



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 321 164**

51 Int. Cl.:

A61K 8/60 (2006.01)

A61K 36/73 (2006.01)

A61K 8/97 (2006.01)

A61K 31/05 (2006.01)

A61K 31/70 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02290833 .9**

96 Fecha de presentación : **04.04.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1338270**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.08.2003**

54 Título: **Utilización de una fracción fenólica rica en dihidrochalconas en un tratamiento cosmético.**

30 Prioridad: **26.02.2002 FR 02 02418**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.06.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.06.2009

73 Titular/es: **Diana Ingrédients
Talhouët
56250 Saint-Nolff, FR**

72 Inventor/es: **Gaudout, David;
Megard, Denis y
Lejard, Frédéric**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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

Utilización de una fracción fenólica rica en dihidrochalconas en un tratamiento cosmético.

5 La presente invención se refiere a la utilización de una fracción polifenólica rica en dihidrochalconas en el tratamiento cosmético de mamíferos con el fin de limitar la carga ponderal, mejorar el aspecto estético del cuerpo y tratar ciertas formas de obesidad no patológicas. La invención es también relativa a la utilización de una composición alimentaria o nutracéutica a base de esta fracción fenólica.

10 Se conoce que los compuestos polifenólicos están muy extendidos en el reino vegetal. Los más abundantes son el ácido clorogénico, las procianidinas B1 y B2, el epicatequina, la floretina, la floridzina y el ácido p-cumárico. Por lo tanto, existen en el mercado numerosos productos ricos en polifenoles, siendo los más corrientes extraídos del té verde, de las pepitas de uva y de la corteza de pino (patente de EE.UU. n° 4.698.360, solicitudes de patentes europeas n° 348781, 283349, solicitudes de patentes francesas n° 1.427.100, 2.092.743, 2.643.073 y 2.372.823).

15 Ya se describió en la solicitud de patente europea n° 657169 la extracción de una fracción polifenólica a partir de frutas no maduras (que pesan de 3 a 10 gramos) de la familia de las *Rosaceae* (manzana, pera ...). La fracción polifenólica así definida se caracteriza por un alto contenido en derivados de la familia de los ácidos hidroxicinámicos (ácido clorogénico, cafeico y p-cumárico) y en moléculas de la familia de los flavanoles (catequina, epicatequina y procianidina). La floridzina de estos extractos procedentes de frutas no maduras representa menos del 7% en peso del conjunto de los compuestos fenólicos y las dihidrochalconas (floridzina y floretina) típicos de las rosáceas menos del 9%. Entre los compuestos fenólicos presentes en el reino vegetal, la floretina y su derivado glicosilado, la floridzina son típicos de la manzana y de otras frutas de la familia de las *Rosaceae*. Se encuentra la floridzina en cantidad importante en las pipas y en la corteza de los árboles, y en cantidad bien en el jugo y la piel de manzana.

20 La floridzina se conoce desde hace tiempo por su actividad de bloqueo de la asimilación de la glucosa. Uno de los mecanismos de acción descrito sería que la floridzina entra en competición con los azúcares simples y, por lo tanto, limita su transporte en la sangre (Alvarado y Crane, *Biochim. Biophys. Acta* 56, pág 170, 1962). Otro mecanismo, que se puede vincular al precedente, hará intervenir el bloqueo de los sistemas de transporte sodio-dependientes de los oligosacáridos tales como glucosa, galactosa, xilosa ... a nivel del intestino delgado (Esaki *et al.*, *Agric. Bio. Chem.* 55, 11, pág. 2855, 1991). Parece que el transportador "natural" del azúcar dispone de dos lugares independientes, el lugar de afinidad "azúcar" y el lugar de afinidad "fenol", y que la floridzina, al vincularse fuertemente al transportador por interacción sobre los dos lugares, bloquea el transporte de los azúcares a través de las membranas.

25 Estas hipótesis fueron confirmadas por trabajos *in vivo*. La floridzina se estudió desde hace tiempo experimentalmente con éxito para disminuir la disponibilidad de la glucosa sanguínea y causar una glicosuria (presencia de glucosa en las orinas) en la oveja (Goetsch y Pritchard. *Am. J. Vet. Res.* 19, pág 637, 1958), la cabra (Schultz *et al.*, *J. Dairy Sci.* 32, pág. 817, 1949) y el vacuno (Lyle *et al. J. Dairy Sci.* 67, pág. 2255, 1984; Young *et al. J. Dairy Sci.* 57, pág. 689, 1974). De 2 a 4 gramos de floridzina al día durante 48 h en inyección subcutánea a una vaca son suficientes para implicar una disminución drástica del contenido en glucosa y en insulina del plasma sanguíneo y la excreción de 225 a 337 gramos de glucosa al día en las orinas del animal tratado (Amaral-Phillips *et al.*, *J. Dairy Sci.* 76, pág. 752, 1993).

