cáncer, tal como el cáncer de colon, si la inflamación permanece no tratada.

Los solicitantes, han demostrado también el hecho de que, las propiedades de inhibición enzimática de la composición (por ejemplo, extrusionada), térmicamente procesada, de la presente invención, se ven esencialmente inafectadas por las condiciones de procesado, bajo las cuales, las composiciones se preparan de acuerdo con la presente invención. Así, por ejemplo, la purificación del material de plantas, realizado en concordancia con la presente invención, el cual puede utilizarse para reducir el amargor del extracto de planta y, así, de este modo, mejorar la apetitividad, tiene unos efectos inapreciables, si es que los tiene, en las propiedades nutricionales de producto purificado resultante. En este sentido, el producto de extracto resultante, puede resultar de extractos de plantas crudos, tales como la achicoria. Esto puede eliminar la necesidad para una cara purificación u otro tratamiento por el estilo, del material de plantas necesario para producir las fracciones bioactivas resultantes.

Tal y como se utiliza en este documento, el término "bioactivo", u otros términos semejantes, tales como "fracciones bioactivas", significan cualquier constituyente o constituyentes que puedan exhibir una actividad biológica, una actividad química, o una actividad semejante, en un mamífero o mamíferos, que sean capaces de mejorar la salud en un mamífero. Los ejemplos de agentes bioactivos, incluyen, por ejemplo, a las fibras prebióticas, los productos fitoquímicos y por el estilo.

Tal y como se utiliza en este documento, el término “prebiótico”, u otros términos semejantes, incluyendo el de “fibras prebióticas”, significa una sustancia o un constituyente, el cual pueda fomentar el crecimiento de microorganismos en mamíferos.

5 Tal y como se utiliza en este documento, el término “producto fitoquímico”, u otros términos semejantes, incluyendo el de “productos fitoquímicos”, y el de “agente fitoquímico”, significa cualquier producto químico producido por una planta, que se cree que imparta beneficios en la salud, en humanos y/o animales, tales como la prevención y/o el tratamiento de la inflamación u otras enfermedades semejantes.

10 Tal y como se utiliza en este documento, el término “procesamiento térmico”, u otros términos semejantes, tales como el de “extrusión”, “extruyendo” y “extrusionado”, significa el calentamiento del material crudo de planta y/o extracto de planta por encima de una temperatura convencional (por ejemplo, 25° Celsius o 278 Kelvin) en un dispositivo especializado, tal como un horno o una extrusora, o cualquier dispositivo similar, capaz de aumentar la temperatura del material tratado.

15 La composición puede incluir cualesquiera tipos y cantidades apropiados y compatibles de constituyentes, de tal forma que, la composición, pueda utilizarse de una forma efectiva, para prevenir y/o tratar la inflamación. En una forma de presentación, la composición, incluye un extracto de café, que contiene una o más fibras prebióticas y agentes fitoquímicos, que son capaces de inhibir la actividad enzimática, tal como la actividad enzimática relativa a la ciclooxigenasa. Se cree que, éste, es responsable para el tratamiento y/o la prevención de la inflamación.

20 Debería apreciarse el hecho de que, el extracto de café, puede procesarse para formar un extracto, en una variedad de formas diferentes y apropiadas. De una forma general, el material de planta, tal como la raíz de la achicoria, se muele, se pulveriza o se provee de una forma apropiada. El material de planta, puede a continuación procesarse adicionalmente, en un determinado número de etapas diferentes, para producir el extracto del producto. En una forma de presentación, se realiza un procedimiento de desengrase, en el material de planta, para producir un extracto que resulta de las grasas retiradas del material de planta. El procedimiento de desengrase, puede llevarse a cabo mediante cualesquiera condiciones de procesamiento de desengrase, con cualesquiera tipos y cantidades apropiadas de disolventes, incluyendo, por ejemplo, al hexano.

25 En una forma de presentación, el extracto resultante del procedimiento de desengrase, puede procesarse adicionalmente, vía hidrólisis ácida, para producir otro tipo de extracto de planta, el cual puede añadirse a la composición de la presente invención. El procedimiento de hidrólisis ácida, puede llevarse a cabo mediante cualesquiera condiciones de procesamiento de desengrase, con cualesquiera tipos y cantidades apropiadas de disolventes, incluyendo, por ejemplo, al acetato de etilo.

30 En una forma de presentación, el extracto procedente del procedimiento de desengrase, puede procesarse adicionalmente, vía un procedimiento de extracción con disolvente. La extracción con disolvente, puede llevarse a cabo mediante cualesquiera condiciones de procesamiento y en presencia de cualesquier cantidad y tipo apropiados de disolvente. En una forma de presentación, el disolvente, incluye una solución de metanol (“MeOH”) y agua, mezclados en un valor de relación de 1:1, referido a volumen. La solución resultante del procedimiento de extracción del disolvente, puede procesarse adicionalmente, mediante la evaporación del disolvente, bajo unas condiciones apropiadas, para producir otro extracto. De una forma alternativa, la solución resultante puede tratarse con un agente adsorbente, tal como polivinilpirrolidona, o por el estilo, para atrapar polifenoles. El tratamiento con agente adsorbente, puede llevarse a cabo bajo cualesquiera condiciones de procesamiento apropiadas. Los ejemplos específicos de preparación de los extractos de planta, en concordancia con una forma de presentación de la presente invención, se detallan más adelante.

35 En una forma de presentación, el material crudo de planta molido, se procesa térmicamente. Los solicitantes, han demostrado el hecho de que, de esta forma, el material de planta, crudo, el cual, de una forma natural, contiene lactonas de sesquiterpeno (SQLs), se enriquece en una especie inhibitoria de COX2, altamente activa, a saber, la α -metilen- γ -butirolactona (α -MGBL). De hecho, esta molécula, exhibe una estabilidad térmica mejorada, comparado con otras SQLs. Así, por ejemplo, se demostró el hecho de que, esta especie molecular, inhibe la actividad inflamatoria, en parte, a través de la interacción directa con el factor transcripcional NF- κ B y la inhibición de su enlace al DNA. Se propuso el hecho de que, la inhibición, resultaba de la alquilación de un preciso aminoácido Cys³⁸, en el dominio p65 del NF κ B. La inhibición, tiene como resultado la disminución de la expresión de varios receptores proinflamatorios e inflamatorios y enzimas, entre las cuales, se encuentra la ciclooxigenasa-II. La SQLs, en general, y la α -MGBL, de una forma particular, inhiben la actividad COX-2 y/o su expresión. Los solicitantes, han demostrado el hecho de que, la α -CH₂- γ -butirolactona, inhibe específicamente, y con gran potencia, la actividad COX-2.

