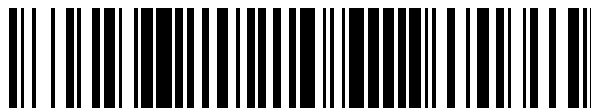


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 602 877**

21 Número de solicitud: 201531083

51 Int. Cl.:

C12P 19/04 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

22.07.2015

43 Fecha de publicación de la solicitud:

22.02.2017

56 Se remite a la solicitud internacional:

PCT/ES2016/070553

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (100.0%)
C/ Serrano, nº 117
28006 Madrid ES**

72 Inventor/es:

**SAURA CALIXTO, Fulgencio y
PÉREZ JIMÉNEZ, Jara**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE UN CONCENTRADO DE PROANTOCIANIDINAS
POLIMÉRICAS CON UN CONTENIDO SUPERIOR AL 90% MEDIANTE TRATAMIENTOS
ENZIMÁTICOS Y SIN UTILIZACIÓN DE DISOLVENTES ORGÁNICOS**

57 Resumen:

Procedimiento de obtención de un concentrado de proantocianidinas poliméricas con un contenido superior al 90% mediante tratamientos enzimáticos y sin utilización de disolventes orgánicos.

Procedimiento de obtención de un concentrado de proantocianidinas poliméricas con un contenido superior al 90%, caracterizado por la utilización de tratamientos enzimáticos y por la ausencia de disolventes orgánicos y/o extracción con disolventes orgánicos. Este concentrado es útil como ingrediente funcional, complemento alimenticio, como producto cosmético y como producto farmacéutico.

ES 2 602 877 A1

Procedimiento de obtención de un concentrado de proantocianidinas poliméricas con un contenido superior al 90% mediante tratamientos enzimáticos y sin utilización de disolventes orgánicos

5

DESCRIPCIÓN

La presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención de un concentrado de proantocianidinas poliméricas con un contenido superior al 90% mediante sucesivos tratamientos enzimáticos y sin emplear disolventes orgánicos.

10

Asimismo, la invención se refiere al concentrado obtenido por el procedimiento mencionado y a su uso complemento alimenticio, ingrediente funcional, producto farmacéutico o cosmético.

ESTADO DE LA TÉCNICA

15

Las proantocianidinas (*proanthocyanidins*) son un tipo de compuestos polifenólicos constituidos por flavan-3 ols y flavan-3,4 diols y que se encuentran en determinados vegetales, incluyendo algunos comestibles.

20

Tradicionalmente el interés científico y tecnológico en las proantocianidinas se ha centrado en la astringencia y aroma que aportan a alimentos y bebidas. No obstante, en las dos últimas décadas se ha evidenciado que estos compuestos son biodisponibles y tienen una importante actividad biológica, presentando un gran potencial para la preparación de ingredientes funcionales, suplementos dietéticos y fármacos en base a sus propiedades antiinflamatorias, de reducción de riesgo cardiovascular, de cáncer colorectal y neuroprotectoras.

25

Las proantocianidinas presentes en vegetales lo están en forma de oligómeros y polímeros. Existe amplia información bibliográfica sobre la composición y contenido de oligómeros en distintos vegetales, recogidas en bases de datos internacionales como la "USDA Database for the Proanthocyanidin Content of Selected Food".

30

Las proantocianidinas se obtienen de material vegetal diverso por métodos de extracción con diversos disolventes, complementados con procedimientos de purificación para obtener concentrados con contenidos de proantocianidinas de hasta el 25% (generalmente oligoméricas), quedando en el residuo desechado cantidades significativas de proantocianidinas mayoritariamente poliméricas. Por tanto, sería

35

deseable disponer de un método capaz de obtener proantocianidinas poliméricas con un contenido superior al 90%, evitando los procesos de extracción con disolventes orgánicos y aprovechando al máximo la materia vegetal original.