30 Este mecanismo de bloqueo del transporte membranal de la glucosa es muy interesante en particular en los regímenes occidentales para la prevención de la diabetes y para el tratamiento de algunas formas de obesidad. Dos patentes hacen así intervenir la floridzina en composiciones medicamentosas destinadas a bloquear el transporte de la glucosa. La patente checa n° 1993000931986 (Valovic) describe una mezcla a base de ácidos fosfórico, sulfúrico, láctico, de creosota, de trióxido de arsénico, de sulfato de sodio y de extractos de plantas entre los cuales la floridzina extraída de corteza de árbol frutal. La patente de EE.UU. n° 5.985.850 (Falk et Asculai) describe composiciones farmacéuticas que hacen intervenir el ácido hialurónico como transportador de moléculas activas (entre los cuales la floridzina o moléculas de la misma familia) para bloquear el transporte de la glucosa en algunos tipos de células.

35 En el triturado o zumo de manzana, las dihidrochalconas (floretina y floridzina) están presentes en cantidad menor con respecto a los otros polifenoles. El ácido clorogénico y las procianidinas son los polifenoles mayoritarios de las manzanas, tanto manzanas "de sidra" como "de cuchillo", la floridzina y la floretina no representan nunca más de 5% en peso de los polifenoles totales de las manzanas maduras (Karadeniz y Ekski, 1996, Sanoner *et al.*, 1999 a y b).

40 En los extractos polifenólicos conocidos, las proporciones entre las distintas moléculas fenólicas se conservan con respecto a las proporciones presentes en las distintas materias primas. Se obtienen, por lo tanto, clásicamente extractos polifenólicos ricos en ácido hidroxicinámicos (ácidos cafeico, clorogénico y cumárico) y pobres en dihidrochalconas (floridzina y floretina):

Compuesto fenólico	Manzana * en mg/l de jugo o kg de triturado	Extracto polifenólico conocido de manzana en mg/g de polvo
Ácido cafeico	ε (no cuantificable)	21,7
Catequina	ε a 150	15,1
Ácido clorogénico	60 a 1200	161,0
Procianidinas	500 a 5000	69,6 (B1 y B2)
Ácido p-cumárico	1 a 150	9,3
Epicatequina	ε a 1400	41,4
floridzina	6 a 100	32,7
Quercitrina	ε	1,9
Floretina	5 a 100	9,5
Polifenoles totales (expresados en equivalente floridzina)		483,4

ε = cantidad no cuantificable

* valores compilados de medidas sobre 15 variedades de manzanas de sidra y 3 variedades de manzanas de cuchillo sobre 3 campañas (Karadeniz y Ekski, 1996).

Karadeniz F. and Ekski A. 1996. Phenolic compounds in apple juice from different varieties. *Scientific technical Com. Int. FED. Fruit Juice Producers*, 24, pág 265-275.

Sanoner P., Guyot S., Marnet N. y Drilleau J.F. 1999. Polyphenolic profiles of French cider apples varieties. En "Polyphenols, wines and health", simposio, Burdeos, 14-16 de abril.

Sanoner P., Guyot S., Marnet N., Molle D. and Drilleau J. F. 1999. Polyphenol profiles of French cider apple varieties. *J. Agric. Food Chem.* 47, pág . 4847-4853.

El ácido cafeico es en realidad un producto de degradación del ácido clorogénico ya que hay muy poco, o incluso nada, de ácido cafeico naturalmente presente en las manzanas (Fiedler, 1954, *Arzneimittel-Forsch* 4,41).

La firma solicitante se interesó por una fracción fenólica de la manzana, siendo bien conocida esta última por sus efectos beneficiosos para la salud (Blackholly H. *Nut. and Food Sci.*, 109, pág. 2-4, 1987). La firma solicitante puso a punto la utilización cosmética de fracciones fenólicas ricas en dihidrochalconas, que constituye el objeto de la invención.

Otro objeto está constituido por las aplicaciones de esta fracción como complemento alimentario, nutracéutica o cosmético en el marco de un tratamiento cosmético destinado a mejorar el aspecto estético del cuerpo.

Otros objetos aparecerán en la lectura de la descripción y los ejemplos que siguen.

