

TÍTULO DE PATENTE No. 358789

Titular(es): CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO, A.C.; KURAGO BIOTEK HOLDINGS S.A.P.I. DE C.V.
Domicilio: Av. Normalistas No. 800, Colinas de la Normal, 44270, Guadalajara, Jalisco, MÉXICO; Av. Moctezuma # 144 piso 702, Col. Ciudad del Sol, 45050, Zapopan, Jalisco, MÉXICO
Denominación: MOLÉCULAS BIOCONJUGADAS CON ACTIVIDADES BIOLÓGICAS Y TECNOFUNCIONALES, SU PROCESO DE OBTENCIÓN Y USOS.
Clasificación: CIP: A61K31/7024; C07H13/06
 CPC: A61K31/7024; C07H13/06
Inventor(es): GEORGINA CORAL SANDOVAL FABIÁN; JAVIER PLÁCIDO ARRIZON GAVIÑO; MARISELA GONZÁLEZ ÁVILA; EDUARDO PADILLA CAMBEROS; MOISÉS MARTÍNEZ VELÁZQUEZ; SOCORRO JOSEFINA VILLANUEVA RODRÍGUEZ; LETICIA CASAS GODOY

SOLICITUD

Número: MX/a/2013/015020
Fecha de Presentación: 18 de Diciembre de 2013
Hora: 09:53

Vigencia: Veinte años

Fecha de Vencimiento: 18 de diciembre de 2033

Fecha de Expedición: 20 de agosto de 2018

La patente de referencia se otorga con fundamento en los artículos 1º, 2ª fracción V, 6ª fracción III, y 59 de la Ley de la Propiedad Industrial.

De conformidad con el artículo 23 de la Ley de la Propiedad Industrial, la presente patente tiene una vigencia de veinte años improrrogables, contada a partir de la fecha de presentación de la solicitud y estará sujeta al pago de la tarifa para mantener vigentes los derechos.

Quien suscribe el presente título lo hace con fundamento en lo dispuesto por los artículos 6ª fracciones III y 7ª bis 2 de la Ley de la Propiedad Industrial (Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) 27/06/1991, reformada el 02/08/1994, 25/10/1996, 26/12/1997, 17/05/1999, 26/01/2004, 16/06/2005, 25/01/2006, 06/05/2009, 06/01/2010, 18/06/2010, 28/06/2010, 27/01/2012, 09/04/2012, 01/06/2016 y 13/03/2018); artículos 1º, 3ª fracción V inciso a), 4ª y 12ª fracciones I y III del Reglamento del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 14/12/1998, reformado el 01/07/2002, 15/07/2004, 28/07/2004 y 7/09/2007); artículos 1º, 3º, 4º, 5ª fracción V inciso a), 16 fracciones I y III y 30 del Estatuto Orgánico del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 27/12/1999, reformado el 10/10/2002, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007); 1º, 3º y 5º inciso a) del Acuerdo que delega facultades en los Directores Generales Adjuntos, Coordinador, Directores Divisionales, Titulares de las Oficinas Regionales, Subdirectores Divisionales, Coordinadores Departamentales y otros subalternos del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. (D.O.F. 15/12/1999, reformado el 04/02/2000, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007).

El presente oficio se signa con firma electrónica avanzada (FIEL), con fundamento en los artículos 7 BIS 2 de la Ley de la Propiedad Industrial; 3o de su Reglamento, y 1 fracción III, 2 fracción V, 26 BIS y 26 TER del Acuerdo por el que se establecen los lineamientos para el uso del Portal de Pagos y Servicios Electrónicos (PASE) del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial, en los trámites que se indican.

LA DIRECTORA DIVISIONAL DE PATENTES NAHANNY CANAL REYES



Cadena Original:
 NAHANNY MARISOL CANAL REYES|00001000000403252793|Servicio de Administración
 Tributaria|1695|MX/2018/77684|MX/a/2013/015020|Titulo de patente normal|1223|GAGV|Pág(s)
 1jXH2snTu1V0h0ldrDi2Xx4U5sul=

Sello Digital:
 DkJeGkzDYjSvUFFCnT93z7F1+vLLYF2AtMrSnm7DLi6l/nlgrdA1Ik3REPDOVGor7iv1hau/kGf8TQ8Z9IwWp/sVs
 DMEdYIUfJ1kr3j2QkpdQ2GAYLhcDhpTrw7cJ7H5xN9aciXfHuQogKS8W1KvpDqcG/ak/kU2b3MObSGYR9jWiKSBhss
 kHfviGGcA9QcKeAVQQqE7RTU0HBnFp/52X+RRwd6pcGouhPW0HTi8v/bcL57ExMTbWEgwLqmImWiaUODPks8o7ePGB
 jhpDYuZhFuY+NARaFV9kc3liehrAESKpIKLT7wXhu0ypT8O/R6OC02EgmgMDEQgFEOWmO0A==



358789

2013 / 5020

MOLÉCULAS BIOCONJUGADAS CON ACTIVIDADES BIOLÓGICAS Y



TECNOFUNCIONALES, SU PROCESO DE OBTENCIÓN Y USOS

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

5 La presente invención tiene su campo técnico en el área de la biotecnología, ya que proporciona **moléculas bioconjugadas, de entre dos o más grupos funcionales siguientes: azúcares, prebióticos, oligosacáridos, polisacáridos, triglicéridos, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, antiinflamatorios; con su proceso de obtención (síntesis y purificación); y sus usos como nutracéutico prebiótico, antiinflamatorio,**

10 **antitumoral, vector intestinal, ingrediente tecnofuncional para uso alimenticio (emulsificante, sustituto de grasa) y cosmético; los cuales son posibles al tratarse de moléculas no tóxicas.** Lo anterior tanto en uso humano como veterinario.

ANTECEDENTES

15 Los ésteres de carbohidratos con ácidos grasos (SFAE, "Sugar Fatty Acid Esters") clasificados químicamente como surfactantes no iónicos que contienen una unidad de carbohidratos como cabeza hidrófila con uno o más ácidos grasos como componente lipófilo, poseen interesantes propiedades biológicas y tecnofuncionales. Las principales propiedades de estos bioconjugados en comparación con otros surfactantes típicos derivados del petróleo

20 son su biodegradabilidad y ausencia de toxicidad, además de poder producirse a partir de fuentes naturales renovables como son los ácidos grasos y carbohidratos (Allen and Tao, 1999). Por ello se emplean a menudo como surfactantes y emulgentes en las industrias farmacéuticas, cosméticas y de alimentación (Chang and Shaw, 2009). Los SFAE se pueden sintetizar por vía química y por vía enzimática (Plat and Linhardt, 2001).

Para el primer caso, el método tradicional de síntesis de ésteres de ~~sacacosa se basa en una~~ transesterificación entre un metil o etil éster de un ácido graso y el disacárido, en un disolvente polar aprótico con catálisis básica (carbonato potásico) a alta temperatura y presión. En función de la cantidad de agente acilante y el tiempo de reacción se obtienen
5 sucroésteres con distinto grado de sustitución. La reacción produce una mezcla de regioisómeros y el rendimiento de producto es medio, por debajo del 50% (Osipow et al., 1956). Este, es el proceso que se suele emplear industrialmente. Además del bajo rendimiento, tiene el problema de formar derivados coloreados como subproductos y que para poder aplicarlos en la alimentación se debe asegurar la eliminación total de los
10 disolventes tóxicos empleados (lo cual no es sencillo debido a los altos puntos de ebullición que presentan).

Para el segundo caso, la acilación enzimática de carbohidratos (especialmente mono- y disacáridos) es catalizada por hidrolasas en una técnica que aunque no es reciente presenta varios retos como elegir el solvente, enzima y soporte enzimático correctos (Plou et al.,
15 2002). La principal ventaja de la acilación enzimática de carbohidratos respecto a la vía química es su alta regioselectividad que evita tener que recurrir a las típicas secuencias largas de protección/desprotección. Con la bioconjugación enzimática se tiene también la ventaja de evitar la formación de jabones. Además, las condiciones de reacción son suaves mientras que las acilaciones químicas directas suelen emplear condiciones extremas (como
20 temperaturas mayores a 100°C que ocasionan caramelización de los azúcares). Desde el punto de vista del “marketing” hay que añadir otra ventaja más y es que un SFAE preparado enzimáticamente se puede etiquetar como surfactante “natural” (Sarney and Vulfson, 1995). Hasta el momento se han reportado esterificaciones enzimáticas de azúcares simples como glucosa (Ruela et al., 2013), fructooligosacáridos (FOS) de cadenas cortas (Sagis et al.,
25 2008; ter Haar et al., 2010) e incluso almidón (Alissandratos et al., 2010). **Sin embargo, a**

diferencia de la presente invención, los FOS utilizados ~~en los trabajos citados~~ anteriormente son fructanos lineales sólo con enlaces $\beta(2\rightarrow1)$. Hasta antes de la presente invención, no se ha encontrado ningún reporte de la esterificación enzimática utilizando fructanos ramificados como los fructanos de *Agave tequilana*, los cuales
5 presentan enlaces $\beta(2\rightarrow1)$ y $\beta(2\rightarrow6)$ (Lopez et al., 2003; Mellado-Mojica and López, 2012; Praznik et al., 2013). La presencia de este tipo de enlaces le daría propiedades diferentes, por ejemplo serían moléculas más hidrófilas respecto a los FOS que tienen cadenas lineales como inulina y tendrían un efecto en la salud intestinal como nivel prebiótico (Gomez et al., 2010). Otra novedad de esta invención es que tampoco e
10 encontraron reportes donde se utilicen previamente aceites, ésteres o ácidos grasos omega-3 como acilantes de los azúcares para formar bioconjugados. Debido a lo anterior, la bioconjugación enzimática de los fructanos de *A. tequilana* con distintos ácidos grasos incluyendo los omega-3, representa una oportunidad de innovación; además de un reto científico, debido a la importancia de la regioselectividad hacia las diferentes posiciones
15 de los OH's de los prebióticos, ante lo cual, la aplicación de la biocatálisis se presenta como una poderosa herramienta que aprovecha la selectividad enzimática en condiciones inocuas y amigables con el ambiente.

Para estas reacciones, la actividad y especificidad de las hidrolasas, así como las características de los productos obtenidos, están muy influenciadas por la naturaleza del
20 disolvente orgánico. Las condiciones de reacciones óptimas suponen un compromiso entre la actividad enzimática máxima alcanzable y la solubilidad del sustrato. La dificultad del problema crece en el sentido del tamaño de la cadena de azúcares: monosacáridos<disacáridos<trisacáridos<oligosacáridos<polisacáridos mayores.

Se han empleado varias estrategias para superar estas limitaciones. La primera consiste en
25 la hidrofobización del azúcar por diversos métodos como la complicación con ácidos

borbónicos o la formación acetales (Sarney and Vulfson, 1995). La ~~segunda consiste en la~~
elección de un disolvente(s) adecuado(s) para solubilizar tanto el carbohidrato como el
agente acilante y en el que la enzima presente una actividad razonable, tal como en los
trabajos de bioconjugación enzimática citados anteriormente. La tercera es la elección de la
5 enzima adecuada incluyendo el soporte enzimático. **La optimización de estos últimos tres
factores (solvente/enzima/soporte) constituye parte de la presente invención.**

La purificación práctica de estos compuestos es un tema que se describe escasamente en la
literatura. A nivel laboratorio, la cromatografía flash es útil (Baker et al., 2000), pero es muy
complicado implementarla a nivel industrial al igual que una cromatografía preparativa
10 (Jaspers et al., 1987) que resulta igualmente complicada y más cara. En la mayoría de las
patentes se describen métodos de purificación utilizando lavado con solventes (Schaefer,
2005), o un proceso en dos etapas: precipitación seguida de lavado con alcohol (de-la-Motte
et al., 1991). Pero ninguno de estos métodos fue útil para purificar nuestros bioconjugados,
por lo que el proceso de purificación propuesto también es novedoso.