5 **DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

Un primer aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de un concentrado de proantocianidinas poliméricas con una concentración en peso de al menos el 90%, caracterizado porque comprende sucesivas etapas de tratamiento con enzimas. Otra característica de la presente invención es la no
10 utilización de disolventes orgánicos en ninguna etapa ni uso de extracción con los mismos.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un concentrado de proantocianidinas poliméricas con una concentración en peso de al menos el 90%
15 obtenidas por el procedimiento descrito anteriormente.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso del concentrado de proantocianidinas poliméricas con una concentración de al menos el 90% tal y como se ha descrito anteriormente, como complemento alimenticio, ingrediente funcional,
20 producto farmacéutico o cosmético.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que contenga concentrado de proantocianidinas poliméricas obtenidas por el procedimiento definido anteriormente o a una sal farmacéuticamente aceptable del
25 mismo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

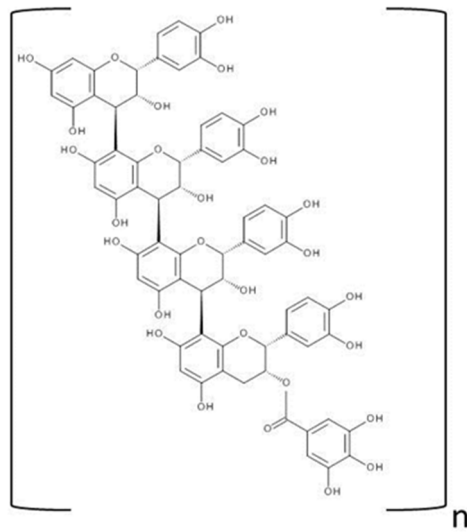
Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de la composición farmacéutica definida anteriormente para la fabricación de un producto farmacéutico dirigido a salud gastrointestinal, incluyendo la inhibición de pólipos intestinales y
30 criptas aberrantes como elementos de prevención y tratamiento de cáncer de colon. Así mismo, el uso en productos farmacéuticos para la reducción de factores de riesgo cardiovascular, principalmente colesterol total, LDL, triglicéridos y porcentaje de grasa corporal.

35 Así, la invención se refiere al procedimiento de obtención de un concentrado de proantocianidinas poliméricas con una concentración en peso de al menos el 90%, tal

y como se ha mencionado anteriormente, que comprende sucesivas etapas de tratamiento con enzimas sin utilización de disolventes orgánicos.

En otra realización la invención se refiere al procedimiento descrito anteriormente, donde las proantocianidinas poliméricas están constituidas por monómeros de (epi)catequina, (epi)galocatequina y (epi)catequín-3-O-galato.

En otra realización la invención se refiere al procedimiento descrito anteriormente, donde las proantocianidinas poliméricas son de fórmula I:



10

Fórmula I

donde n representa un número entero entre 11 y 150.

En otra realización la invención se refiere al procedimiento descrito anteriormente, donde las enzimas se seleccionan de proteasas, hemicelulasas y celulasas.

En otra realización la invención se refiere al procedimiento descrito anteriormente, donde el uso de las enzimas es por acción secuencial, y preferiblemente donde el uso de las enzimas es por acción secuencial mediante un primer tratamiento con proteasas y un tratamiento posterior con hemicelulasas y celulasas.

En otra realización la invención se refiere al procedimiento descrito anteriormente, donde:

las enzimas se seleccionan de proteasas, hemicelulasas y celulasas; y

su uso es por acción secuencial, y preferiblemente donde el uso de las enzimas es por acción secuencial mediante un primer tratamiento con proteasas y un tratamiento posterior con hemicelulasas y celulasas.

5 En otra realización la invención se refiere al procedimiento descrito anteriormente, donde las proteasas se seleccionan de proteasas de tipo VIII de *Bacillus licheniformis*.

En otra realización la invención se refiere al procedimiento descrito anteriormente, caracterizado por obtenerse a partir material vegetal.

10

En otra realización la invención se refiere al procedimiento descrito anteriormente, donde el material vegetal se selecciona de caqui y algarroba.

15

En otra realización la invención se refiere al procedimiento descrito anteriormente, caracterizado porque el material vegetal se trata previamente con medio acuoso para obtener un sobrenadante (conteniendo azúcares y compuestos de bajo peso molecular) que se elimina, obteniendo así un residuo sólido que contiene proantocianidinas poliméricas. Por medio de los tratamientos enzimáticos sobre este residuo se eliminan polímeros de carbohidratos y proteínas y otros compuestos, obteniendo un concentrado de proantocianidinas poliméricas que presenta características diferenciales respecto a los extractos de proantocianidinas actualmente existentes: mayor peso molecular de las proantocianidinas, ausencia de disolventes orgánicos en la obtención, y mayor aprovechamiento de la materia vegetal original.