40 En una forma de presentación, la fibra o fibras prebióticas y el agente o agentes fitoquímicos de la composición, pueden derivar de un extracto común o del mismo café. Tal y como se ha comentado previamente, los solicitantes, creen que, el efecto combinado de la fibra prebiótica, y la fuente fitoquímica del café, pueden dar como resultado un efecto quimioprotector mejorado, de tal forma que, la inflamación en mamíferos, pueda tratarse y/o prevenirse. La

fibra prebiótica, puede incluir cualquier cantidad y tipo apropiados, incluyendo, por ejemplo, a los oligosacáridos, tales como la inulina, y varios fructo-oligosacáridos, oligosacáridos de soja, y combinaciones de éstos.

Los agentes fitoquímicos, pueden incluir cualquier tipo y cantidad apropiados, de tal forma que, éstos, sean capaces de inhibir la actividad enzimática COX-II ó la actividad de transcripción NF-κB, que se crea que son responsables para la prevención y/o el tratamiento de la inflamación. En una forma de presentación, el agente fitoquímico del material de planta, es capaz de inhibir la actividad ciclooxigenasa, tal como la actividad de la ciclooxigenasa-1 y/o la ciclooxigenasa-2 y/o la actividad de transcripción NF-κB. Se cree que, mediante la inhibición de la actividad enzimática y/o de transcripción, de los productos fitoquímicos de la presente invención, estos son capaces de prevenir y/o tratar la inflamación, incluyendo, por ejemplo, la inflamación crónica. En este sentido, puede reducirse el riesgo de incidencia de otra enfermedad o achaque, los cuales se cree que son provocados por la inflamación, tales como el cáncer, la osteoartritis, la enfermedad autoinmune.

Además de los productos fitoquímicos, la fuente de planta, puede incluir otros agentes dietéticos, los cuales sean capaces de inhibir la actividad enzimática. En una forma de presentación, el agente dietético, incluye a los antioxidantes, glucosamida, condroitina sulfato, ácidos grasos omega-3, agentes semejantes, y combinaciones de éstos.

Debería apreciarse el hecho de que, la composición de la presente invención, puede incluir una variedad de formas diferentes y apropiadas. En una forma de presentación, la composición, puede incluir un suplemento nutricional, una preparación alimenticia para humanos y/o animales, un producto alimenticio para animales de compañía y/o una composición alimenticia funcional, o por el estilo. La composición, puede añadirse al producto, en cualquier cantidad que sea apropiada. En una forma de presentación, el producto alimenticio, incluye el material de planta de la composición, en una cantidad correspondiente a un porcentaje de por lo menos un 0,5%, en peso, de una forma preferible, en una cantidad correspondiente a un porcentaje que se encuentra comprendido dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente un 1% hasta aproximadamente un 30%, en peso, de una forma más preferible, en una cantidad correspondiente a unos márgenes que van desde aproximadamente un 1%, hasta aproximadamente un 2%, en peso.

En otra forma de presentación, las composiciones farmacéuticas que contienen el ingrediente activo (por ejemplo, α-metilen-γ-butirolactona, fragmentos o extractos que lo contienen), pueden estar en cualquier forma apropiada para el uso oral, tal como, por ejemplo, comprimidos, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, materias en polvo o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones pretendidas para el uso oral, pueden prepararse en concordancia con cualquier procedimiento conocido en el arte especializado de la técnica, para la fabricación de composiciones farmacéuticas y, tales tipos de composiciones, pueden contener uno o más agentes seleccionados de entre el grupo consistente en agentes edulcorantes, agentes saborizantes (condimentos), agentes colorantes, y agentes conservantes, con objeto de proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y sabrosas. Los comprimidos, contienen el ingrediente o ingredientes activos, en mezcla, con excipientes no tóxicos, farmacéuticamente aceptables, tales como los diluyentes, agentes granulantes, desintegrantes y lubricantes, inertes, que sean apropiados para la fabricación de comprimidos. Los comprimidos pueden no estar recubiertos, o éstos pueden recubrirse mediante técnicas conocidas, para retardar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y, con ello, proporcionar una acción sostenida durante un período de tiempo más largo. Las formulaciones para el uso oral, pueden también presentarse como gelatinas duras, en donde, el ingrediente activo, se mezcla con agua, o con un medio oleoso. Las suspensiones acuosas, contienen el material activo, en mezcla con excipientes apropiados, para la fabricación de suspensiones acuosas, tales como, por ejemplo, agentes de suspensión, agentes dispersantes o humectantes, conservantes, agentes colorantes, saborizantes (condimentos), y agentes edulcorantes. Las materias en polvo y gránulos dispersables apropiados para la preparación de una suspensión acuosa, mediante la adición de agua, proporcionan el ingrediente activo o ingredientes activos, en mezcla con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión, y uno o más conservantes. Pueden también encontrarse presentes, excipientes adicionales, tal como, por ejemplo, agentes edulcorantes, saborizantes (condimentos) y colorantes.

En una forma de presentación, la presente invención, proporciona un producto alimenticio para animales domésticos o de compañía, el cual incluye una matriz de almidón, y una cantidad efectiva de una composición, tal y como ésta se define en las reivindicaciones anexas. El producto alimenticio para animales de compañía o domésticos, de la presente invención, puede incluir cualesquier número, tipo y cantidad apropiados de constituyentes, y procesarse de cualquier forma apropiada, para formar un producto deseable.

En una forma de presentación, la presente invención, incluye un producto de cereal gelatinizado, el cual contiene una cantidad de extracto de café. El extracto de café, incluye por lo menos una fuente de fibras prebióticas y productos fitoquímicos, capaces de inhibir la actividad enzimática en mamíferos, la cual se cree que mejora la salud en mamíferos.

En una forma de presentación, el extracto de café, incluye inulina, en una cantidad suficiente como para proporcionar por lo menos un porcentaje del 0,25%, en peso, de inulina, en base a la materia seca. En una forma de presentación, los extractos de café, incluyen por lo menos un 50%, en peso, de inulina. Para la facilidad de

manejo, el material de planta, de una forma preferible, se encuentra en forma triturada, o en forma de una materia en polvo, deshidratados. Tal y como se ha descrito anteriormente, arriba, el procedimiento, utiliza achicoria triturada y/o extractos de ésta, secos (deshidratados). No obstante, debe entenderse el hecho de que puede utilizarse cualquier extracto de café apropiado, en cualquier forma apropiada, y añadirse al producto de cereal, en cualquier cantidad apropiada.