15 En cuanto a las aplicaciones de los productos de la presente invención, se derivan de las
actividades biológicas y tecnofuncionales demostradas. En la literatura y patentes de
bioconjugados de azúcares simples con ácidos grasos se describen principalmente
propiedades tecnofuncionales como emulsificantes y surfactantes alimenticio, en uso
cosmético, tratamiento capilar, de pestañas, desodorante, antimicrobiano, en especial
20 probiótico cuando se usan FOS, antitumoral y vector de medicamentos. **Pero al no haberse
sintetizado antes bioconjugados con fructanos ramificados como los de *A. tequilana*
estas propiedades no habían sido investigadas en estas nuevas moléculas y no era
evidente que fueran a tener las mismas propiedades que los bioconjugados con
azúcares simples o FOS lineales, por lo que las actividades biológicas o
25 tecnofuncionales de las moléculas bioconjugada y su aplicabilidad fueron**

comprobadas. Finalmente, la actividad antiinflamatoria no se había reportado para ningún bioconjugado de este tipo.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

5

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La presente invención se refiere a **moléculas bioconjugadas, de entre dos o más grupos funcionales siguientes: prebióticos, triglicéridos, ácidos grasos, azúcares, antiinflamatorios; con su proceso de obtención (síntesis y purificación); y sus usos como nutracéutico prebiótico, antiinflamatorio, antitumoral, vector intestinal, ingrediente tecnofuncional para uso alimenticio como emulsificante, sustitut de grasa y para uso cosmético; los cuales son posibles al tratarse de moléculas no tóxicas.**

Los detalles característicos de estas moléculas y su proceso de obtención se muestran claramente en la siguiente descripción y figuras, las cuales se mencionan a manera de ejemplo y no deben ser consideradas como limitativas a la presente invención:

Figura 1. Proceso general de producción y obtención de bioconjugados.

Figura 2. Proceso opcional de secado para eliminar trazas de solvente y agua de los bioconjugados.

Figura 3. Proceso opcional de purificación con álcali diluido para la eliminación de acilante de los bioconjugados.

Figura 4. Proceso opcional de purificación con agua caliente donde se separan los bioconjugados solubles en agua.

Figura 5. Proceso opcional de purificación con agua a temperatura ambiente donde se separan los bioconjugados solubles en agua.

Figura 6. Proceso opcional para el secado de bioconjugados con trazas de acilante.

Figura 7. Proceso opcional para el secado de los bioconjugados en solución acuosa.

Figura 8. Cromatograma (HPLC) de los Bioconjugados sintetizados de acuerdo a los ejemplos 1 (A) y 2 (B).

Figura 9. Evaluación toxicológica de los Bioconjugados.

5 Figura 10. Efecto prebiótico de las nuevas moléculas bioconjugadas.

Figura 11. Actividad antiinflamatoria de las nuevas moléculas bioconjugadas. (A) *in vitro*, (B) *in vivo*.

Figura 12. Actividad antitumoral las nuevas moléculas bioconjugadas.

10 Figura 13. Seguimiento de la cinética de hidrólisis de las nuevas moléculas bioconjugadas en un simulador del tracto digestivo.

Figura 14. Ejemplos de aplicación tecnofuncional en alimentos de las nuevas moléculas bioconjugadas: (A) como emulsificante, (B) como sustituto de grasa.

15 MEJOR MÉTODO CONOCIDO PARA LLEVAR A CABO LA INVENCION

El proceso de la presente invención se ilustra en las figuras 1 a 4 para mejor comprensión.

En la figura 1, los azúcares, oligosacáridos o polisacáridos a los que se refiere la presente invención son FOS, GOS u otros oligosacáridos ramificados con enlaces $\beta(2\rightarrow1)$ y $\beta(2\rightarrow6)$, tales como los fructanos de agave, crudos o purificados, cuando son purificados pueden
20 utilizarse tanto grado de polimerización (DP) cortos de $DP < 10$, o largos de $DP > 10$. Al ser los azúcares una mezcla, no se obtiene una molécula bioconjugada aislada sino una mezcla de las mismas de acuerdo al sustrato con la parte azúcar y al acilante.

El acilante puede ser un a) ácido carboxílico (ácido graso libre) de cadena media (8-12 carbonos) o larga (>12 carbonos); o b) uno de sus ésteres (metílico, etílico, vinílico, etc.); o c)
25 un aceite que contenga diversos ácidos carboxílicos, ya sea saturados o insaturados como los omega-3; o d) una mezcla de ésteres de aceites como las que existen comercialmente en

forma de ésteres etílicos. Cuando se usan acilantes que contienen mezclas de ácidos grasos o sus ésteres se aumenta la complejidad de las moléculas bioconjugadas obtenidas.

La enzima a la que se refiere la presente invención es del grupo de las serina-hidrolasas, tales como proteasa, lipasa, esterasa, cutinasa o alguna otra que actúe sobre o sintetice un enlace éster. Para una mayor productividad la enzima puede estar inmovilizada facilitando su recuperación y reciclado. Si las moléculas bioconjugadas serán aplicados en alimentos la enzima deberá ser grado alimenticio, si serán aplicados en fármacos o cosméticos, igualmente la enzima deberá cumplir con los estándares requeridos.

En cuanto al solvente, la reacción se puede llevar a cabo en solventes orgánicos, tanto hidrófobos como hexano, heptano, isooctano, decano, etc.; como en solventes hidrófiles tales como 2-metil-2-propanol, 2-metil-2-butanol, acetona, etc.; así como en medio bifásicos solvente hidrófobo/agua. O en ausencia de solvente adicionado, siendo el solvente el mismo acilante. El tamiz molecular (sílica porosa, zeolita o arcilla con tamaños de poro de 3-4 Å, o algún otro adsorbente de agua), se agrega opcionalmente cuando el acilante produce agua como producto secundario en la reacción.

El proceso para la síntesis de una mezcla de moléculas bioconjugadas, denotadas también en la presente invención como "bioconjugados", comprende las siguientes etapas:

1. *Reacción de síntesis.* En esta etapa se conjugan (esterifican) los azúcares, oligo o polisacáridos con el acilante en una proporción de 1:1 a 1:10 p/p, en una reacción biocatalizada por la enzima que se agrega en una proporción de 1:1 a 1:10 p/p respecto al acilante; en un solvente, en una proporción de 1:2 a 1:100 p/v respecto al acilante; dentro de un recipiente cerrado herméticamente, calentado a una temperatura tal que el acilante se encuentre en estado líquido cuando la reacción no se realiza en presencia de solvente o a una temperatura inferior a la temperatura de ebullición del solvente (generalmente entre 40 y 80 °C), con una agitación manual,

mecánica, magnética, orbital, por vibración, térmica o difusión pasiva que permita una adecuada transferencia de masa (100-1000 revoluciones por minuto, r.p.m.). Opcionalmente se agrega tamiz molecular u otro adsorbente cuando se utiliza un acilante que produce agua durante la reacción en una proporción de 1:1 a 1:5 p/p. La reacción se deja transcurrir durante 48 a 120 h. Al terminar a la mezcla reaccional la denominamos "mezcla cruda de reacción" (2) y comprende tanto los bioconjugados como el acilante y azúcares sin reaccionar y la enzima (y tamiz si fue agregado).

2. *Filtrado.* Como se observa en la figura 1, en el proceso de la presente invención, a diferencia de las invenciones descritas anteriormente, se recuperan bioconjugados también de la fase sólida (10) además de en la fase líquida (6), por medio de un filtrado o centrifugado (3), utilizando filtros Whatman número 1, 3, 4, o similares y/o por centrifugación. De esta etapa se obtienen en el líquido la "fase orgánica" (FO, 4) que contiene los bioconjugados, el solvente y el acilante sin reaccionar y en el retenido sólido la "fase sólida (FS, 7) con la enzima, el tamiz (si fue agregado); azúcares sin reaccionar y otra parte del acilante sin reaccionar.

3. *Recuperación de bioconjugados de la "fase orgánica".* Se realiza simplemente mediante la evaporación del solvente (o se omite si el acilante fue el solvente). Para este fin se utiliza calentamiento por encima de la temperatura de ebullición del solvente utilizado o un rotavapor a presión reducida y temperatura acorde. El producto seco se denomina "bioconjugados de la fase orgánica" (BFO, 6) y aunque pueden contener acilante sin reaccionar, son utilizables para los fines descritos en las aplicaciones.

4. *Recuperación de bioconjugados de la "fase sólida".* Se realiza mediante un lavado con alcohol, pudiendo ser metanol, etanol, *t*-butanol, isopropanol u otro solvente hidrófilo, en proporciones 1:2 a 1:15 p/v. En la parte sólida del lavado (8) se recupera

la enzima, el tamiz (si fue agregado) y azúcares sin reaccionar, mientras que en la
líquida, después de evaporar el alcohol de la misma manera que lo descrito en el
paso 3, quedan los “bioconjugados de la fase sólida” (BFS, **10**) y aunque pueden
contener acilante sin reaccionar, son utilizables para los fines descritos en las
5 aplicaciones.

5. *Secado (opcional)*. En la figura 2 se observa el proceso opcional para secar
completamente los bioconjugados. Tanto los BFO como los BFS se lavan con un
solvente hidrófilo pudiendo ser un alcohol lineal o ramificado de cadena corta, o una
cetona. En el lavado (**11**) se elimina el solvente de reacción residual. Posteriormente
10 el solvente de lavado se evapora al igual que en el paso 3, pudiéndolo recuperar y
reciclar (**12**). Los bioconjugados sin solvente (**13**) pueden someterse opcionalmente a
un flujo de gas nitrógeno cuando el solvente de reacción tiende a retenerse en los
bioconjugados para eliminarlo completamente y obtener los bioconjugados (**14**). Sin
embargo una vez eliminado el solvente orgánico, los bioconjugados todavía pueden
15 contener un poco de agua debido al carácter hidrófilo de la parte azúcar del
bioconjugado, por lo que pueden someterse a congelación (**15**) a una temperatura de
-5 a -80 °C y liofilizarse (**16**) para eliminar el agua residual y obtener los
bioconjugados lavados y secos (**17**).