20

25

En otra realización la invención se refiere al procedimiento descrito anteriormente, donde el residuo resultante del tratamiento enzimático se somete a una etapa de secado.

30

En otra realización la invención se refiere al procedimiento descrito anteriormente, donde el secado se realiza por liofilización o secado a vacío.

35

En otra realización la invención se refiere al procedimiento descrito anteriormente, donde el concentrado de proantocianidinas poliméricas obtenido se somete a una molienda para obtener un tamaño de partícula desde nanómetros hasta 250 mm.

La presente invención se refiere a un ingrediente alimentario que comprende el producto de la invención y uno o más aditivos alimentarios de uso tecnológico aceptables, esto es, que siendo compatibles con el producto de la invención y sin ser perjudiciales para quien tome dicho producto, añadan mejoras funcionales, sensoriales, de estabilidad, o tecnológicos. Este ingrediente se podrá incorporar a distintas dosis a diferentes matrices alimentarias (bebidas, productos de panadería, preparados cárnicos y de pescado, productos untables, productos lácteos, etc.), dando lugar a un nuevo producto.

La presente invención también se refiere a un producto cosmético que comprende el producto de la invención y uno o más excipientes cosméticos aceptables, esto es, que siendo compatibles con el producto de la invención y sin ser perjudiciales para quien tome dicho producto, añadan mejoras funcionales, sensoriales, de estabilidad, o tecnológicos. Este producto cosmético podrá tener cualquiera de las formas habituales de presentación de estos productos: crema, pomada, loción, etc.

La presente invención también se refiere a un complemento alimenticio que comprende el producto de la invención y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, esto es, que siendo compatibles con el producto de la invención y sin ser perjudiciales para quien tome dicho complemento, añadan mejoras funcionales, sensoriales, de estabilidad, o tecnológicos. Este complemento alimenticio podrá tener cualquiera de las formas habituales de presentación de estos productos: sobres, comprimidos, cápsulas, etc.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la invención solo o junto con otros compuestos activos (o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo) y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes deben ser “aceptables” en el sentido de ser compatibles con los demás ingredientes de la composición y de no ser perjudiciales para quién tome dicha composición.

A lo largo de la invención, el término “acción secuencial” se refiere al uso de las enzimas del procedimiento de la invención de forma consecutiva. Preferiblemente de forma que inicialmente se lleva a cabo un tratamiento con proteasas y posteriormente un tratamiento con hemicelulasas y celulasas.

Los compuestos de la presente invención pueden ser administrados en forma de cualquier formulación farmacéutica, la naturaleza de la cual, como es bien sabido, dependerá de la naturaleza del principio activo y de su vía de administración. En principio se puede utilizar cualquier vía de administración, por ejemplo oral, parenteral, nasal, ocular, rectal, y tópica.

Las composiciones sólidas para la administración oral incluyen comprimidos, granulados y cápsulas. En cualquier caso el método de fabricación está basado en una mezcla simple, granulación seca o granulación húmeda del principio activo con excipientes. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes tales como lactosa, celulosa microcristalina, manitol o hidrogenofosfato cálcico; agentes aglutinantes como por ejemplo almidón, gelatina o polivinilpirrolidona; disgregantes como carboximetilalmidón sódico o croscarmelosa sódica; y agentes lubricantes como por ejemplo estearato magnésico, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden ser además recubiertos con excipientes adecuados y mediante técnicas conocidas con el objeto de retrasar su disgregación y absorción en el tracto gastrointestinal y así conseguir una acción sostenida durante un mayor período de tiempo, o simplemente para mejorar sus propiedades organolépticas o su estabilidad. El principio activo puede también ser incorporado por recubrimiento sobre *pellets* inertes mediante el uso de polímeros filmógenos naturales o sintéticos. También es posible la realización de cápsulas de gelatina blanda, en las que el principio activo se mezcla con agua o con medio oleoso, por ejemplo aceite de coco, parafina líquida o aceite de oliva.

Se pueden obtener polvos y granulados para la preparación de suspensiones orales mediante la adición de agua, mezclando el principio activo con agentes dispersantes o humectantes; suspensantes y conservantes. También pueden añadirse otros excipientes, por ejemplo edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

Como formas líquidas para la administración oral se pueden incluir emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires que contienen diluyentes inertes comúnmente utilizados, tales como agua destilada, etanol, sorbitol, glicerol, polietilenglicoles (macrogoles) y propilén glicol. Dichas composiciones pueden también contener coadyuvantes como agentes humectantes, suspensantes, edulcorantes, aromatizantes, conservantes y reguladores de pH.