Tal y como se describe a continuación, los ingredientes restantes incluidos en el producto de cereales geletanizado, pueden ser cualesquiera ingredientes usualmente utilizados en productos cereales gelatinizados. Usualmente, estos ingredientes, incluyen una fuente de almidón y una fuente de proteínas. Las fuentes de almidón apropiadas son, por ejemplo, cereales, tales como, maíz, arroz, trigo, remolacha, cebada, avena, soja, y mezclas de éstos. Las fuentes apropiadas de proteína, pueden seleccionarse de entre cualquier fuente de proteína animal o vegetal. Los ejemplos de éstas, incluyen a la harina de carne, harina de hueso, harina de pescado, concentrados de proteína de soja, proteínas lácteas, gluten, y semejantes. La elección de las fuentes de almidón y de la proteína, se determinarán extensamente mediante las necesidades nutricionales del animal o humano, las consideraciones de sabrosidad o apetitosidad, el tipo de producto de cereales producido, u otras consideraciones por el estilo. En el producto de cereales gelatinizado, pueden también incorporarse varios otros ingredientes, como por ejemplo, azúcar, sal, especias, salsas, vitaminas, minerales, agentes saborizantes (condimentos), grasas y por el estilo, de la forma que se desee.

El producto de cereal gelatinizado, puede producirse de muchas maneras diferentes, según se desee. No obstante, para un producto de cereal seco (deshidratado), una forma especialmente apropiada para producir el producto, es la consistente en la cocción mediante extrusión. Ésta puede realizarse de la forma que es bien conocida en el arte especializado de la técnica. Así, por ejemplo, en un proceso apropiado, una mezcla de alimento, se introduce en un preacondicionador. Esta mezcla de alimento, se encuentra formada, principalmente, por una fuente de almidón, una fuente de proteína, y el material de planta, tal como café. En una forma de presentación, el café incluye por lo menos aproximadamente un porcentaje del 1%, en peso, del material alimenticio, de una forma preferible, por lo menos un porcentaje de aproximadamente un 2%, en peso. En una forma de presentación, la cantidad de material de planta, en el material alimenticio, es el correspondiente a un porcentaje comprendido dentro de unos márgenes que van de aproximadamente un 10% a aproximadamente un 20%, en peso, de una forma preferible, aproximadamente un 10%, en peso.

En el preacondicionador, se procede a introducir y mezclar agua o vapor, o ambos, en la mezcla de alimento. Se procede a introducir y mezclar una cantidad suficiente de agua o de vapor, en la mezcla de alimento, para humedecer la mezcla alimenticia en cuestión. En caso deseado, la temperatura de la mezcla de alimento, puede elevarse, en el preacondicionador, a un nivel correspondiente a unos márgenes que van desde aproximadamente 60°C hasta aproximadamente 90°C, en peso. Un preacondicionador apropiado, es el que se describe en la patente estadounidense US 4.752.139. Se apreciará el hecho de que no se requiere el uso del preacondicionador.

El alimento humedecido que sale del preacondicionador, se introduce, a continuación, en una extrusora. La extrusora, puede ser cualquier extrusora de husillo helicoidal individual, o de doble husillo helicoidal, y de cocción. Las extrusoras apropiadas, pueden obtenerse de la firma Wenger Manufacturing Inc. Cletral SA, Bühler AG, y semejantes. Durante el paso a través de la extrusora, el alimento humedecido, pasa a través de una zona de cocción, en la cual, éste se somete a cizallamiento mecánico, y se calienta. En una forma de presentación, el alimento humedecido, se calienta a una temperatura máxima de hasta aproximadamente 150°C, y en una zona de conformación. La presión indicativa, en la zona de conformación, es la correspondiente a un valor comprendido dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente 300 kPa hasta aproximadamente 10 MPa, de la forma que se desee. En caso deseado, puede introducirse agua o vapor, o ambos, en la zona de cocción. Durante el paso a través de la extrusora, la fuente de almidón del alimento humedecido, se gelatiniza, con objeto de proporcionar una estructura de matriz gelatinizada principalmente a base de almidón, proteínas y extracto de café.

La matriz gelatinizada que sale de la extrusora, se fuerza a que pase a través de una matriz apropiada, por ejemplo, una matriz como la que se describe en la patente europea EP 0 665 051. De la matriz, sale un extrusionado conformado, dotado de una determinada forma con una sección transversal que corresponde a la del orificio de la matriz. Dependiendo de las condiciones existentes en la extrusora y de la fuente de almidón utilizada, el extrusionado dotado de forma, se expande en una extensión mayor o menor. El extrusionado dotado de forma, se corta, a continuación, en pedazos, utilizando cuchillas. A continuación, se procede a secar (deshidratar) los pedazos individuales y, en caso deseado, se recubren con agentes protectores o saborizantes (condimentos), o ambos. Después de proceder al enfriado, los pedazos, pueden envasarse en envases apropiados. De una forma alternativa, los pedazos individuales, pueden conformarse en forma de copos, y, a continuación, secarse (deshidratarse).

Dependiendo de los ingredientes utilizados, el producto de cereal utilizado, puede ser en forma de "cubitos" apropiados para su uso como alimentos para animales domésticos o de compañía, piezas o pedazos expandidos apropiados para su uso en cereales para desayunos, copos apropiados para su uso en cereales para desayunos, y por el estilo.

Es también posible, el producir un producto de cereales secado (deshidratado), procediendo a mezclar conjuntamente agua y los ingredientes del producto de cereales, por ejemplo, procediendo a mezclarlos en un preacondicionador. La mezcla húmeda, puede a continuación conformarse, para dotarla de una forma deseada, procediendo a utilizar, por ejemplo, rodillos de conformación de forma. La mezcla conformada, dotada de forma, puede entonces cocerse en un horno, a cualquier nivel de temperatura que sea adecuado. En una forma de presentación, la temperatura, es la correspondiente a un nivel comprendido dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente 220°C hasta aproximadamente 280°C, durante un tiempo de cocción apropiado. En una forma de presentación, el tiempo de cocción, se encuentra comprendido dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente 10 minutos hasta aproximadamente 1 hora. El producto de cereales, secado (deshidratado), tiene la apariencia de una galleta cocida.