6. *Purificación (opcional)*. En caso de que la reacción de bioconjugación no se haya
20 llevado a cabo al 100% o que el acilante haya estado presente en exceso, el acilante
sin reaccionar puede eliminarse por varios métodos de purificación que se describen
a continuación:

a. *Con álcali diluido* (figura 3). Los BFS (**10**) o BFO (**6**) se disuelven en un
solvente hidrófobo en una proporción de 1:1 a 1:10 p/v (esto no es necesario
25 si la reacción se hizo en un solvente hidrófobo para los BFO). A la solución **18**

se le agrega una solución acuosa (19) de álcali diluido a una concentración de 0.1 a 1 N en una proporción 1:1 a 1:5 v/v. Después de agitación manual, mecánica, magnética, orbital, por vibración, térmica o difusión pasiva (20), se deja decantar (21) para separar las 3 fases: 1) fase orgánica (22) que contiene bioconjugados con un tiempo de retención mayor a 3.5 min (figura 8-A) y puede evaporarse como en el paso 3 (23) para recuperar el solvente (24); 2) la interfase (25) que contiene jabón y 3) la fase acuosa (26) que contiene bioconjugados con un tiempo de retención menor a 3.5 min (figura 8-A). Los bioconjugados de la fase acuosa (26) se secan por medio de flujo de aire u horno (27) para obtener finalmente los bioconjugados (28) con un tiempo de retención menor a 3.5 min (figura 8-A).

b. *Con agua.* Ya sea caliente (figura 4) o a temperatura ambiente (figura 5). Con este método de purificación se pueden separar además la fracción de las moléculas bioconjugadas que son solubles en agua. Con agua caliente el proceso es como sigue: Los BFO (6) o BFS (10) se calientan en un rango de 40 a 70 °C (29) y se lavan con agua a una temperatura de 40 a 70 °C (30). La mezcla se agita manual o mecánicamente (31) y se centrifuga a 1000-10000 r.p.m. (32). En la fase superior (33) quedan los bioconjugados con el acilante sin reaccionar (si fuera el caso) y en la fase inferior el bioconjugado en solución acuosa con trazas de azúcar (34). Alternativamente el producto soluble en agua se puede obtener a partir de la fase sólida de la reacción (FS, 7) mediante lavados con agua a temperatura ambiente (35). La mezcla se agita manual o mecánicamente (36) y se centrifuga a 1000-10000 r.p.m. (37). En la fase superior (38) se obtiene el bioconjugado en solución con trazas de azúcar sin reaccionar (si fuera el caso), mientras que en la fase inferior (39) se

recupera el bioconjugado no soluble en agua, ~~la enzima, el tamiz (si fue~~
agregado) y el acilante sin reaccionar (si es el caso). El bioconjugado de la
fase superior con acilante sin reaccionar (33) se puede secar mediante
congelación (40) y liofilización (41) o por secado en horno (42), obteniendo un
5 bioconjugado seco no soluble en agua (43) con trazas de acilante (si es el
caso). Los bioconjugados que son solubles en agua (34 o 38), con o sin trazas
de azúcares, pueden secarse directamente a partir de la solución acuosa
(figura 7), por congelación (44), seguida de liofilización (45) o por aspersion
(46) para obtener los bioconjugados solubles en agua secos (47).

10 Dependiendo del método de purificación empleado es el estado final del producto,
quedando como gel los solubles en agua, y como un polvo los de mayor tiempo
de retención.

La presente invención tiene uso humano y veterinario

15 EJEMPLOS DE APLICACIÓN DE LA INVENCION

Ejemplo 1. Moléculas bioconjugadas FOS de agave + ácido láurico.

16 g de FOS de agave

50 g de Vinil laurato

20 500 ml de hexano

50 g de lipasa inmovilizada (*C. antarctica* B)

50 g de tamiz molecular de 3 Å y 1.6mm

Se deja la mezcla en agitación a 60 °C por 96 h, se filtra y se purifica de acuerdo a alguno de
los métodos citados en el punto 6. El cromatograma de los bioconjugados así sintetizados se
25 presenta en la figura 8-A.

Ejemplo 2. Moléculas bioconjugadas FOS de agave + omega-3.

16 g de FOS de agave

50 g de aceite de pescado

5 500 ml de hexano

50 g de lipasa inmovilizada (*C. antarctica* B)

50 g de tamiz molecular de 3 Å y 1.6mm

Se deja la mezcla en agitación a 60 °C por 96 h, se filtra y se purifica de acuerdo a alguno de los métodos citados en el punto 6. El cromatograma de los bioconjugados así sintetizados se presenta en la figura 8-B.

Ejemplo 3. Aplicabilidad de los bioconjugados en alimentos y fármacos.

A los bioconjugados sintetizados de acuerdo al ejemplo 1 y purificados de acuerdo al proceso de las figura 2 y 3, se les evaluó la toxicidad para confirmar su aplicabilidad en alimentos y fármacos. En la figura 9 se observa ausencia de toxicidad por los dos métodos evaluados: (A) evaluación de mutagenicidad con la cepa TA98 por generación de compuestos alquilantes; (B) evaluación de mutagenicidad con la cepa TA102 por generación de compuestos oxidantes. Ambos de acuerdo al método de Marron y Ames (Marron and Ames, 1983), que ha sido postulado como una prueba muy aceptable para detectar como no mutagénico los compuestos no carcinogénicos (Dobo et al., 2006). Los tratamientos fueron: (A): 1- Reversión espontánea, 2-DMSO (solvente), 3-TWEN (solvente), 4-Ácido Picrolónico, 5-Control1, 6-Control2, 7-Bioconjugados. (B): 1-Reversión espontánea 2-DMSO (solvente), 3-TWEN (solvente), 4-4-nitroquinolona, 5-Control1, 6-Control2, 7-Bioconjugados.

Ejemplo 4. Aplicación de los bioconjugados como prebióticos.

Las moléculas bioconjugadas sintetizadas de acuerdo al ejemplo 1 (purificadas por alguno de los métodos de las figuras 2 a 7), se utilizaron como fuente de carbono para el crecimiento de microorganismos probióticos, los cuales mostraron aceptación por el consumo de los bioconjugados (figura 10). *Lactobacillus casei* y *L. rhamnosus* mostraron las tasa de crecimiento más altas, sin diferencia estadística, por lo que se concluye que los bioconjugados de oligosacáridos ramificados con ácidos grasos son sustancias con funciones prebióticas.

Ejemplo 5. Aplicación de los bioconjugados como antiinflamatorios.

Las moléculas bioconjugadas sintetizadas de acuerdo al ejemplo 1 (purificadas por alguno de los métodos de las figuras 2 a 7), pueden utilizarse como antiinflamatorios como lo muestra la figura 11. En la figura 11-A se muestra la actividad antiinflamatoria *in vitro* medida como inhibición de la enzima COX-2 con una metodología de acuerdo a (Szymczak et al., 2008). Se comparan los bioconjugados con un antiinflamatorio conocido como Diclofenaco. Las concentraciones 1, 2 y 3 para Diclofenaco fueron 50, 100 y 200 µg/ml respectivamente; para los bioconjugados fueron 400, 800 y 1600 µg/ml. (Se presentan los valores promedio de dos determinaciones. La desviación estándar media fue de 4.5%).

En la figura 11-B se presenta la actividad antiinflamatoria *in vivo* de los bioconjugados con una metodología por inducción de edema plantar (Xu et al., 2012). Las muestras se evaluaron a una dosis de 100 mg/kg. Los resultados muestran la inducción de edema plantar de los animales de experimentación, dos horas después de la inducción de inflamación con carragenina. Mientras menor es el edema, mayor la actividad antiinflamatoria. En esta figura los "Bioconjugados 1" fueron purificados de acuerdo al método de la figura 2 y los "Bioconjugados 2" fueron purificados de acuerdo al método de la figura 3.

Para las concentraciones utilizadas, se observa en la figura 11-A que los bioconjugados tienen entre el 60 y 70% de la actividad antiinflamatoria *in vitro* observada para el Diclofenaco pero sin presentar sus efectos secundarios y hepatotóxicos (Aithal, 2011). En la figura 11-B se observa que en la antiinflamación *in vivo*, los Bioconjugados 1 tuvieron una actividad antiinflamatoria similar a la de Diclofenaco a la misma concentración y los Bioconjugados 2 algo menor.

Ejemplo 6. Aplicación de los bioconjugados como antitumorales.

Los bioconjugados sintetizados de acuerdo al ejemplo 1, purificados de acuerdo al método de la figura 3, se utilizaron como antitumorales en una línea celular de cáncer cérvico-uterino HeLa. Como se observa en la figura 12, los bioconjugados son antitumorales a partir de una concentración de 500 µg/ml.

Ejemplo 7. Aplicación de los bioconjugados como vector intestinal.

Los bioconjugados sintetizados de acuerdo al ejemplo 1, purificados de acuerdo a uno de los métodos del punto 6, se utilizaron como vector intestinal. En este caso la parte prebiótica no digerible de los bioconjugados vectoriza la parte acilo de las moléculas. Para ello se verifica que los bioconjugados no se hidrolizan antes de llegar al intestino en un simulador del tracto intestinal. El simulador es el descrito por González-Avila et al., (González-Avila et al., 2012). En la figura 13 se observa una cromatoplaca con muestras tomadas a lo largo del tracto digestivo en el simulador: 1-Ácido láurico (estándar), 2-Bioconjugados (control), 3-con Bioconjugado en Estómago, 4-Alimento con Bioconjugado en Intestino Delgado, 5- Alimento con Bioconjugado en Colon Ascendente, 6- Alimento con Bioconjugado en Colon Transverso, 7- Alimento con Bioconjugado en Colon. Ya que no se observó presencia de

ácido láurico en Estómago e Intestino Delgado, se concluye que los bioconjugados funcionan como vector para llevar moléculas de interés hasta el Colon.

Ejemplo 8. Aplicación de los bioconjugados como emulsificante.

5 Las moléculas bioconjugadas sintetizadas de acuerdo al ejemplo 1 (purificadas por alguno de los métodos de las figuras 2 a 7), se utilizaron como emulsificantes en la preparación de una "Mousse de fresa" (figura 14-A), de acuerdo a la siguiente fórmula (en %):

	Bioconjugados	0.5
	Grenetina	0.5
10	Fresa	47.6
	Yogurt sin sabor	37.55
	Crema	11.85
	Azúcar	4.0

15 **Ejemplo 9. Aplicación de los bioconjugados como sustituto de grasa.**

Las moléculas bioconjugadas sintetizadas de acuerdo al ejemplo 1 (purificadas por alguno de los métodos de las figuras 2 a 7), se utilizaron como sustituto de grasa en la preparación de un "Batido de coco" (figura 14-B), de acuerdo a la siguiente fórmula (en %):

	Bioconjugados	0.43
20	Grenetina	0.43
	Leche evaporada	31.56
	Leche condensada	24.5
	Esencia de vainilla-coco	0.16
	Agua caliente	10.22

25

Ejemplo 10. Formulación cosmética utilizando los bioconjugados.

Las moléculas bioconjugadas sintetizadas de acuerdo a los ejemplo 1 o 2 (purificadas por alguno de los métodos de las figuras 2 a 7), se utilizaron en la preparación de una crema cosmética, de acuerdo a la siguiente fórmula (en %):

5	Bioconjugados	6.0
	Silicona fluida 350 cts	10.0
	Sorbo	5.0
	Ácido estéarico	4.0
	Aceite mineral	2.0
10	Lanolina	1.0
	Alcohol cetílico	1.0
	Trietanolamina	0.9
	Antioxidante	0.1
	Agua purificada c.s.p.	100

15

DOCUMENTOS CITADOS

Aithal, G.P., (2011). "Hepatotoxicity related to antirheumatic drugs". *Nat Rev Rheumatol*, Vol. 7(3): 139-150.

20 Alissandratos, A.; Baudendistel, N.; Flitsch, S.; Hauer, B.;Halling, P., (2010). "Lipase-catalysed acylation of starch and determination of the degree of substitution by methanolysis and GC". *BMC Biotechnology*, Vol. 10(1): 1-8.

Allen, D.;Tao, B., (1999). "Carbohydrate-alkyl ester derivatives as biosurfactants". *Journal of Surfactants and Detergents*, Vol. 2(3): 383-390.