35

Preparaciones inyectables, de acuerdo con la presente invención, para la administración parenteral, comprenden soluciones, suspensiones o emulsiones estériles, en un solvente acuoso o no acuoso como propilénglicol, polietilénglicol o aceites vegetales. Estas composiciones pueden también contener coadyuvantes, como humectantes, emulsionantes, dispersantes y conservantes. Podrían ser esterilizadas por cualquiera de los métodos conocidos o preparadas como composiciones sólidas estériles que serán disueltas en agua o cualquier otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de uso. También es posible partir de materias primas estériles y mantenerlas en estas condiciones durante todo el proceso de fabricación.

Para la administración rectal, el principio activo puede ser formulado preferentemente como supositorio en una base oleosa, como por ejemplo aceites vegetales o glicéridos semisintéticos sólidos, o en una base hidrófila como polietilénglicoles (macrogol).

Los compuestos de la invención pueden también ser formulados para su aplicación tópica para el tratamiento de patologías en zonas u órganos accesibles por esta vía, como ojos, piel y tracto intestinal. Formulaciones incluyen cremas, lociones, geles, polvos, soluciones y parches en las que el compuesto se encuentra dispersado o disuelto en excipientes adecuados.

Para la administración nasal o por inhalación, el compuesto puede presentarse formulado en forma de aerosol de dónde es convenientemente liberado con el empleo de propelentes adecuados.

La dosificación y la frecuencia de las dosis variarán en función de la naturaleza y gravedad de la enfermedad a tratar, la edad, la condición general y el peso del paciente, así como también del compuesto particular administrado y la vía de administración, entre otros factores. A título de ejemplo, un rango adecuado de dosificación oscila entre alrededor de 0,01 mg/Kg y alrededor de 100 mg/Kg por día, que pueden administrarse como dosis única o en varias tomas.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la

invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

EJEMPLOS

5

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

10

Los tratamientos enzimáticos y sus condiciones experimentales se han seleccionado después de muchos ensayos con distintos tipos de enzimas y combinaciones de los mismos.

De esta manera, las siguientes enzimas han sido descartadas para su uso en el procedimiento de la presente invención:

15

1) Pepsina. Se utilizó pepsina de mucosa gástrica porcina (P700 Sigma-Aldrich), se llevó a cabo este procedimiento: añadir 10 L de tampón HCl-KCl (tampón HCl-KCl 0,2M: Preparar 14,91 g de KCl/ 1000 ml agua destilada. Por otro lado, 15,56g HCl 37%/ 1000 ml de agua destilada. Mezclar 250 ml de KCl con 150 ml de HCl y añadir 500 de agua destilada. Ajustar pH a 1,5 y enrasar a 1 litro) y ajustar pH a 1,5. Añadir 200 mL de pepsina (300mg/ml tampón HCl-KCl), e incubar 1 h a 40°C.

20

2) Pancreatina. Se utilizó pancreatina de páncreas porcino (P7545 Sigma-Aldrich): añadir 4,5 L de tampón fosfato pH 7,5 (Tampón fosfato 0,1M: Preparar 13,8 g de fosfato sódico en 700 ml de agua destilada. Por otro lado, 20,41g de NaOH en 500ml de agua destilada. Añadir 70 ml NaOH 1N, ajustar pH a 7,5 y enrasar a 1 litro) y ajustar la muestra a ese pH. Añadir 1 L de pancreatina (5mg/ml tampón fosfato pH7,5), e incubar 6 h a 37°C.

25

3) Viscozyme. Se utilizó un complejo enzimático celulítico de *Aspergillus sp.* (V2010, Sigma-Aldrich) se añadieron 10 L de tampón acetato 0,1M (tampón acetato 0,1M: mezclar 3,33 g acetato sódico, 0,360 mL ácido acético y 900 mL de agua destilada. Ajustar pH a 4,6 y enrasar a 1L con agua destilada), ajustar pH a 4,6 y adicionando 20 mL de Viscozyme (solución comercial) e incubando 12 h a 50°C

30

4) Xilanasa. Se utilizó xilanasa procedente de *Thermomyces lanuginosus* (X2753, Sigma-Aldrich). Añadir 10 L de tampón acetato 0,1 M, ajustar pH a 4,6, añadir 1 L de xilanasa (6 mg/mL tampón acetato 0,1M) e incubar 16 h a 75°C.