La presente invención tiene por objeto, en el tratamiento cosmético de mamíferos, la utilización de fracciones fenólicas ricas en dihidrochalconas a partir de frutas de la familia de las *Rosaceae*. Estas fracciones fenólicas ricas en dihidrochalconas presentan excelentes propiedades de regulación del metabolismo glucídico, más concretamente la propiedad de reducir la asimilación de los oligosacáridos, en particular, de la glucosa, por bloqueo de los sistemas de transporte de los oligosacáridos. Desempeñan, en el marco de un tratamiento cosmético destinado a mejorar el aspecto estético del cuerpo, un papel activo en la limitación de la carga ponderal, el control de la toma de peso y en algunas formas de obesidad no patológicas.

La utilización de estas fracciones en las preparaciones alimentarias o nutracéuticas para la limitación de la carga ponderal, el control de la toma de peso y algunas formas de obesidad no patológicas constituye el objeto de la invención.

Las fracciones polifenólicas ricas en dihidrochalconas utilizadas en la invención incluyen al menos un 10% en peso de polifenoles y preferentemente un 50%, 10% de los cuales al menos en peso está formado por floridzina y preferentemente entre 10 y 70%. Estos extractos pueden contener también ácido clorogénico, epicatequina, procianidinas, quercitrina, ácido p-cumárico, así como floretina.

ES 2 321 164 T3

Una composición especialmente preferida de estas fracciones polifenólicas es que contiene en peso:

- más del 10% de polifenoles totales, preferentemente más del 50%,
- al menos 30% de polifenoles en floridzina, y preferentemente de 30 a 40% en peso,
- a lo sumo 11% de polifenoles en ácido clorogénico, y preferentemente entre 2 y 11%,
- a lo sumo 4% de polifenoles en epicatequina,
- a lo sumo 2% de polifenoles en procianidina B2,
- a lo sumo 2% de polifenoles en quercitrina,
- a lo sumo 2% de polifenoles en quercetina,
- a lo sumo 0,5% de polifenoles en ácido p-cumárico, y
- menos del 0,5% de los polifenoles en ácido cafeico.

Las fracciones polifenólicas se caracterizan porque las dihidrochalconas están presentes en proporciones superiores o iguales a 40% en peso con respecto a los ácidos hidroxicinámicos.

El ácido cafeico está presente en proporciones en peso inferiores a 20% del peso de floridzina presente. Preferentemente, el ácido cafeico representa menos de 1% en peso de los polifenoles totales de los extractos.

La proporción de floridzina es 9 veces superior en peso a la de la catequina.

La cantidad de floridzina presente es al menos equivalente en peso a la del ácido clorogénico.

Las fracciones polifenólicas utilizables para la aplicación contemplada pueden contener floretina: por una hidrólisis ácida proporcionada (Merck Index, 12ª edición), se puede transformar la casi totalidad de la floridzina en floretina.

En las fracciones fenólicas según la invención, las dihidrochalconas están presentes en proporciones superiores o iguales a 40% en peso con respecto a los ácidos hidroxicinámicos.

Las fracciones polifenólicas ricas en dihidrochalconas utilizadas en la invención pueden ser obtenidas por el procedimiento de extracción siguiente que permite la extracción selectiva de una fracción polifenólica rica en dihidrochalconas a partir de manzanas maduras:

- ❖ Las manzanas trituradas son objeto de una o más extracciones sólido/líquido, en presencia o no de agua añadida.
- ❖ El extracto sólido húmedo obtenido bien sea se seca a continuación, o bien se licua enzimáticamente para obtener un extracto líquido.
- ❖ El extracto sólido seco se somete a nuevas extracciones durante un tiempo comprendido entre 10 minutos y 2 horas por un disolvente orgánico polar, preferentemente un alcohol alifático en C1-C4, puro o en mezcla con agua para obtener un extracto orgánico.
- ❖ Éste se evapora en seco a una temperatura inferior o igual a 60°C preferentemente bajo presión reducida.
- ❖ Este residuo es recogido a continuación por el agua antes de ser agotado varias veces, preferentemente 4 veces, por un disolvente no miscible en agua, preferentemente el acetato de etilo o el acetato de metilo o de propilo.
- ❖ Las soluciones orgánicas obtenidas se mezclan y se evaporan en seco a una temperatura inferior a 60°C, preferentemente inferior a 50°C, para obtener la fracción polifenólica que es objeto de la presente invención.
- ❖ Por otra vía, el extracto sólido húmedo se mezcla al agua en presencia de una mezcla enzimática durante un tiempo comprendido entre 1 y 4 horas a una temperatura comprendida entre 30 y 50°C, preferentemente entre 40 y 45°C, para obtener un extracto líquido.
- ❖ Este extracto líquido se clarifica por centrifugación o por filtración luego por ultrafiltración.
- ❖ El extracto se carga sobre una columna cromatográfica llena de una resina adsorbente de tipo estireno-divinilbenceno. La resina se lava con agua acidificada para eliminar las impurezas y los azúcares residuales. Los polifenoles se eluyen a continuación por una solución hidroalcohólica que contiene entre 40 y 70% de

etanol preferentemente entre 50 y 60% en peso. Otros alcoholes alifáticos en C1-C4 se pueden utilizar tales como el metanol o el butanol.