- Baker, I.A.; Matthews, B.; Soares, H.; Krodkiewska, I.; Furlong, ~~D.N.~~; ~~Grieser, F.~~; Drummond,
 C., (2000). "Sugar fatty acid ester surfactants: Structure and ultimate aerobic
 biodegradability". Journal of Surfactants and Detergents, Vol. 3(1): 1-11.
- Chang, S.W.; Shaw, J.F., (2009). "Biocatalysis for the production of carbohydrate esters".
 5 New Biotechnology, Vol. 26(3-4): 109-116.
- de-la-Motte, R.S.; Dean, M.A.; Stryker, V.H.; Wagner, F.W., (1991). Separation and
 purification of sugar esters. Patente US4983731 A, US.
- Dobo, K.L.; Greene, N.; Cyr, M.O.; Caron, S.; Ku, W.W., (2006). "The application of structure-
 based assessment to support safety and chemistry diligence to manage genotoxic
 10 impurities in active pharmaceutical ingredients during drug development". Regul
 Toxicol Pharmacol, Vol. 44(3): 282-293.
- Gomez, E.; Tuohy, K.M.; Gibson, G.R.; Klinder, A.; Costabile, A., (2010). "In vitro evaluation of
 the fermentation properties and potential prebiotic activity of Agave fructans". Journal
 of Applied Microbiology, Vol. 108(6): 2114-2121.
- 15 González-Avila, M.; Alonso-Segura, D.; Hernández-Moedano, A.; Moreno-Ramos, E.F.,
 (2012). Proceso para simulación de tracto digestivo humano. Solicitud de patente
 PA/A/2012/005418.
- Jaspers, M.E.A.P.; Leeuwen, F.F.; Nieuwenhuis, H.J.W.; Vianen, G.M., (1987). "High
 performance liquid chromatographic separation of sucrose fatty acid esters". Journal
 20 of the American Oil Chemists' Society, Vol. 64(7): 1020-1025.
- Lopez, M.G.; Mancilla-Margalli, N.A.; Mendoza-Diaz, G., (2003). "Molecular Structures of
 Fructans from Agave tequilana Weber var. azul". Journal of Agricultural and Food
 Chemistry, Vol. 51(27): 7835-7840.
- Marron, D.M.; Ames, B.N., (1983). "Revised methods for the Salmonella mutagenicity test".
 25 Mutation Res, Vol. 113: 173-215.

- Mellado-Mojica, E.;López, M.G., (2012). "Fructan Metabolism in ~~A. tequilana~~ Weber Blue Variety along Its Developmental Cycle in the Field". Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 60(47): 11704-11713.
- Osipow, L.; Snell, F.D.; York, W.C.;Finchler, A., (1956). "Methods of Preparation Fatty Acid Esters of Sucrose". Industrial & Engineering Chemistry, Vol. 48(9): 1459-1462.
- Plat, T.;Linhardt, R., (2001). "Syntheses and applications of sucrose-based esters". Journal of Surfactants and Detergents, Vol. 4(4): 415-421.
- Plou, F.J.; Cruces, M.A.; Ferrer, M.; Fuentes, G.; Pastor, E.; Bernabé, M.; Christensen, M.; Comelles, F.; Parra, J.L.;Ballesteros, A., (2002). "Enzymatic acylation of di- and trisaccharides with fatty acids: choosing the appropriate enzyme, support and solvent". Journal of Biotechnology, Vol. 96(1): 55-66.
- Praznik, W.; Löppert, R.; Cruz Rubio, J.M.; Zangger, K.;Huber, A., (2013). "Structure of fructo-oligosaccharides from leaves and stem of Agave tequilana Weber, var. azul". Carbohydrate Research, Vol. 381(0): 64-73.
- Ruela, H.S.; Sutili, F.K.; Leal, I.C.R.; Carvalho, N.M.F.; Miranda, L.S.M.;de Souza, R.O.M.A., (2013). "Lipase-catalyzed synthesis of secondary glucose esters under continuous flow conditions". European Journal of Lipid Science and Technology, Vol. 115(4): 464-467.
- Sagis, L.M.C.; Boeriu, C.G.; Frissen, G.E.; Schols, H.A.;Wierenga, P.A., (2008). "Highly Stable Foams from Block Oligomers Synthesized by Enzymatic Reactions". Langmuir, Vol. 24(2): 359-361.
- Sarney, D.B.;Vulfson, E.N., (1995). "Application of enzymes to the synthesis of surfactants". Trends in Biotechnology, Vol. 13(5): 164-172.
- Schaefer, J.J., (2005). Purified and moderately esterified polyol ester with fatty acid. PCT/US2005/015748.

Szymczak, M.; Murray, M.; Petrovic, N., (2008). "Modulation of angiogenesis by omega-3 polyunsaturated fatty acids is mediated by cyclooxygenases". *Blood*, Vol. 111(7): 3514-3521.

5 ter Haar, R.; Schols, H.A.; van den Broek, L.A.M.; Sağlam, D.; Frissen, A.E.; Boeriu, C.G.; Gruppen, H., (2010). "Molecular sieves provoke multiple substitutions in the enzymatic synthesis of fructose oligosaccharide-lauryl esters". *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, Vol. 62(2): 183-189.

10 Xu, Z.; Zhou, J.; Cai, J.; Zhu, Z.; Sun, X.; Jiang, C., (2012). "Anti-inflammation effects of hydrogen saline in LPS activated macrophages and carrageenan induced paw oedema". *J Inflamm*, Vol. 9: 2.



REIVINDICACIONES

Habiendo descrito suficiente mi invención, considero como una novedad y por lo tanto reclamo como de mi exclusiva propiedad, lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

1. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas con actividades biológicas como
5 nutracéutico, prebiótico, antiinflamatorio, emoliente cosmético, antitumoral, vector
 intestinal, y tecnofuncionales como emulsificante, o sustituto de grasa, caracterizado
 porque comprende las siguientes etapas:
 - a. *Llevar a cabo la reacción de síntesis:* mediante la conjugación (esterificación) de un
10 oligosacárido o un polisacárido del tipo de los Fructooligosacáridos (FOS), ramificados
 con enlaces $\beta(2\rightarrow1)$ y $\beta(2\rightarrow6)$; y un acilante, en una proporción de peso de 1:1 a 1:10;
 en presencia de una enzima biocatalizadora en una proporción de 1:1 a 1:10 p/p
 respecto al acilante; opcionalmente en presencia de un solvente en una proporción de
15 1:2 a 1:100 p/v respecto al acilante; y manteniendo la reacción en un recipiente cerrado
 herméticamente, calentado a una temperatura de entre 40 a 80°C; en condiciones de
 agitación a 100-1000 r.p.m., durante un período de entre 48 y 120 hrs, obteniendo al
 término de la reacción una "mezcla cruda de reacción" que contiene los bioconjugados,
 el acilante y oligosacáridos/polisacáridos sin reaccionar, y la enzima biocatalizadora;
 - b. *filtrar*, la "mezcla cruda de reacción" por filtración utilizando filtros Whatman número 1,
20 2, 3, 4 o similares y/o centrifugación para recuperar una "fase orgánica" (FO), y una
 "fase sólida" (FS);
 - c. *recuperar*, los bioconjugados de FO por medio de la evaporación del solvente a presión
 reducida (vacío) en un equipo como un rotavapor, calentando a una temperatura de
 ebullición del solvente, de acuerdo al vacío aplicado, o por simple calentamiento a una
25 temperatura superior a la temperatura de ebullición del solvente, para obtener un
 producto seco designado como "bioconjugados de la fase orgánica" (BFO);
 - d. *recuperar*, los bioconjugados de FS mediante un lavado con un solvente hidrófilo en una
 proporción de 1:2 a 1:15 v/v; y un paso posterior de evaporación del solvente bajo las
 mismas condiciones descritas en la etapa (c), para obtener un producto designado como

“bioconjugados de la fase sólida” (BFS).

2. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 1, caracterizado porque los fructanos son fructanos de agave crudos, purificados (sin minerales y color), o sintéticos.
- 5 3. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 2, caracterizado porque los fructanos de agave purificados son de cadena DP menor a 10, o DP mayor a 10.
4. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 1, caracterizado porque la enzima biocatalizadora de la etapa (a) es una del grupo de las
10 serin-hidrolasas, que está opcionalmente inmovilizada.
5. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 4, caracterizado porque el grupo de la serin-hidrolasas incluye: proteasas, lipasas, esterases y cutinasas.
6. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 1,
15 caracterizado porque el acilante se selecciona del grupo que incluye: ácidos grasos libres; ésteres de ácidos grasos libres; aceites conteniendo ácidos carboxílicos, ya sea saturados o insaturados; y mezclas de ésteres de aceites.
7. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 6, caracterizado porque el acilante es omega-3.
- 20 8. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a una de las reivindicaciones 1 y 6-7, caracterizado porque en la reacción de síntesis de la etapa (a) el acilante actúa como solvente.
9. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 1, caracterizado porque el solvente es un solvente orgánico hidrófobo, hidrófilo o un solvente
25 del tipo medio bifásico hidrófobo/agua.
10. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa (a) se agrega opcionalmente un tamiz molecular en una proporción de 1:1 a 1:5 p/p respecto al acilante.

11. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 7, caracterizado porque el tamiz molecular es sílica porosa, zeolita, arcilla con tamaños de poro de 3 – 4 Å, u otro adsorbente de agua.
- 5 12. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 1, caracterizado porque FO contiene los bioconjugados, una parte del acilante sin reaccionar, y el solvente opcionalmente agregado.
- 10 13. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 1, caracterizado porque FS contiene los bioconjugados, oligosacáridos/polisacáridos y la otra parte del acilante sin reaccionar, la enzima biocatalizadora, y el tamiz opcionalmente agregado.
- 15 14. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 1, caracterizado porque el solvente hidrófilo de la etapa (d) es un alcohol, incluyendo metanol, etanol, t-butanol o isopropanol.
- 15 15. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a una de las reivindicaciones 1-7 y 9-14, caracterizado porque incluye opcionalmente la etapa de:
 - e. *Secar*, completamente los bioconjugados BFO y BFS mediante un lavado con un solvente hidrófilo, como un alcohol lineal o ramificado de cadena corta, o una cetona, y posteriormente remover dicho solvente mediante evaporación bajo las mismas condiciones descritas en la etapa (c).
- 20 16. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a una de las reivindicaciones 1-7 y 9-14, caracterizado porque incluye opcionalmente la etapa de:
 - f. *Secar*, completamente los bioconjugados BFO y BFS mediante un flujo de gas nitrógeno, seguido de congelamiento a una temperatura de -5 a -80°C y liofilización para eliminar el acilante sin reaccionar y/o el agua retenidos en los bioconjugados.
- 25 17. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a una de las reivindicaciones 1-16, caracterizado porque opcionalmente incluye la etapa de:
 - g. *Purificar*, para eliminar oligosacáridos/polisacáridos y acilante sin reaccionar que estén aún presentes, y que son eliminados mediante uno de los pasos siguientes:

- 5
- 10
- 15
- 20
- 25
- i. *con álcali diluido*, los BFO y los BFS se disuelven en una solución acuosa de álcali a una concentración de 0.1 a 1 N, en una proporción 1:1 a 1:20 v/v, en agitación; posteriormente se separan por decantación 3 fases: 1) una fase orgánica, que contiene bioconjugados cuyo tiempo de retención es mayor a 3.5 minutos; 2) una interfase, que contiene jabón; y 3) una fase acuosa, que contiene bioconjugados cuyo tiempo de retención es menor a 3.5 minutos;
 - ii. *con agua caliente*, los FO y BFS se calientan a una temperatura de 40 a 70°C y se lavan con agua caliente a una temperatura de entre 40 y 70°C, en agitación, para separar posteriormente por centrifugación a 1000-10000 r.p.m., una fase superior que contiene los bioconjugados no solubles en agua, y una fase inferior que contiene los bioconjugados en solución acuosa;
 - iii. *con agua a temperatura ambiente*, la FS se lava con agua a temperatura ambiente, en agitación, y posteriormente se centrifuga a 1000-10000 r.p.m., para obtener una fase superior que contiene los bioconjugados que son solubles en agua, y una fase inferior que contiene los bioconjugados no solubles en agua.
18. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 17, caracterizado porque los bioconjugados no solubles en agua se secan por congelación y liofilización, o por secado en horno.
19. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 17, caracterizado porque los bioconjugados solubles en agua se secan por congelación seguida de liofilización, o por aspersion.
20. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 17, caracterizado porque los bioconjugados de mayor tiempo de retención tienen la forma de un polvo.
21. Proceso para la obtención de moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 17, caracterizado porque los bioconjugados solubles en agua tienen la forma de un gel.
22. Moléculas bioconjugadas con actividad biológica como nutracéutico, prebiótico, antiinflamatorio, antitumoral, vector intestinal, y tecnofuncional como emulsificante,

obtenidas mediante el proceso descrito en las reivindicaciones 1-21, caracterizadas porque están constituidas por una porción de un oligosacárido o un polisacárido del tipo de los Fructooligosacáridos (FOS) ramificados con enlaces $\beta(2\rightarrow1)$ y $\beta(2\rightarrow6)$; y un acilante, en una proporción de peso de 1:1 a 1:10.