5 Así, se ha descartado el uso de estos tres enzimas en los ensayos llevados a cabo para la invención por presentar una concentración de proantocianidinas poliméricas del orden de un 40% inferior (en el caso de viscozyme y xilanasa) y de un 50% inferior (en el caso de pepsina y pancreatina) al conseguido con las enzimas seleccionadas para llevar a cabo la invención y que se detallan a continuación.

10

Ejemplo 1: obtención del concentrado de proantocianidinas poliméricas.

Obtención a partir de algarroba (*carob pod*).

1) Preparación de material vegetal.

15 Se parte de las vainas de algarroba. En primer lugar se extraen y descartan las semillas (que actualmente se utilizan para obtención industrial de goma de garrofin-*locust bean gum*-) y se procede al molido de las vainas resultando una harina de algarroba (en adelante, harina original).

20 La harina se homogeneiza en medio acuoso con un *Polytron* (o equipo equivalente) empleando una proporción adecuada de agua (15 L agua/kg harina original). El homogeneizado se somete a agitación (30 minutos a temperatura inferior a 60°C) con objeto de disolver azúcares y otros sólidos solubles. A continuación, se centrifuga (10 minutos a 3000 g), se descarta el sobrenadante y el residuo sólido resultante es el
25 material de partida para la obtención del concentrado de proantocianidinas poliméricas.

2) Obtención del concentrado de proantocianidinas poliméricas.

Requiere sucesivos tratamientos enzimáticos que tienen por objetivo eliminar los
30 compuestos insolubles y poliméricos distintos a las proantocianidinas poliméricas que contiene el residuo procedente de la centrifugación.

2.1 Tratamiento con proteasa

Al residuo procedente de 1) se le añade una solución acuosa de NaOH 0,275 M (10
35 L/kg harina original), se ajusta el pH a 7,5 y se homogeneiza de forma similar a lo descrito en 1). Se añaden 100 mL de proteasa de *Bacillus licheniformis* (solución en

tampón fosfato 0,08M pH 6,0). Se incuba 35 min a 60°C con agitación constante. Se centrifuga (10 minutos a 3000 g), se descarta el sobrenadante y el residuo se utiliza en la siguiente etapa.

5 2.2 Tratamiento combinado con celulasa y hemicelulasa

Al residuo procedente de 2.1 se le añade tampón acetato pH 4,6 0,1M (5L/kg harina original), se ajusta el pH a 4,6 y se homogeneiza. Se añaden 500 mL de celulasa (actividad 2 u/mg) y 500 mL de hemicelulasa (actividad 0,3 u/mg), ambas en la solución del tampón pH 4,6. Se incuba 16 h a 43°C con agitación constante. Se
10 centrifuga (10 minutos a 3000 g), se descarta el sobrenadante y el residuo se utiliza en la siguiente etapa.

2.3 Secado y molienda

El residuo procedente de 2.2 se seca a baja temperatura (<60°C) utilizando tecnología
15 habitual (liofilización o secado a vacío o *spray-drying*, etc.). A continuación se somete a una molienda para obtener un tamaño de partícula adecuado según aplicabilidad prevista, utilizando también tecnología habitual (molino centrífugo u otros, micronizador, formación de nanopartículas, etc.).

20 3) Producto resultante

Se trata de un polvo seco, con un contenido superior al 90% de proantocianidinas poliméricas.

El contenido se determina según el procedimiento descrito por Zurita (ver Int. J. Food
25 Sci. Nutr., *“Improved procedure to determine non-extractable polymeric proanthocyanidins in plant foods”*, 63, 936-39).

Obtención a partir de caqui (*persimmon*).

Se utiliza el mismo procedimiento que en el caso de la algarroba, pero en este caso el
30 material vegetal utilizado es la pulpa y piel del caqui (caqui deshuesado), que se homogeneiza de forma similar.