En el caso de que se desee producir un producto de carne simulada, el cual pueda utilizarse en alimentos para animales domésticos o de compañía, envasados en latas, para ello, puede utilizarse cualquier procedimiento que sea apropiado. Así, por ejemplo, los procedimientos, pueden ser los correspondientes a aquéllos que se encuentran descritos en las patentes estadounidenses US 4.781.939 y US 5.132.137. En estos procedimientos, se procede a emulsionar una fuente de proteínas, especialmente, una material de carne. El material de carne, puede ser cualquier fuente apropiada de proteína animal, incluyendo, por ejemplo, la carne procedente de los músculos o la carne procedente del esqueleto, de mamíferos, subproductos de volatería, de pescado o de carne, tales como los consistentes en corazones, hígado, riñones, lengua o por el estilo, o harinas de carne. Las fuentes de proteínas procedentes de cereales, pueden también incluirse, en caso deseado. La composición exacta, puede seleccionarse en concordancia con el coste y el sabor deseados. La emulsión, puede llevarse a cabo en cualquier equipo que sea apropiado.

Se procede a añadir la achicoria secada (deshidratada), a la emulsión. La proteína adicional, puede ser cualquier fuente de proteína, tal y como se ha mencionado anteriormente, arriba. La elección exacta, dependerá de la disponibilidad, del coste, y de la sabrosidad o apetitosidad. La proteína adicional, puede añadirse en cualquier cantidad que sea adecuada. En una forma de presentación, la proteína adicional, puede añadirse en una cantidad correspondiente a unos porcentajes que se encuentren comprendidos dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente un 5% hasta aproximadamente un 35%, en peso.

En caso requerido o deseado, a la emulsión, se le pueden también añadir grasas. Usualmente, la cantidad de grasa en la emulsión, debe controlarse, para facilitar el procesado, y para obtener un producto aceptable. No obstante, el material de carne, puede contener, bien, la cantidad deseada de grasas, no siendo necesario, de esta forma, realizar ningún ajuste. De una forma típica, en esta etapa, la emulsión, contiene un nivel máximo de grasa, correspondiente a un porcentaje de aproximadamente un 25%, en peso. En una forma de presentación, la cantidad de grasa en la emulsión, es la correspondiente a unos porcentajes comprendidos dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente un 5% hasta aproximadamente un 15%, en peso, de una forma más preferible, desde aproximadamente un 7% hasta aproximadamente un 12%, en peso. El valor de relación, referido a masa, de la proteína con respecto a la grasa, en la emulsión, es preferiblemente de 1:1 a 7:1. En caso de que se añadan, las grasas, pueden ser cualesquiera grasas animales que sean apropiadas, tales como el sebo, o éstas pueden consistir en grasas vegetales.

A la emulsión, se le puede añadir ingredientes adicionales, tales como azúcares, sales, especias, agentes saborizantes (condimentos), minerales, y por el estilo. En una forma de presentación, la cantidad de ingredientes adicionales utilizados, es la correspondiente a unos porcentajes comprendidos dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente un 1% hasta aproximadamente un 5%, en peso, de producto de cereales gelatinizado.

Puede también añadirse agua, para proporcionar un porcentaje de humedad correspondiente a unos porcentajes comprendidos dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente un 45% hasta aproximadamente un 80%, en peso, de humedad, en la emulsión. En caso de que se encuentre presente una cantidad suficiente de humedad, en el material de carne, no es necesario añadir agua.

Una vez mezclada, la emulsión, de una forma preferible, se introduce a través de una estufa de vacío, o un aparato de aireación similar, con objeto de desairear la emulsión. Éste, elimina el aire, el cual, de otro modo, provocaría una disrupción del producto emulsionado formulado, y reduciría su apariencia semejante a la carne. La emulsión, se introduce, a continuación, en un molino de emulsión, el cual sujeta la emulsión, para un calentamiento y cizallamiento mecánicos, rápidos. Puede utilizarse cualquier molino de emulsión que sea adecuado, incluyendo, por ejemplo, el molino de emulsión dado a conocer en la patente estadounidense US 5.132.137. Otros molinos de emulsión apropiados, son los que se encuentran comercialmente disponibles en el mercado, bajo la marca comercial de TRIGONAL, y que pueden obtenerse de la firma Siefer Maschinenfabrik GmbH & Co. KG, Bahnhofstrasse 144, Postfach (apartado de correos) 101008, Velbert 1, Alemania.

La temperatura de la emulsión, puede elevarse a la deseada temperatura de coagulación, en el molino de emulsión, en pocos segundos. En una forma de presentación, la temperatura de coagulación, es la correspondiente a un valor comprendido dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente 100°C hasta aproximadamente 120°C. En una forma de presentación, la temperatura de coagulación, es la correspondiente a un valor comprendido dentro de

unos márgenes que van desde aproximadamente 45°C hasta aproximadamente 75°C, tal y como se describe en la patente estadounidense US 5.132.137. De una forma general, la energía mecánica generada en el molino de emulsión, será suficiente como para calentar la emulsión, a la temperatura deseada, pero ésta, puede suplementarse mediante la inyección de vapor sobrecalentado.

La emulsión calentada que sale del molino de emulsión, puede transferirse al tubo de retención. En el tubo de retención, la emulsión calentada, coagula, al mismo tiempo que se mueve lentamente, a lo largo del tubo de retención. El tiempo de residencia o retención de la emulsión calentada, en el tubo de retención, es suficiente como para que la emulsión se haya coagulado en un producto de emulsión firme, después de alcanzar la salida del tubo de retención. El producto de emulsión firme sale del tubo de retención, se transfiere, a continuación, a una cuchilla de corte, en donde, éste, se corta en pedazos, tales como "cubitos", de un tamaño apropiado para su uso en un producto alimenticio para perros. Los "cubitos" o trocitos, tienen la apariencia y la textura de la carne. Los "cubitos", pueden someterse a un proceso para su conformación en forma de copos. Los "cubitos", pueden también formularse para su conversión en un producto del tipo "cubitos" en salsa. Se conocen también otros procedimientos para la producción de "cubitos", y éstos puede utilizarse, procediendo, por ejemplo, a extrusionar una mezcla de alimento, cocinando la mezcla de alimento en un horno de vapor y, a continuación, cortando el extrusionado cocido, convirtiéndolo en trocitos o "cubitos".