- 5 23. Moléculas bioconjugadas con actividades biológicas y tecnofuncionales de acuerdo con la reivindicación 22, caracterizadas porque los fructanos son fructanos de agave crudos, purificados (sin minerales y color), o sintéticos.
24. Moléculas bioconjugadas de acuerdo a una de las reivindicaciones 22-23, caracterizado porque los fructanos de agave purificados son de cadena DP menor a 10, o DP mayor a
- 10 10.
25. Moléculas bioconjugadas de acuerdo a la reivindicación 22, caracterizadas porque el acilante se selecciona del grupo que incluye: ácidos grasos libres; ésteres de ácidos grasos libres; aceites conteniendo ácidos carboxílicos, ya sea saturados o insaturados; y mezclas de ésteres de aceites.
- 15 26. Moléculas bioconjugadas de acuerdo a una de las reivindicaciones 22-25, caracterizadas porque tienen actividad antiinflamatoria, antitumoral, emulsificante, prebiótica y nutracéutica.
27. Moléculas bioconjugadas de acuerdo a una de las reivindicaciones 22-25, caracterizadas porque se presentan en la forma de polvo o gel dependiendo del método de purificación.
- 20 28. Uso de las moléculas bioconjugadas de las reivindicaciones 22-27, para su aplicación como ingredientes activos en alimentos, nutracéuticos, cosméticos y fármacos.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a la síntesis de moléculas bioconjugadas, de entre dos o más
5 grupos funcionales siguientes: azúcares, prebióticos, oligosacáridos, polisacáridos, triglicéridos,
ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, antiinflamatorios; con su proceso de obtención por
síntesis biocatalizada utilizando hidrolasas tales como esterasa, proteasa lipasa o cutinasa y a su
purificación por diversos métodos que comprenden lavado y secado. Así como a sus usos en
alimentos, fármacos y cosméticos: como nutracéutico prebiótico, antiinflamatorio, antitumoral,
10 vector intestinal, ingrediente tecnofuncional para uso alimenticio (emulsificante, sustituto de
grasa) y cosmético emoliente; los cuales son posibles al tratarse de moléculas no tóxicas de
acuerdo a las pruebas Ames.