❖ En caso necesario, se introduce una etapa de desencaramiento en curso del procedimiento.

❖ El producto obtenido por extracción se recoge una última vez al agua antes de ser secado preferentemente por atomización o liofilización para obtener un polvo de color beige que contiene al menos 20% en peso de polifenoles, preferentemente más del 50% de polifenoles, y 10% de los cuales en peso y preferentemente entre 10 y 70% de polifenoles son dihidrochalconas, preferentemente floridzina.

Las fracciones son obtenidas por el procedimiento anteriormente descrito preferentemente a partir de manzanas maduras de la familia de las rosáceas y en particular de la especie *Malus sylvestris* Mill.

Este extracto de manzanas comestibles que poseen las características enunciadas, obtenido según el procedimiento anteriormente descrito, es utilizable como complemento alimentario o nutraceutico.

La invención tiene también por objeto la utilización de una composición cosmética que comprende, entre otras cosas, la fracción polifenólica rica en dihidrochalconas anteriormente descrita.

La invención tiene también por objeto la utilización de una composición alimentaria para el tratamiento cosmético con el fin de limitar la carga ponderal, para el tratamiento cosmético de algunas formas de obesidad no patológicas y mejorar el aspecto estético del cuerpo.

El extracto polifenólico, al disminuir considerablemente la absorción de los azúcares por los tejidos, tiene un papel beneficioso sobre el control de la sobrecarga ponderal y de la obesidad, y se puede, por lo tanto, utilizar ventajosamente en productos nutraceuticos o alimentarios con vocación "esbeltez".

Según el modo de administración, la composición según la invención se puede presentar bajo todas las formas habitualmente utilizadas en cosmética tales como por ejemplo productos alimentarios complementados, cápsulas de gelatina o bebidas.

Las composiciones nutraceuticas, alimentarias o cosméticas de la presente invención se formulan clásicamente según la aplicación a la cual se destina.

Los ejemplos siguientes ilustran la invención sin limitarlo en ningún caso.

Ejemplo 1

Actividad de inhibición del transporte de la glucosa por la fracción polifenólica rica en floridzina

Los transportadores membranales de la glucosa (GLUTs) son transportadores universales de la glucosa y del ácido deshidroascórbico (ADHA) de las células de los mamíferos y son esenciales en el metabolismo de los azúcares.

La medida de la eficacia del extracto polifenólico para bloquear un transportador del azúcar para inhibir la absorción a la vez de la glucosa y del ADHA utiliza un método descrito por Park y Levine (Park J. B. and Levine M. 2000. *J. Nutr.* 130, págs. 1297-1302). Este método recurre al transportador GLUT1, existente en la mayoría de los tejidos. La activación de este transportador permite el transporte de la glucosa desde la sangre hasta en la célula.

Utilizamos una raza celular uterina humana (Ishikawa Var 1) para estudiar el efecto del extracto polifenólico en concentraciones comprendidas entre 5 y 500 $\mu\text{g/ml}$ sobre la respuesta a la absorción de la glucosa. Las experiencias se realizan en un suero fisiológico para minimizar los artefactos vinculados a enlaces posibles con proteínas. La respuesta se mide después de 30 min de incubación gracias a la utilización de una 2-desoxiglucosa marcada (2DeOG) y se comparan los resultados con inhibidores conocidos de los transportadores de la glucosa, es decir, la floretina y la genisteína. Los resultados se expresan gráficamente como el porcentaje de inhibición del transporte del 2DeOG después de 30 min de incubación con respecto al control sin inhibidor (figura 1).

El extracto polifenólico muestra un efecto de inhibición del transporte membranar de la glucosa muy importante, cualquiera que sean las concentraciones entre 5 y 500 $\mu\text{g/ml}$: se tiene una inhibición de la absorción del 2DeOG de aproximadamente 30% a una concentración de 5 $\mu\text{g/ml}$, inhibición que pasa al 80% para una concentración de 500 $\mu\text{g/ml}$. El efecto del extracto polifenólico es al menos equivalente, o incluso superior, al de la genisteína o la floretina a concentraciones entre 1 y 100 μM , concentraciones generalmente reconocidas por su eficacia frente al efecto buscado.