Si se desea producir un producto alimenticio envasado en latas, para animales domésticos o de compañía, en forma de una barra o pan de carne, puede prepararse un batido de carne, procediendo a emulsionar un material de carne apropiado, para producir una emulsión de carne. El material de carne, puede ser cualquier fuente de carne apropiada, por ejemplo, tal y como se ha descrito anteriormente, arriba. A la emulsión de carne, se le pueden añadir agentes gelificantes apropiados, incluyendo a las gomas, tales como la kappa-carragenina, la goma de judía de algarrobo, goma de guar, goma de xantano, o por el estilo. En una forma de presentación, se utiliza una cantidad de goma, correspondiente a un porcentaje que no sea superior a aproximadamente un 2%, en peso, de la goma utilizada. El material de café secado (deshidratado), se añade, a continuación, a la emulsión de carne.

A la emulsión de carne, se le pueden añadir ingredientes adicionales, tales como azúcares, sales, especias, salsas, agentes saborizantes (condimentos), minerales, y por el estilo. La cantidad de ingredientes adicionales utilizados es, de una forma preferible, la correspondiente a un porcentaje que ascienda a un valor comprendido dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente un 0,25% hasta aproximadamente un 5%, en peso, del batido de carne. Puede también añadirse agua, a la emulsión de carne, para proporcionar un porcentaje comprendido dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente un 70% hasta aproximadamente un 85%, en peso. Si se encuentra presente una cantidad suficiente de humedad, en el material de carne, no hace falta añadirse agua.

La emulsión de carne, se añade, a continuación, a una temperatura por encima de aproximadamente 65°C, en un mezclador - horno de cocción. En caso deseado, puede inyectarse vapor en el batido de carne. A continuación, se procede a emulsionar otra vez la emulsión de carne calentada, para proporcionar un batido de pan o de barra, mantenida a una temperatura por encima de un nivel de aproximadamente 60°C, hasta el llenado en latas.

Debería apreciarse el hecho de que, el producto de cereales gelatinizado, puede producirse mediante cualquier procedimiento apropiado, y no únicamente mediante los que se han descrito anteriormente, arriba. En el producto de cereales gelatinizado, pueden también añadirse otros tipos de oligosacáridos, tales como fructo-oligosacáridos y oligosacáridos de soja. Los oligosacáridos de soja, pueden añadirse en forma de harina de soja, o en forma de cualquier otra fuente de soja.

El producto de cereales, puede ser en cualquier forma apropiada, incluyendo, por ejemplo, la forma seca (deshidratada), semi-húmeda y húmeda. No obstante, la matriz que forma el producto de cereales, debe gelatinizarse, con objeto de eliminar o destruir los compuestos de sesquiterpeno que puedan encontrarse presentes en el material de planta. Debería apreciarse el hecho de que, el producto de cereales de la presente invención, puede realizarse para el consumo humano y/o de animales.

A título de ejemplo, y no limitativo, a continuación se ilustran ejemplos de productos alimenticios para animales de compañía o domésticos, realizados en concordancia con una forma de presentación de la presente invención.

EJEMPLO 1: Producto alimenticio seco (deshidratado), para animales de compañía que no forma parte de la invención.

Se procede a formar una mezcla de alimento, a base de aproximadamente un porcentaje del 58%, en peso, de maíz, aproximadamente un porcentaje del 6%, en peso, de gluten de maíz, aproximadamente un porcentaje del 23%, en peso, de carne, encontrándose formado, el resto de la composición, por harina, achicoria seca (deshidratada), y sales, vitaminas y minerales. La achicoria seca, es en forma de un extracto de achicoria, realizado en concordancia con una forma de presentación de la presente invención, y que se añade en una cantidad correspondiente a un porcentaje de aproximadamente un 5%, o menos. La mezcla de alimento, se introduce en un pre-acondicionador, y se gelatiniza. La matriz gelatinizada, al salir de la extrusora, se fuerza a hacerla pasar a través de una matriz, y se estrusiona, formando así, de este modo, un extrusionado. El extrusionado, se corta en piezas o "cubitos", apropiados

para alimentar perros, se seca a una temperatura de aproximadamente 110°C, durante aproximadamente 20 minutos, y a continuación, se enfría, para formar gránulos. Debería apreciarse el hecho de que, una parte o la totalidad de la matriz de grasa, o la grasa y aceite utilizados, pueden añadirse en una etapa posterior, por ejemplo, como un recubrimiento.

La achicoria añadida, puede mejorar la salud de los animales de compañía o domésticos, procediendo, por ejemplo, a prevenir y/o tratar la inflamación, tal y como se ha comentado anteriormente.

EJEMPLO 2: Producto alimenticio seco (deshidratado), para animales de compañía que no forma parte de la invención

Se procede a preparar un producto alimenticio seco (deshidratado), para animales domésticos o de compañía, de la misma forma que el producto alimenticio para animales domésticos o de compañía del ejemplo 1. Este incluye adicionalmente un ingrediente adicional típicamente asociado con la mejora de la apetitividad o sabrosidad del producto alimenticio para animales domésticos o de compañía, apropiada para gatos. La achicoria añadida, puede mejorar la salud del animal doméstico o de compañía, por ejemplo, previniendo y/o tratando la inflamación, tal y como se ha comentado anteriormente.

EJEMPLO 3: Producto alimenticio seco (deshidratado), para gatos que no forma parte de la invención

Se procede a formar una mezcla de alimento, a base de aproximadamente un porcentaje del 58%, en peso, de maíz, aproximadamente un porcentaje del 6%, en peso, de gluten de maíz, aproximadamente un porcentaje del 23%, en peso, de harina de pollo, encontrándose formado, el resto de la composición, por achicoria seca (deshidratada), y sales, vitaminas y minerales. La achicoria seca, se añade en una cantidad correspondiente a un porcentaje de aproximadamente un 5%, o menos. Tal y como se ha comentado previamente, la achicoria añadida puede inhibir la actividad enzimática, la cual se cree que mejora la salud en el animal, por ejemplo, tratando y/o previniendo la inflamación.