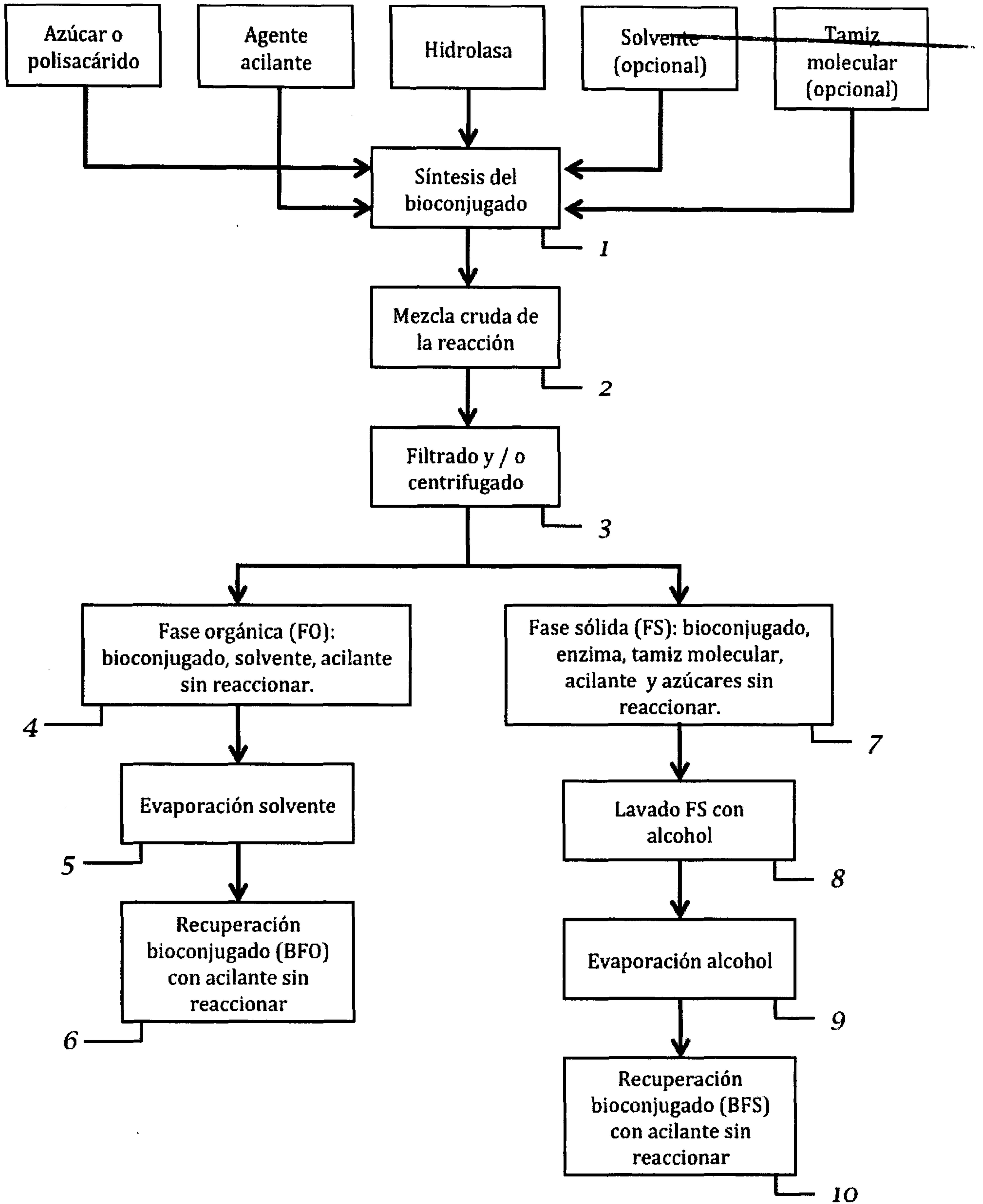


Figura 1

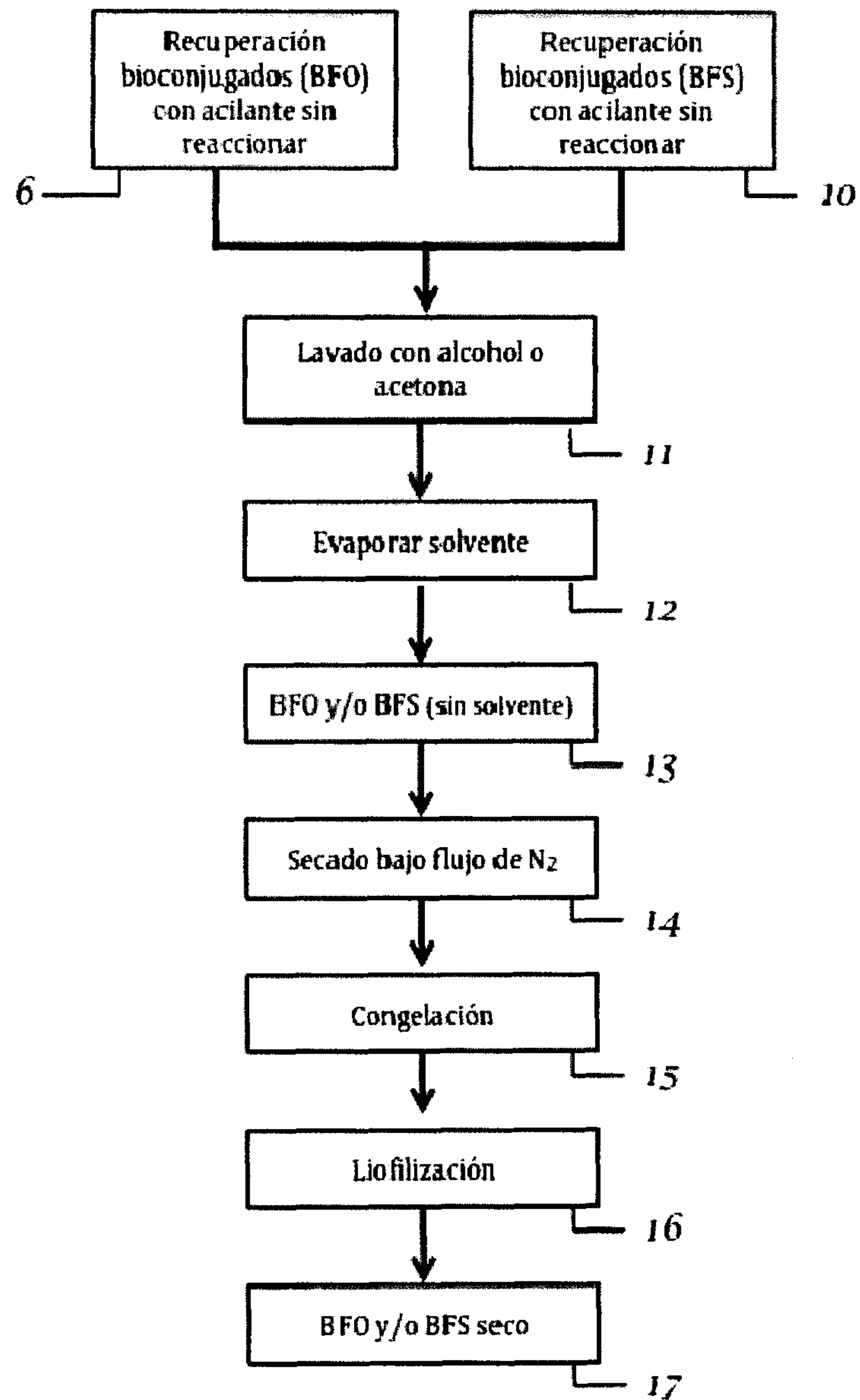


Figura 2

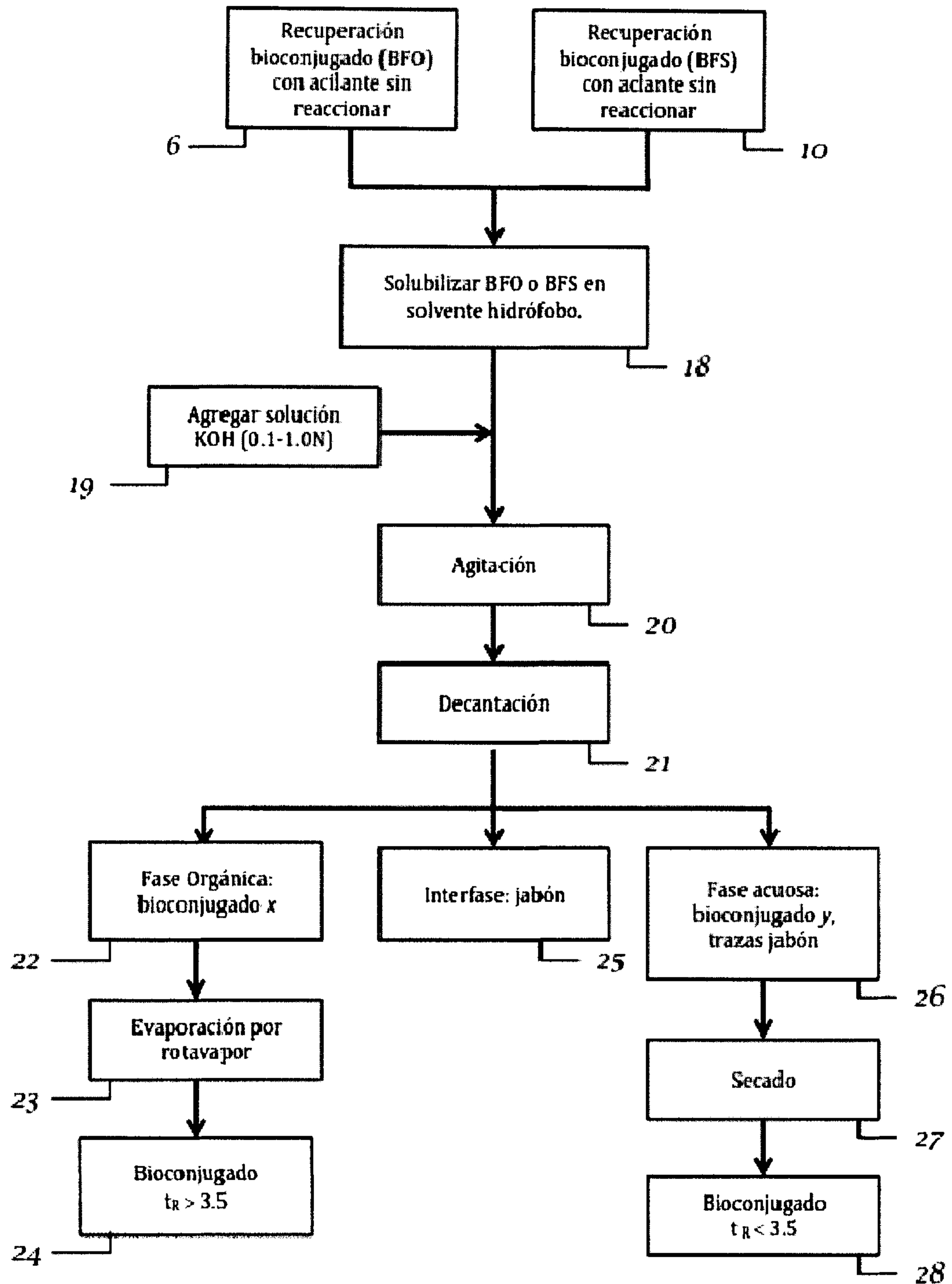


Figura 3

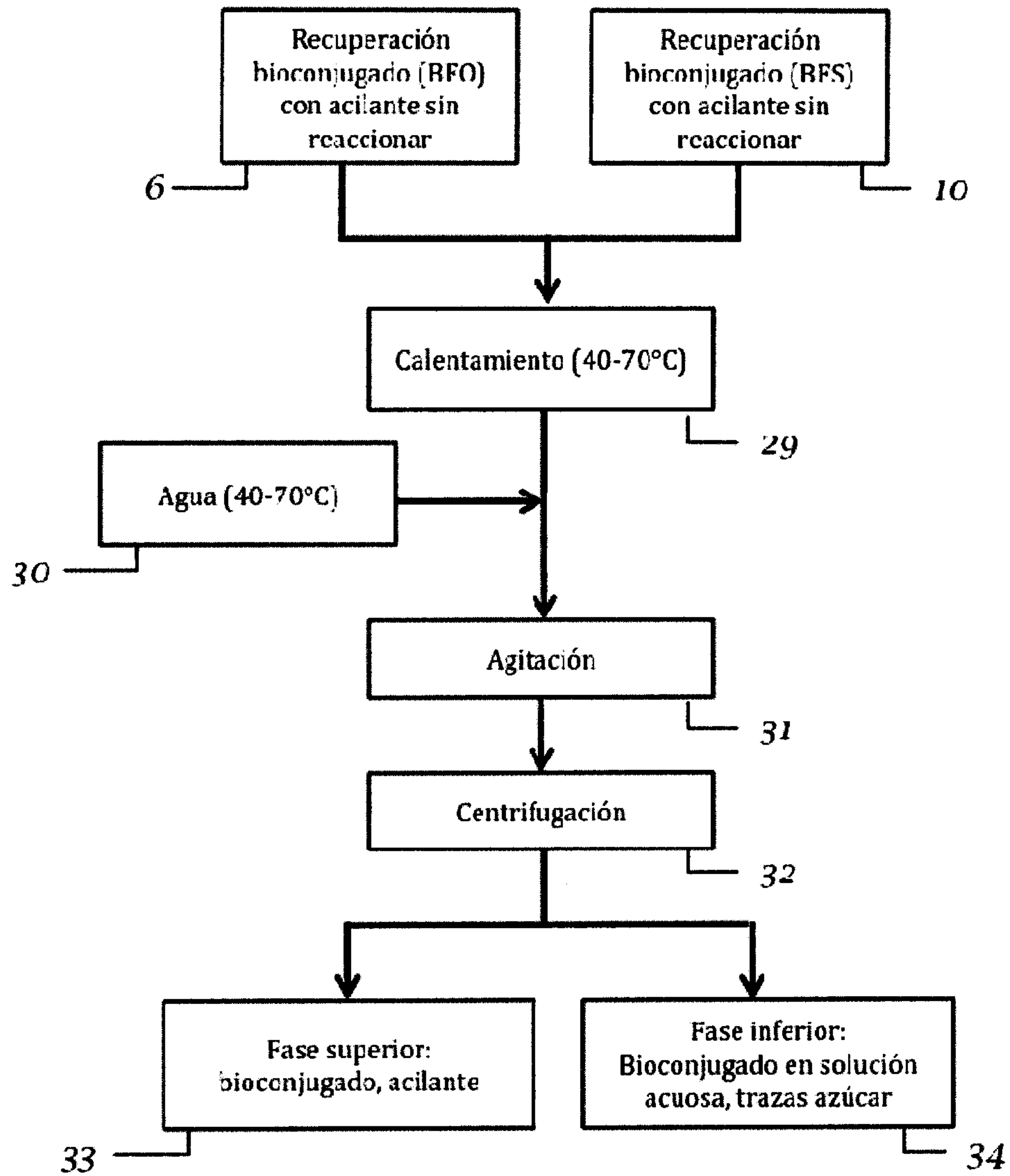


Figura 4