Ejemplo 2: Uso de las proantocianidinas poliméricas como complemento alimenticio o ingrediente funcional

En un trabajo previo se proporcionó un producto de uva conteniendo un 15% de
35 proantocianidinas poliméricas, a través de sobres monodosis (7,5 g de producto), cuyo contenido se disolvía en agua para su consumo. Tras el consumo diario de este

producto durante 16 semanas, se observaron resultados positivos en sujetos hipercolesterolémicos en diferentes parámetros: colesterol total, colesterol LDL, triglicéridos, % de grasa corporal, presión sanguínea (Pérez-Jiménez et al., Nutr., 24, 2008, 646-53). Numerosos estudios en animales con proantocianidinas de uva también han observado estos efectos y han elucidado los mecanismos moleculares implicados (Bladé et al., Molec. Nutr. Food Res., 54, 2010, 37-59; Decordé et al., Molec. Nutr. Food Res., 53, 2009, 659-66; Kruger et al., Food Res. Int., 59, 2014, 41-52); igualmente, estos efectos se han observado para proantocianidinas de alto peso molecular de caqui (Zou et al., Food Res. Intl., 48, 2012, 970-77). Igualmente, las proantocianidinas de uva han mostrado, en distintos modelos animales, efectos positivos en relación con el metabolismo de carbohidratos, incluyendo glucemia, insulinemia y otros marcadores relacionados (Castell-Auví et al., J. Nutr. Biochem., 23, 2012, 1565-72; Mesproom et al., Br. J. Nutr., 106, 2011, 1173-81). Cabe esperar que el concentrado cuya obtención se describe en esta invención, con un contenido muy superior de proantocianidinas poliméricas, produzca resultados más acusados y/o con menores dosis.

Ejemplo 3: Uso de las proantocianidinas poliméricas como producto cosmético

Se ha descrito que las proantocianidinas de uva son capaces de inhibir la oxidación causada por rayos UV en cultivos celulares de epidermis (queratinocitos) (Mantena et al. Free Radical Biol. Med., 40, 2006, 1603-14). Efectos similares se observaron en ratones irradiados con UVB, tras la aplicación tópica de un extracto de proantocianidinas de uva (Filip et al. Food Chemical Toxicol., 2013). Cabe esperar que el concentrado cuya obtención se describe en esta invención, con un contenido muy superior de proantocianidinas poliméricas, produzca resultados más acusados y/o con menores dosis.

Ejemplo 4: Composición farmacéutica que contiene proantocianidinas poliméricas para la prevención del riesgo cardiometabólico.

Como se ha indicado en el Ejemplo 2, el consumo prolongado de proantocianidinas poliméricas ha dado lugar a efectos beneficiosos en distintos marcadores de riesgo cardiometabólico. Esto se deben a distintas propiedades de las proantocianidinas, entre ellas, sus conocidos efectos antiinflamatorios (Kruger et al., Food Res. Int., 59, 2014, 41-52; Mena et al., IUBMB Life, 66, 2014, 745-58). Cabe esperar que la mayor concentración de estos compuestos en el producto de la presente invención, permitan alcanzar esos efectos a menores dosis y podría por tanto ser incorporado en

formulaciones farmacéuticas, solo o en combinación con otros compuestos activos incorporados a la práctica clínica habitual.

5 **Ejemplo 5: Uso de la composición farmacéutica para la salud gastrointestinal, incluyendo la inhibición de pólipos intestinales y criptas aberrantes como elementos de prevención y tratamiento de cáncer de colon**

Trabajos previos han mostrado que las proantocianidinas de distintos productos derivados de la uva presentan efectos beneficiosos en relación a distintos parámetros de salud gastrointestinal: efectos reguladores en colitis ulcerosa (Wang et al., Intl. Immunopharmacol., 10,2011, 1620-27), aumento de capacidad antioxidante cecal (Goñi and Serrano, J Sci Food Agric 85,1877-1881), descenso de oxidación lipídica en mucosa colónica (López-Oliva et al., Br J Nutr 14, 2013, 4-16), sobreexpresión de enzimas detoxificantes (López-Oliva et al. Nutr. Res., 26, 2006, 653-68; López-Oliva et al., Br J Nutr 14, 2013, 4-16), estimulación del crecimiento de *Lactobacillus* (Pozuelo et al., J Food Sci 77, 2012, 59-6). Es especialmente destacable que estos compuestos han mostrado capacidad para reducir las criptas intestinales en ratas sanas (López-Oliva et al. Nutr. Res., 26, 2006, 653-68), así como el número y tamaño de los pólipos intestinales en un modelo animal validado de cáncer de colon, los ratones *Apc*^{Min+/-} (Sánchez-Tena et al. Carcinog., 34, 2013, 1881-88; Velmuragan et al., Neoplasia, 12, 2010, 95-102), habiéndose identificado algunos de los mecanismos moleculares responsables de estos efectos (Kaur et al., Mol. Carcinog., 50, 2011, 553-62; Roy et al., Neoplasia, 7, 2005, 24-36). Cabe esperar que el concentrado cuya obtención se describe en esta invención, con un contenido muy superior de proantocianidinas poliméricas, produzca resultados más acusados y/o con menores dosis.