La mezcla de alimento, se introduce en un pre-acondicionador, y se humedece. La matriz humedecida, al salir de la extrusora, se fuerza a hacerla pasar a través de una matriz, y se extrusiona, formando así, de este modo, un extrusionado. El extrusionado, se corta en piezas o "cubitos", apropiados para alimentar gatos, se seca a una temperatura de aproximadamente 110°C, durante aproximadamente 20 minutos, y a continuación, se enfría, para formar gránulos. En este estado, se procede a aplicar, a los gránulos, una materia en polvo liofilizada de una o más cepas de especies de *Lactobacillus*, tal como *Lactobacillus rhamnosus* NCC2583 (CNCM I-2449), *Lactobacillus acidophilus* NCC2628 (CNCM I-2453) y *Enterococcus faecium* SF68 (NCIMB 10415). A los gránulos, se les aplica una cantidad suficiente de materia en polvo, de tal forma que la cantidad correspondiente de ingestión dietética, para el gato, sea la correspondiente a unos valores comprendidos dentro de unos márgenes que van desde aproximadamente 1,0 E + 0,7 hasta 1,0 E + 9 ufc / día. En este sentido, se procede a mezclar una porción de la materia en polvo, en una primera masa de gránulos, los cuales, posteriormente, se empaacan. Se procede a medir y mezclar una segunda porción de la materia en polvo, con un transportador lipídico, el cual, a continuación, se proyecta mediante pulverización (spray), sobre una segunda masa de gránulos. Los gránulos, se empaacan, después de que, el recubrimiento, se haya secado suficientemente, a una temperatura de 50–60 °C durante algunos segundos.

EJEMPLO 4: Producto alimenticio y suplemento, enlatado, para animales domésticos que no forma parte de la invención

Se procede a preparar una mezcla a base de aproximadamente un porcentaje del 73%, de carcasas de volatería, pulmones de cerdo e hígado de ternera (molido), aproximadamente un porcentaje del 16% de harina de trigo, aproximadamente un porcentaje del 2% de colorantes, vitaminas y sales inorgánicas. Esta mezcla, se emulsiona a una temperatura de 12°C y se extrusiona, conformándola en forma de un flan o pudding. A la emulsión, se le añade achicoria seca (deshidratada), en forma de un extracto realizado en concordancia con una forma de presentación de la presente invención, en una cantidad correspondiente a un porcentaje del 5% ó menos. Se procede, a continuación, a cocer la emulsión, a una temperatura de 90°C. Ésta se enfría a una temperatura de 30°C y, a continuación, se corta en trozos o "cubitos". Aproximadamente un porcentaje del 45% de los trozos o cubitos, se mezclan con aproximadamente un porcentaje del 55% de la salsa, la cual se prepara a partir de un porcentaje de aproximadamente un 98% de agua, un porcentaje de aproximadamente un 1% de colorante, y un porcentaje de aproximadamente un 1% de goma de guar. Se procede a llenar latas de hojalata con la mezcla de los trozos o "cubitos" y la salsa, y ésta se esteriliza a una temperatura de 125 °C durante aproximadamente 40 minutos.

Como suplemento probiótico a mezclar con el producto alimenticio para animales de compañía o domésticos, antes de servirse, se proporciona un envasado adicional, en forma de saquito, con cepas de las siguientes especies de *Lactobacillus*, *Lactobacillus rhamnosus* NCC2583 (CNCM I-2449), *Lactobacillus acidophilus* NCC2628 (CNCM I-2453) o *Enterococcus faecium* SF68 (NCIMB 10415). La correspondiente ingestión dietética del suplemento, para el animal doméstico o de compañía, es a partir de aproximadamente 106-10¹² ufc/día, dependiendo del tipo de animal doméstico o de compañía, por ejemplo, un gato o un perro, y de los factores físicos de animal doméstico o de

compañía, tales como la masa corporal. El suplemento se envasa de tal forma que, éste se encuentre unido a la lata, de una forma no eliminable, conjuntamente con instrucciones sobre la alimentación.

5 A título de ejemplo, y no limitativo, se procedió a llevar a cabo un test de ensayo experimental, tal y como se describe con detalle a continuación, para demostrar la efectividad de la presente invención.

Test de ensayo in vitro 1 que no forma parte de la invención

10 Los inventores han llevado a cabo un determinado número de tests de ensayo experimentales, para demostrar los efectos beneficiosos de los extractos de achicoria extrusionados, térmicamente procesados. De una forma general, se prepararon cultivos de células de cáncer de colon humano, y se trataron con cantidades variables de extractos de achicoria, durante aproximadamente 48 horas, para evaluar los efectos de la achicoria, con respecto a la actividad ciclooxigenasa. Los procedimientos de preparación y los tests de ensayo experimentales, así como los resultados, se comentan con más detalle a continuación.

15 *Preparación del cultivo de células*

Se obtuvo una línea de células HT 29 de cáncer de colon, de la American Type Culture Collection, y se cultivó en medio 5A de McCoy, suplementado con un 10% de suero bovino fetal (FBS), 25 mg/ml de gentamicina. Las células HT-29, se trataron con un determinado número de diferentes extractos de achicoria, realizados en concordancia con una forma de presentación de la presente invención, tal y como se detalla a continuación.

Preparación de los extractos de achicoria

25 Se procedió a preparar cuatro extractos diferentes de achicoria, a saber, los extractos A – D, en concordancia con una forma de presentación de la presente invención. Inicialmente, se procedió a tamizar, a un tamaño de 0,5 mm, una muestra de 40 gramos (g) y una muestra de 10 g, de achicoria, molidas a una forma en polvo. Las muestras, se procesaron, para retirar las grasas, procediendo a mezclar las muestras, con hexano, durante aproximadamente treinta minutos a temperatura ambiente. Después, se procedió a añadir 600 mililitros (ml) de hexano, a la muestra de achicoria tamizada, de 40 g, y se añadieron 150 ml, a la muestra tamizada de 10 g. El hexano, se evaporó, bajo la acción del vacío, a una temperatura de aproximadamente 50°C, para formar el Extracto A.

35 El extracto B, se preparó, procediendo, en primer lugar, al desgrasado de 40 gramos de achicoria molida, en polvo, de la forma que se ha comentado anteriormente. La muestra desgrasada, se hidrolizó en 300 ml de un ácido, tal como el HCl, en un baño de agua caliente, durante aproximadamente 20 minutos. Después de enfriar y de proceder a la centrifugación (8000 rpm por minuto, 5 minutos, 10°C), la solución, se extrajo con 150 ml de un disolvente, tal como el acetato de etilo, el cual se encuentra comercialmente disponible en el mercado, por ejemplo, de procedencia de la firma MERCK. El disolvente, se evapora hasta secado. Después de proceder a secar adicionalmente, en sulfato sódico anhidro, bajo la acción del vacío, a una temperatura de aproximadamente 50°C, se formó el extracto B.