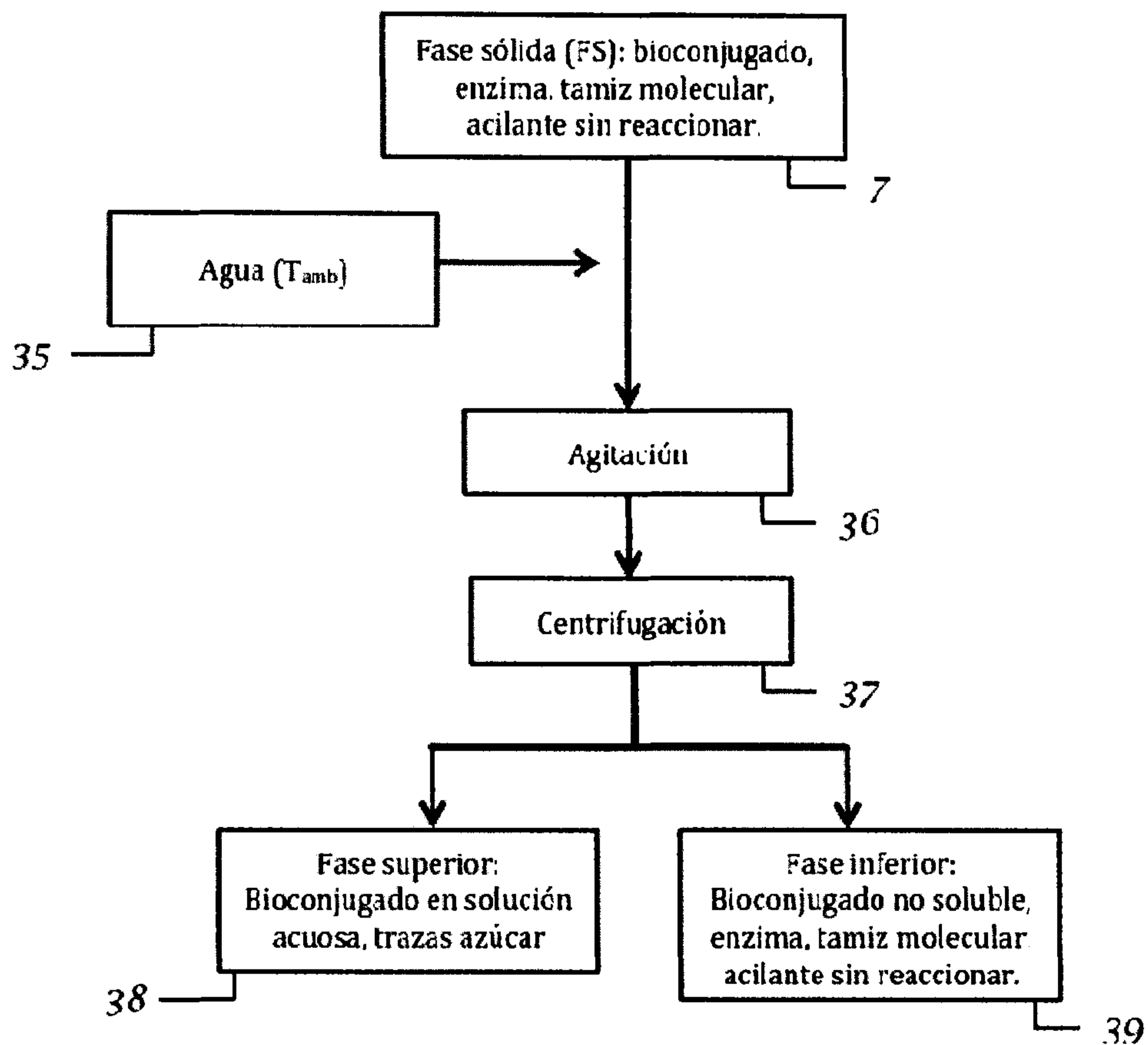


Figura 5

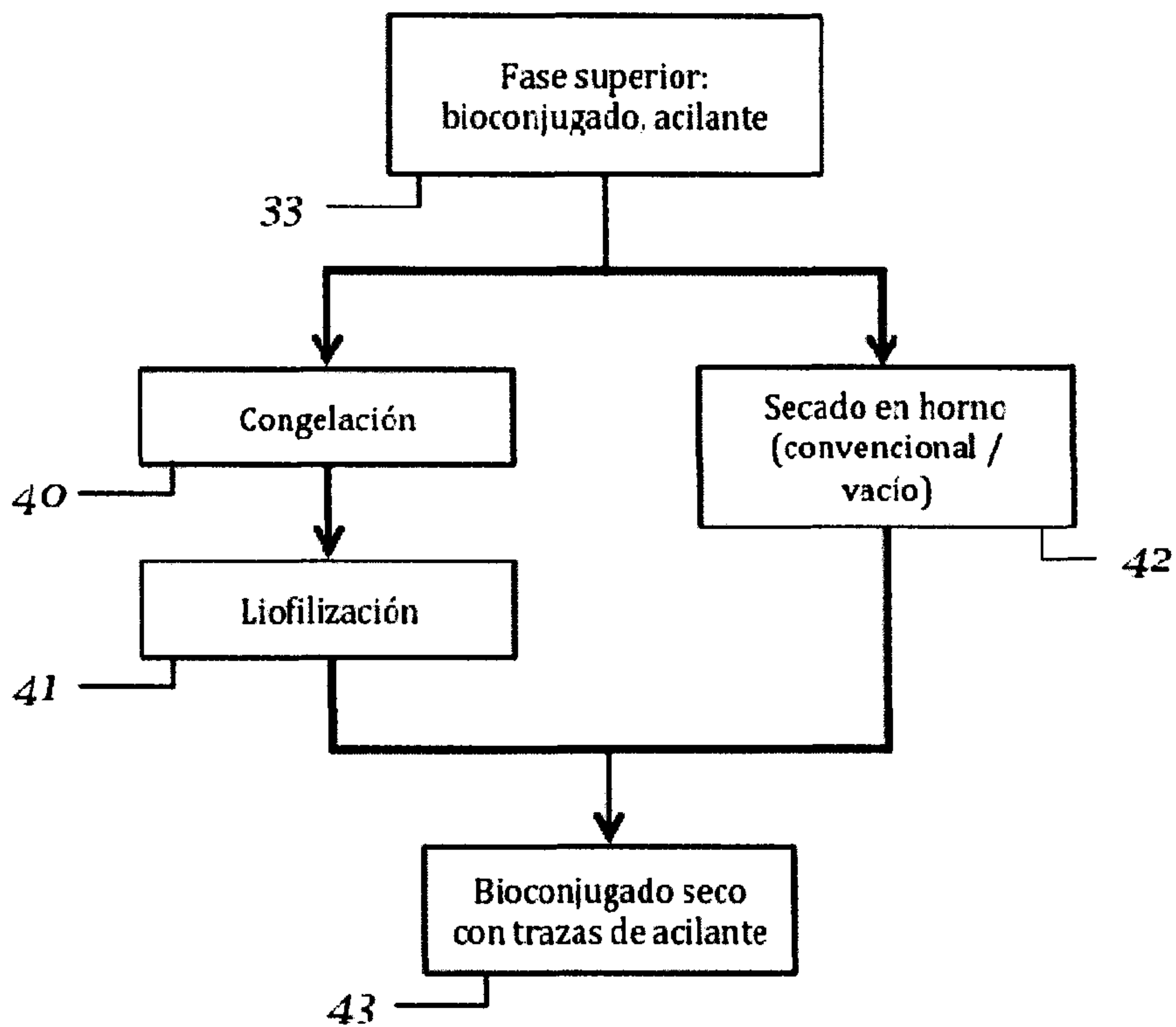


Figura 6

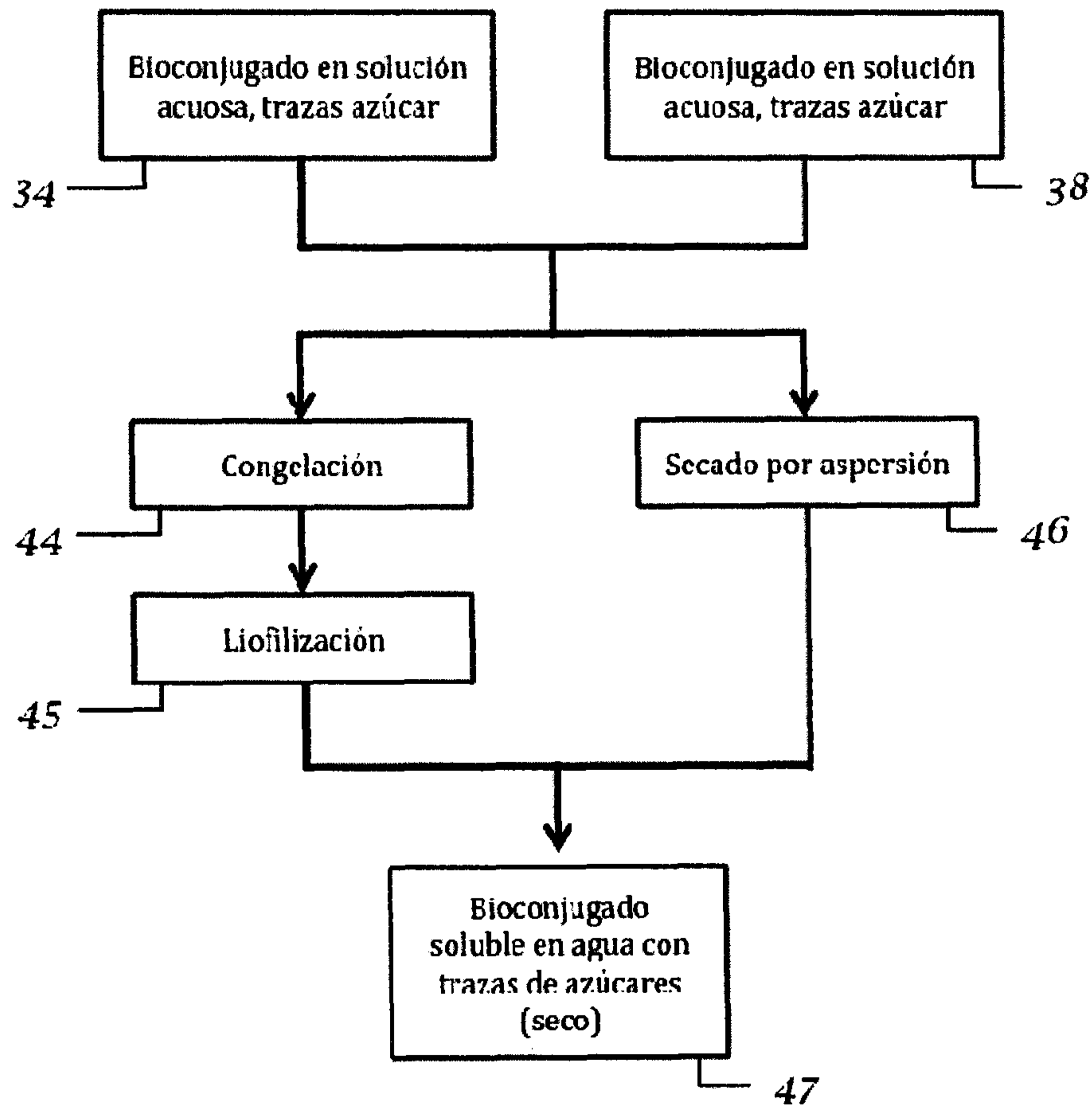
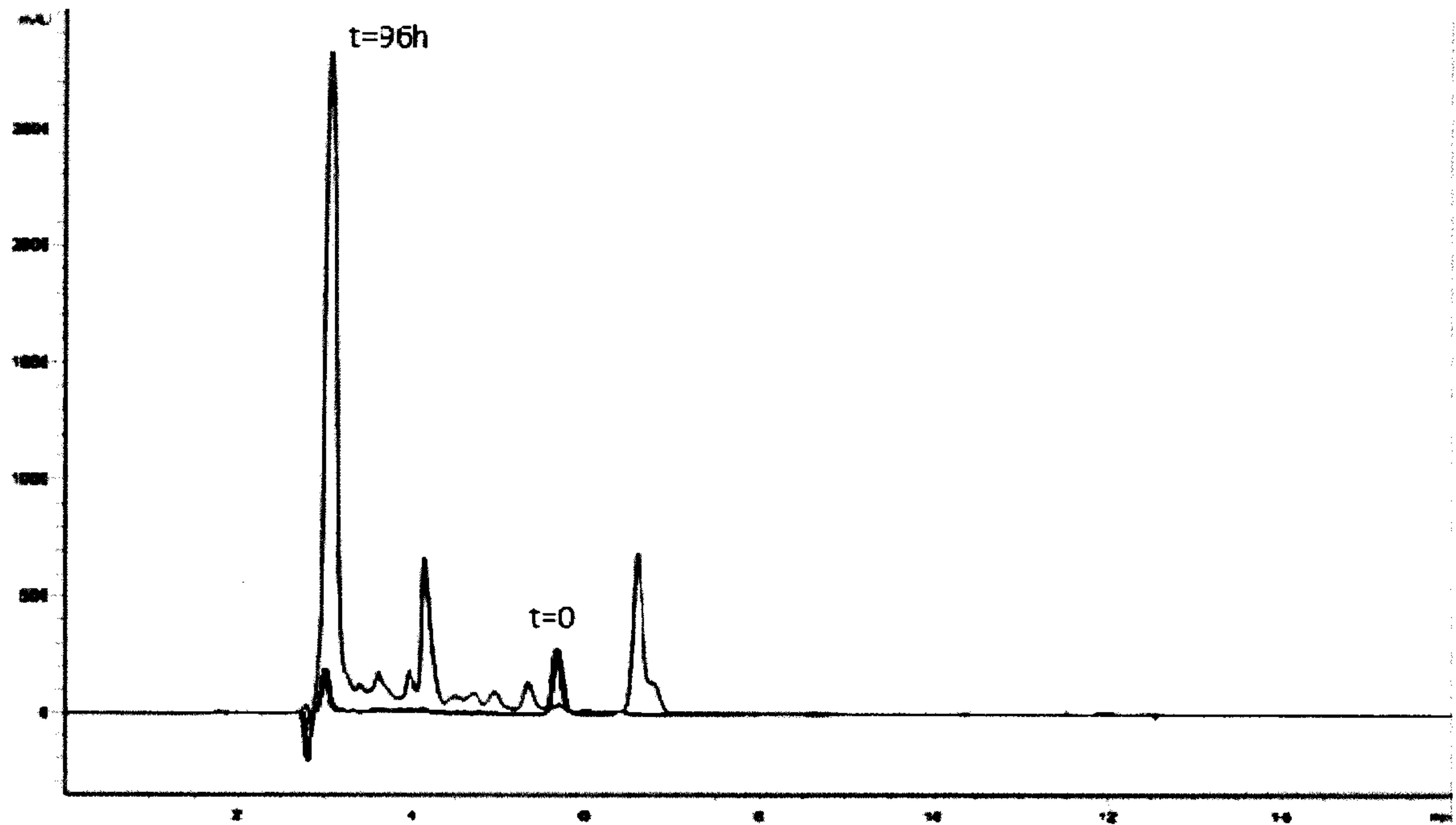


Figura 7

(A)



(B)