Esta experiencia pone de manifiesto, por lo tanto, que la fracción polifenólica rica en dihidrochalconas contribuye a un control de la carga en azúcares por el organismo, favoreciendo el control de la sobrecarga ponderal, llegando hasta la prevención de alguna diabetes.

Ejemplo 2

Formulación de una cápsula de gelatina de uso nutracéutico

5 En una cápsula de gelatina de 400 miligramos, se incorporan 24 miligramos del extracto polifenólico según la invención. Los 376 miligramos restantes son pectina de manzana.

La cantidad de extracto polifenólico según la invención presente en la cápsula de gelatina así formulada corresponde a la aportación del equivalente de una manzana en dihidrochalconas.

10 Ejemplo 3

Formulación de un producto alimentario nutracéutico

15 La masa blanca del yogur contiene de 2 a 7% de azúcares añadidos y un contenido en materias grasas comprendido entre 3 y 5% de la masa bruta del yogur. El pH de este yogur está comprendido entre 4,1 y 4,3.

Se prepara un yogur de frutas que contiene de 8 a 10% de frutas en la masa blanca. El extracto polifenólico según la invención se incorpora directamente en la preparación de frutas (al mismo tiempo que los aromas y los colorantes) destinada al yogur. Sin embargo, como las dihidrochalconas no son moléculas muy solubles, 24 mg de extracto polifenólico se pueden previamente solubilizar en 0,5 ml de una solución hidroalcohólica antes de su incorporación en la preparación de frutas destinada al yogur o directamente en el yogur.

25 A esta dosificación, el extracto polifenólico no tiene impacto organoléptico negativo. Además el etiquetado puede reivindicar una formulación de 100% manzana si, además de la utilización de purés y/o zumos concentrados de manzana, la aromatización se realiza con la ayuda de una esencia de manzana y la aportación de azúcar se realiza con la ayuda de azúcar de manzana.

30 Se obtiene así un producto lácteo fresco hipocalórico.

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Utilización, en preparaciones alimentarias o nutraceuticas, de una fracción polifenólica rica en dihidrochalconas procedentes de frutas de la familia de las *Rosaceae* en el tratamiento cosmético de mamíferos con el fin de limitar la carga ponderal y mejorar el aspecto estético del cuerpo.

2. Utilización de una fracción polifenólica rica en dihidrochalconas según la reivindicación 1, para el tratamiento cosmético de algunas formas de obesidad no patológicas.

3. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 de una fracción **caracterizada** porque incluye al menos 10% de polifenoles que incluyen al menos 10% en peso de floridzina con respecto a los polifenoles totales.

4. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 de una fracción **caracterizada** porque contiene de 10 a 70% en peso de floridzina con respecto a los polifenoles totales.

5. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 de una fracción **caracterizada** porque contiene ácido clorogénico.

6. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 de una fracción cuya relación en peso de floridzina con respecto al peso del ácido clorogénico es superior o igual a 1.

7. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 de una fracción **caracterizada** porque contiene epicatequina.

8. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 de una fracción cuya relación en peso de floridzina con respecto al peso de epicatequina es superior a 9.

9. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 de una fracción **caracterizada** porque contiene cantidades menores de procianidina B2, de quercitrina, quercetina, ácido p-cumárico y de otros fenoles.

10. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 de una fracción **caracterizada** porque contiene ácido cafeico en tales cantidades que la relación en peso de floridzina con respecto al peso de ácido cafeico es superior a 4.

11. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 de una fracción cuya proporción en peso de ácido cafeico representa menos de 1% de los polifenoles totales.

12. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 de una fracción **caracterizada** porque contiene floretina.

13. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 de una fracción **caracterizada** porque las dihidrochalconas (floridzina y floretina) están presentes en proporciones superiores o iguales a 40% en peso con respecto a los ácidos hidroxicinámicos (ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido p-cumárico).

14. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 de una fracción **caracterizada** porque se procede a una extracción a partir de manzanas maduras.

15. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 de una fracción **caracterizada** porque se procede a una extracción de la manzana *Malus sylvestris* Mill.

16. Utilización de una composición alimentaria o nutraceutica que incluye una fracción polifenólica tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 15 para el tratamiento cosmético con el fin de limitar la carga ponderal y mejorar el aspecto estético del cuerpo.

17. Utilización de una composición alimentaria o nutraceutica que incluye una fracción polifenólica tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 15 para el tratamiento cosmético de algunas formas de obesidad no patológicas.

FIG. 1