45 Los extractos C y D, se prepararon de la siguiente forma. En primer lugar, se procedió a desgrasar 10 gramos de muestra de la achicoria en polvo molida, de la forma que se ha descrito anteriormente, arriba, con una cantidad de aproximadamente 250 ml de una mezcla de disolvente / agua, tal como la consistente en un valor de relación, referido a peso, de MeOH y agua en solución. La extracción, se realiza bajo la acción de agitación, a la temperatura ambiente (por ejemplo, a una temperatura comprendida dentro de unos márgenes que van de aproximadamente 20°C a aproximadamente 25°C, durante aproximadamente 30 minutos. Después de la centrifugación, la solución, se divide en dos partes iguales en volumen. En la primera parte en volumen de la solución, el disolvente orgánico, se evapora, bajo la acción del vacío, a una temperatura de aproximadamente 50°C. La fase acuosa restante, se seca mediante congelación (se liofiliza), para formar el extracto C.

50 La segunda parte en volumen de la solución, se trata con aproximadamente 2 g de polivinilpirrolidona, bajo la acción de agitación, durante aproximadamente 30 minutos, para atrapar los polifenoles. El material adsorbente, se elimina, mediante filtración, centrifugación, o por el estilo. El disolvente orgánico, se evapora bajo la acción del vacío, a una temperatura de aproximadamente 50°C. La fase acuosa restante, se seca mediante congelación (se liofiliza), para formar el extracto D.

Medición de la producción de PGE2

60 Se procedió a analizar los efectos de varios extractos de achicoria, a saber, los extractos A – C, en la biosíntesis de PGE2, en una línea de células de colon humano HT29. La biosíntesis de PGE2, proporciona la indicación del nivel de la actividad enzimática, tal como la ciclooxigenasa, ya que, tal y como se conoce de una forma general, la ciclooxigenasa, puede actuar como un catalizador para producir PGE2 a partir de, por ejemplo, ácido araquidónico. Así, de este modo, los efectos del extracto de achicoria, en la actividad enzimática de la ciclooxigenasa, puede evaluarse, en base a este experimento, tal y como se describe posteriormente, a continuación. Las células se hicieron crecer durante 48 horas en su medio, suplementado con un porcentaje del 0,1% de albúmina de suero

bovino (BSA) y ácido araquidónico 10 μ M. Los extractos de achicoria, se añadieron, a continuación, a este medio, a concentraciones de 50, 100 y 200 μ g/ml, durante o bien 21 horas, o bien 15 horas. Se procedió a preparar otro juego de muestras de células, añadiendo extracto de achicoria B, a las células HT-29, de la forma que se ha comentado anteriormente, seguido de una co-incubación, en presencia de 10 ng/ml de factor de necrosis tumoral alfa (TNF), durante 6 horas. Se cree, de una forma general, el hecho de que, el TNF, estimulará la inflamación.

Se procedió a determinar la cantidad de PGE2 en medio celular, con el kit de inmunoensayo de enzima monoclonal PGE2 (de la firma Cayman Chemical), en concordancia con las instrucciones del fabricante. En resumen, se procedió a mezclar 25 ó 50 μ l del medio, conjuntamente con muestras standard de PGE2 diluidas en serie, con una cantidad apropiada de trazador marcado con acetilcolinaestearasa y antisuero de PGE2, y se incubó a temperatura ambiente, durante 18 horas. Después de que los pocillos se hubieron vaciado y lavado con tampón de lavado, se procedió a añadir 200 μ l de reactivo de Ellman, el cual contenía el sustrato para acetilcolinaestearasa. La reacción enzimática se llevó a cabo en un agitador lento a temperatura ambiente, durante 1 hora. Los resultados se midieron utilizando un lector de microplaca a 415 nm, y se normalizaron a microgramos de proteína.

Los resultados del test de ensayo, indicaron el hecho de que, el extracto de achicoria B, el cual se realizó con acetato de etilo, tal y como se ha comentado anteriormente, tenía el efecto más pronunciado sobre la inhibición de la actividad ciclooxigenasa, tal y como se evidenciaba mediante una disminución de la cantidad medida de PGE2. De una forma general, la disminución en actividad ciclooxigenasa, era más pronunciada con cantidades en aumento de extracto de achicoria. Adicionalmente, los resultados del test de ensayo, indicaron el hecho de que, el extracto de achicoria B, tenía un efecto más pronunciado, en la inhibición de la actividad ciclooxigenasa, en la línea de células HT-29 con TNF, si se compara con la línea de células HT-29, sin TNF. Esto sugiere el hecho de que, la inhibición de la actividad ciclooxigenasa, puede estar más influenciada por una inhibición específica de ciclooxigenasa-2, si se compara con la ciclooxigenasa-1. Los resultados obtenidos, se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1 Efecto de los extractos de achicoria con acetato de etilo sobre la síntesis de PGE-2 en células HT-29

Adición	Niveles de PGE-2 (% del control) – TNF alfa	Niveles de PGE-2 (% del control) + TNF alfa*
Control (solo vehículo)	100	100
Extracto de achicoria B (100 mcg/ml)	95	80
Extracto de achicoria B (200 mcg/ml)	33	0,7
* La estimulación de la actividad enzimática, mediante TNF-alfa, era 10 veces mayor.		

Test de ensayo *in vitro* 2

1. Efectos inhibitorios de la α -CH₂- γ -butirolactona sobre la síntesis de PGE2

Los inventores, han llevado a cabo un test de ensayo experimental similar, para demostrar los efectos anti-inflamatorios de la alfa-metilen-gamma-butirolactona. De una forma general, se ha demostrado la inhibición de la síntesis de PGE2, mediante alfa-metilen-gamma-butirolactona, en células HT29, estimuladas mediante TNF-alfa. Con esta finalidad, se procedió a cultivar células, y éstas se hicieron pasar en un medio 5A de Mc Coy, suplementado con ácido araquidónico (10 microlitros) y albúmina de suero bovino (0,01%). Las células, se trataron mediante alfa-metilen-gamma-butirolactona (disuelta en metanol), a las siguientes dosis: 15, 30, 60 microM ó mediante el disolvente solo, durante 21 horas, incluyendo la estimulación con TNF-alfa (10 ng/ml), durante 6 horas, o no incluyéndola. El análisis de PGE2, se realizó utilizando un test de ensayo ELISA, en una muestra de medio.