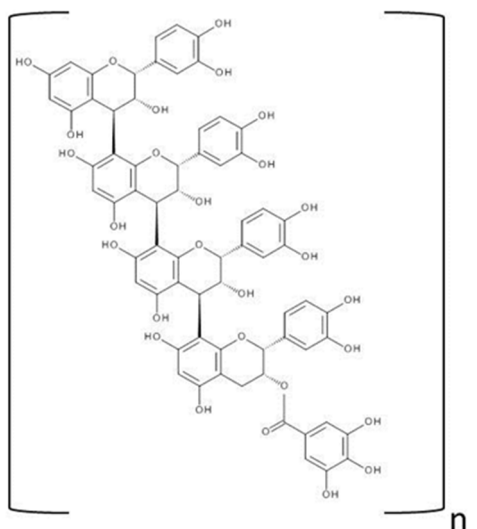
REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de obtención de un concentrado de proantocianidinas poliméricas con una concentración en peso de al menos el 90%, caracterizado por que comprende sucesivas etapas de tratamiento con enzimas.

2. El procedimiento según la reivindicación 1, donde las proantocianidinas poliméricas están constituidas por flavanoles.

3. El procedimiento según la reivindicación 2, donde los monómeros de flavanoles se seleccionan de (epi)catequina, (epi)galocatequina y (epi)catequín-3-O-galato

4. El procedimiento según la reivindicación 1, donde las proantocianidinas poliméricas son de fórmula I:



Fórmula I

donde n representa un número entero entre 11 y 150.

5. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde las enzimas se seleccionan de proteasas, hemicelulasas y celulasas.

6. El procedimiento según la reivindicación 5, donde las proteasas se seleccionan de proteasas de tipo VIII de *Bacillus licheniformis*.

7. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por obtenerse a partir material vegetal.

8. El procedimiento según la reivindicación 7, donde el material vegetal se selecciona de caqui y algarroba.
- 5 9. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7 u 8, caracterizado por que el material vegetal se trata previamente en medio acuoso que se centrifuga y decanta para obtener un residuo sólido que contiene el concentrado de proantocianidinas.
- 10 10. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde el residuo resultante del tratamiento enzimático se somete a una etapa de secado.
11. El procedimiento según la reivindicación 10, donde el secado se realiza por liofilización o secado a vacío.
- 15 12. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde el concentrado de proantocianidinas poliméricas obtenido se somete a una molienda para obtener un tamaño de partícula desde nanómetros hasta 250 mm.
- 20 13. Concentrado de proantocianidinas poliméricas con una concentración en peso de al menos el 90% obtenidas por el procedimiento descrito en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.
- 25 14. Uso del concentrado de proantocianidinas poliméricas tal y como se ha definido en la reivindicación 13, como complemento alimenticio, ingrediente funcional o producto cosmético.
- 30 15. Composición farmacéutica que contiene el concentrado de proantocianidinas poliméricas tal y como se ha definido en la reivindicación 13, solo o como parte de una formulación con otros compuestos activos, o a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 35 16. Uso de la composición tal y como se han definido en la reivindicación 15, para la fabricación de un producto farmacéutico para la salud gastrointestinal, incluyendo la inhibición de pólipos intestinales y criptas aberrantes como elementos de prevención y tratamiento de cáncer de colon.

17. Uso de la composición tal y como se han definido en la reivindicación 15, para la fabricación de un preparado farmacéutico para la reducción de factores de riesgo cardiovascular, como colesterol total, LDL, triglicéridos y porcentaje de grasa corporal, entre otros.

5