Tabla 2: Concentración de PGE₂, en pg/ml, de medio en células HT29, tratadas con α -CH₂- γ -butirolactona, con TNF- α , o sin éste.

	pg PGE ₂ /ml de medio - TNF- α	% de control	pg PGE ₂ /ml de medio + TNF- α	% de control
Control de metanol	2594	100	18941	730
α -CH ₂ - γ -butiro-lactona 15 μ M	2814	108	13286	512
A-CH ₂ - γ -butiro-lactona 30 μ M	1970	76	9349	360
α -CH ₂ - γ -butiro-lactona 60 μ M	1144	14	1310	50

2. Efectos inhibitorios de la α -CH₂- γ -butirolactona sobre la expresión de COX-2

Análisis de transferencia de Western

Se procedió a preparar lisados de células, tratando células HT29 (tratadas de la forma que se ha descrito anteriormente, para las determinaciones de PGE2, es decir, en presencia o ausencia de TNF-alfa y con o sin α -CH₂- γ -butirolactona), con tampón de lisis (150 mM NaCl, 10 mM Tris HCl pH 8,1% Tween 20, EDTA pH 8 1mM,

inhibidores de proteasas, PEFA, (Merck), DETEC (Aldrich)). Los lisados se sometieron a ultrasonido durante 5 segundos, y se centrifugaron a 10000 g durante 5 minutos. Se procedió a estimar la concentración de proteínas, mediante el método de Bradford, el cual se estandarizó, utilizando albúmina de suero bovino.

5 Se procedió a hervir la totalidad de los extractos de células (25 µg), en tampón de muestra de Laemmli, y se disolvió, de nuevo, mediante SDS-PAGE, en 10% de gel, utilizando el sistema discontinuo de gel de poliacrilamida. Se bloquearon sitios de unión no específicos incubando la membrana en solución salina tamponada con fosfato con leche en polvo al 5% que contenía 0,1% de Tween-20, durante toda la noche a una temperatura de 4°C.

10 Las transferencias se hibridaron en una dilución 1: 1000 de un anticuerpo policlonal de cabra anti COX-2 y también COX-1 (C-20, Santa Cruz Biotechnology), en PBS lácteo al 5%, durante 1 hora a temperatura ambiente seguido de lavado durante 1 hora en PBS lácteo al 1%.

15 Posteriormente, las transferencias, se exploraron con un anticuerpo secundario anti-cabra de burra conjugado con peroxidasa de rábano picante. Después de proceder a lavar durante una 1 hora, se detectó el complejo, utilizando reactivos de transferencia de Western de ECL (Amersham). Los resultados obtenidos, se muestran en la figura 1.

3. Inhibición específica de la actividad COX-2, mediante α -CH₂- γ -butirolactona

20 El kit de actividad de ciclooxigenasas de Stressgen StressXpress®, proporciona un procedimiento para medir específicamente las ciclooxigenasas COX-1 y COX-2, en una variedad de fluidos biológicos. El kit utiliza un sustrato quimioluminiscente específico (molécula de hidrocarburo aromático), para detectar la actividad peroxidasa de enzimas COX. Después de la inhibición mediante compuestos específicos (α -CH₂- γ -butirolactona y NS-938, un inhibidor de COX-2 específico, procedente de la firma Cayman Chemical Company, ambos disueltos en metanol), se
25 procede a medir la actividad residual de la ciclooxigenasa, mediante la adición de sustrato quimioluminiscente y ácido araquidónico (50 µM). La emisión de luz se inicia inmediatamente y se procede a medir la señal quimioluminiscente (las Unidades Relativas de Luminiscencia –URL– se miden después de 30 minutos (luminómetro Tecan)). La cantidad de luz emitida es directamente proporcional a la actividad COX.

30 En este test de ensayo se encontró que la α -CH₂- γ -butirolactona inhibía específicamente, y con una gran potencia, la actividad COX-2, tal y como lo hacía el compuesto NS-398 de referencia. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3: Medición de las actividades de las ciclooxigenasas (COX-1, COX-2)

	Actividad COX 1 (URL)	% de control	Actividad COX 2 (URL)	% de control
Solo Vehículo (metanol)	4115	100	26450	100
α -CH ₂ - γ -butiro-lactona (40 µM)	4807	117	12823	49
NS-398 (1mM)	4063	99	1794	7

35

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende un extracto de café extrusionado, térmicamente procesado, para su uso en la reducción del riesgo de osteoartritis, en la que el extracto de café se obtiene desgrasando el material de planta de café para formar un primer extracto de planta y, posteriormente, procesando el primer extracto de planta utilizando hidrólisis ácida y extracción con disolvente, con acetato de etilo, para formar el extracto de café.
- 10 2. Una composición para su uso, según la reivindicación 1, en la cual, la composición comprende un porcentaje del 0,5%, en peso, de extracto de café extrusionado.
3. Una composición para su uso, según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, la cual comprende adicionalmente un agente dietético, seleccionado de entre el grupo consistente en antioxidantes, glucosamina, condroitina sulfato, ácidos grasos omega-3, y combinaciones de éstos.
- 15 4. Un producto alimenticio para su uso en la reducción del riesgo de osteoartritis que comprende una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 seleccionado de entre el grupo consistente en un suplemento nutritivo, un producto alimenticio nutritivamente completo, una preparación alimenticia, un producto de cereales, un alimento para animales de compañía y una preparación alimenticia farmacéutica y/o funcional.
- 20 5. Un producto alimenticio para su uso según la reivindicación 4 que es un alimento para animales de compañía que adicionalmente comprende una matriz de almidón.
- 25 6. Un procedimiento para preparar un producto alimenticio nutritivo para la prevención y/o tratamiento de la inflamación en un mamífero, comprendiendo el procedimiento las etapas de: proporcionar un extracto de café extrusionado, obtenido mediante el desgrasado de material de planta de café, para formar un primer extracto de planta y, posteriormente, procesar el primer extracto de planta, utilizando hidrólisis ácida y extracción con disolvente, con acetato de etilo, para formar un extracto de café, y procesar el extracto de café y uno o más ingredientes alimenticios, para formar un producto alimenticio nutritivo, el cual incluya, por lo menos, un porcentaje del 0,5%, en peso, del extracto de café.
- 30 7. Un procedimiento, según la reivindicación 6, en el cual, el extracto de café, incluye uno o más agentes fitoquímicos, capaces de inhibir la actividad enzimática de la ciclooxigenasa y/o del factor transcripcional NF- κ B.

FIGURA 1