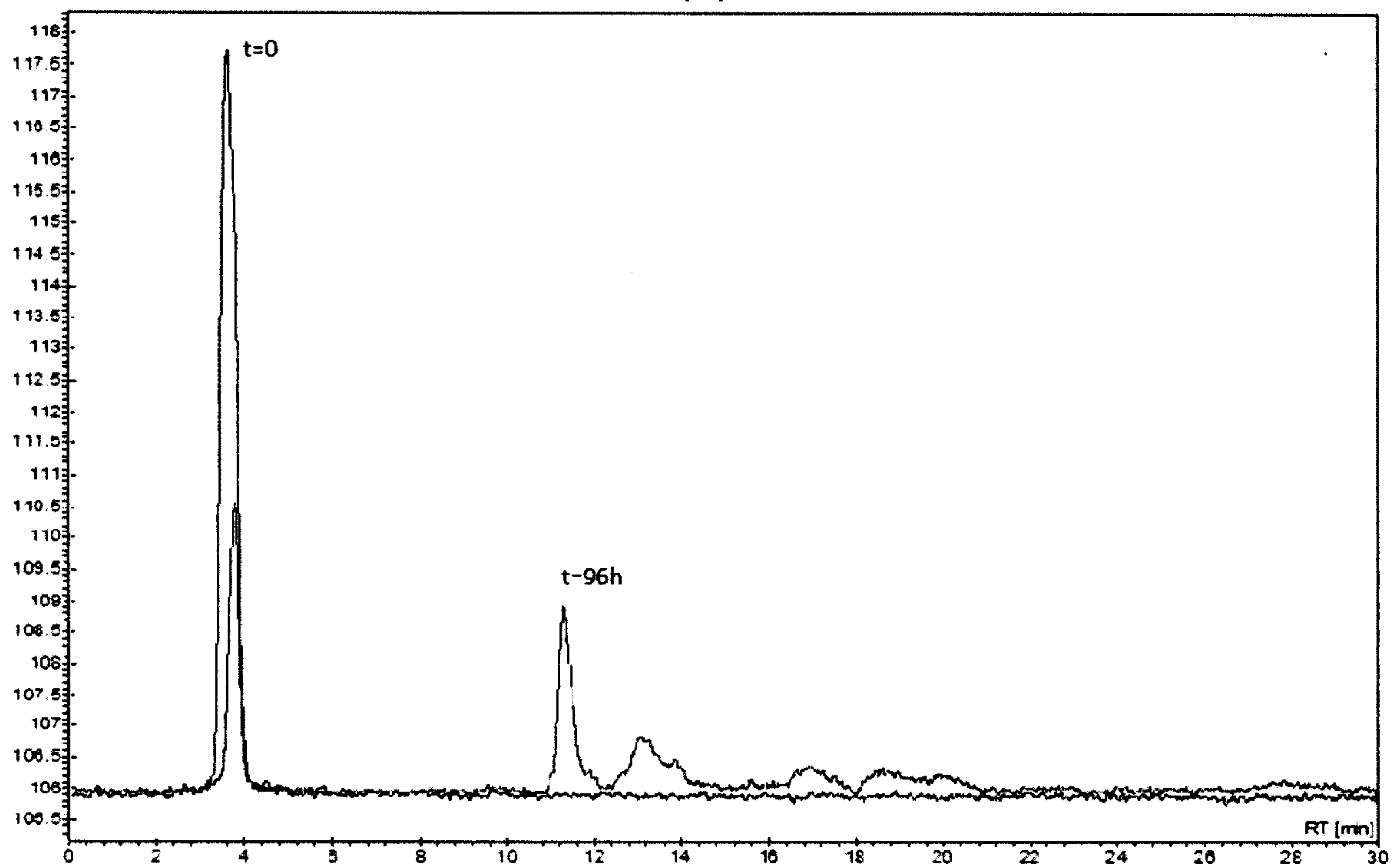


Figura 8

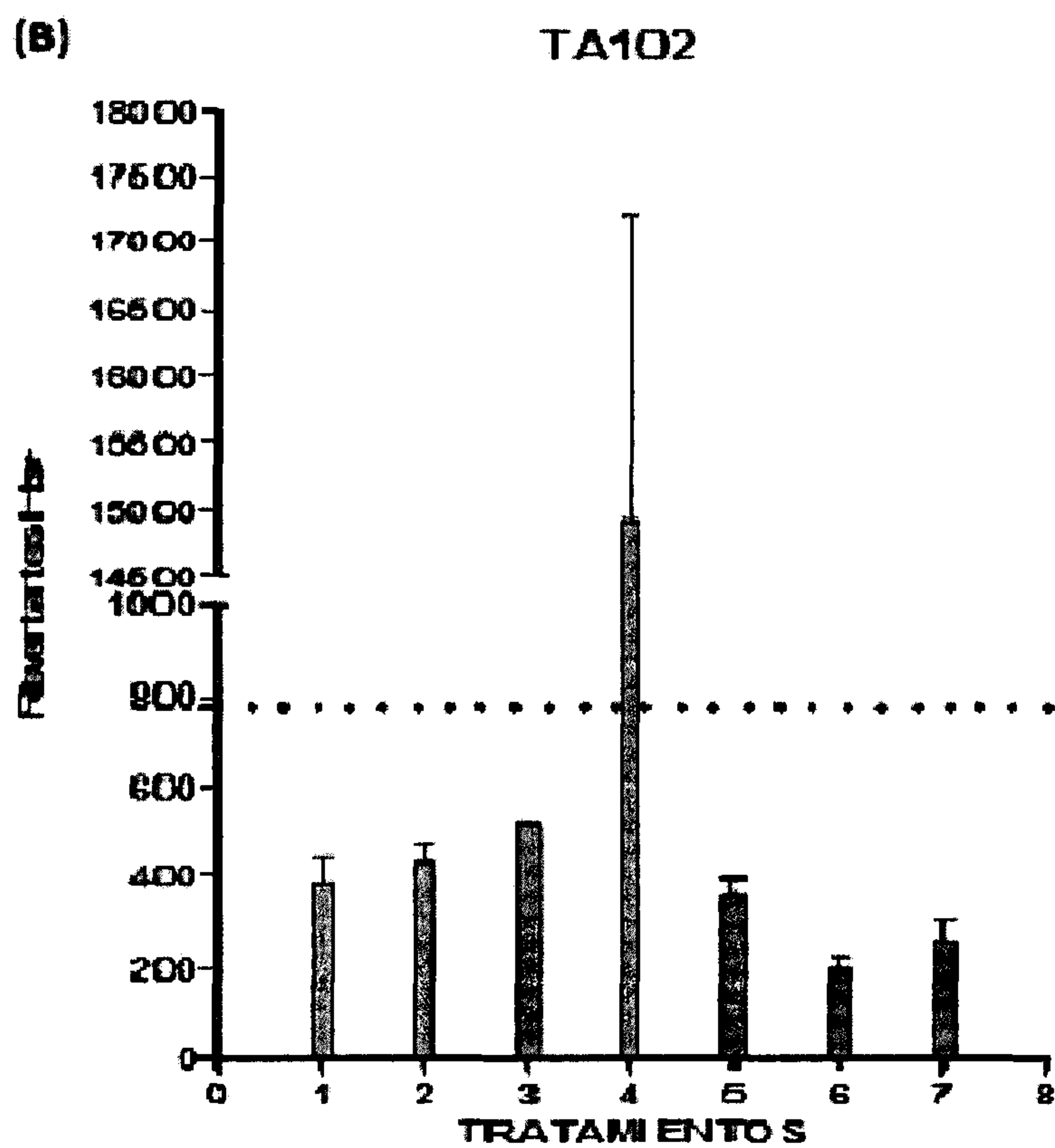
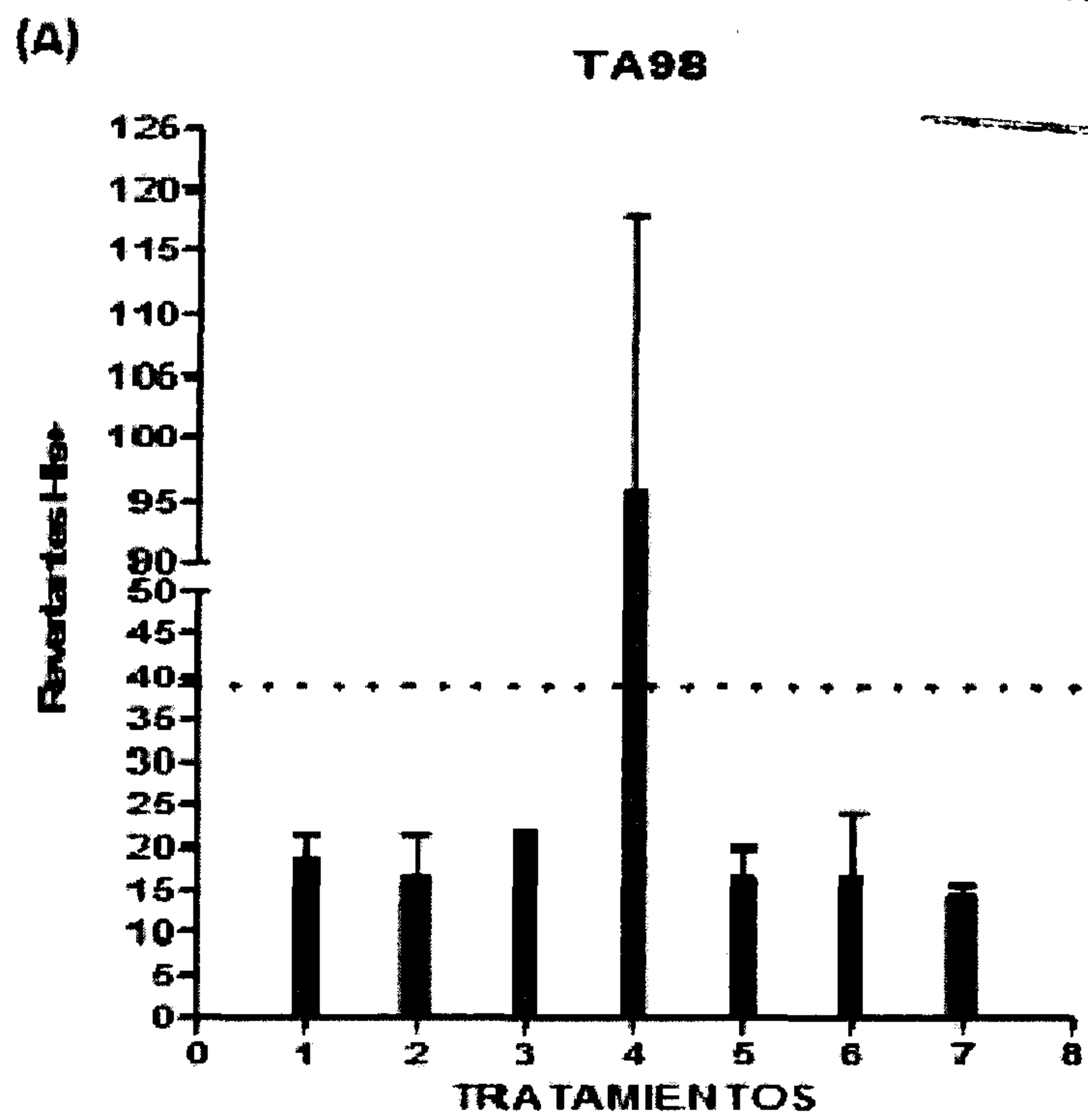


Figura 9

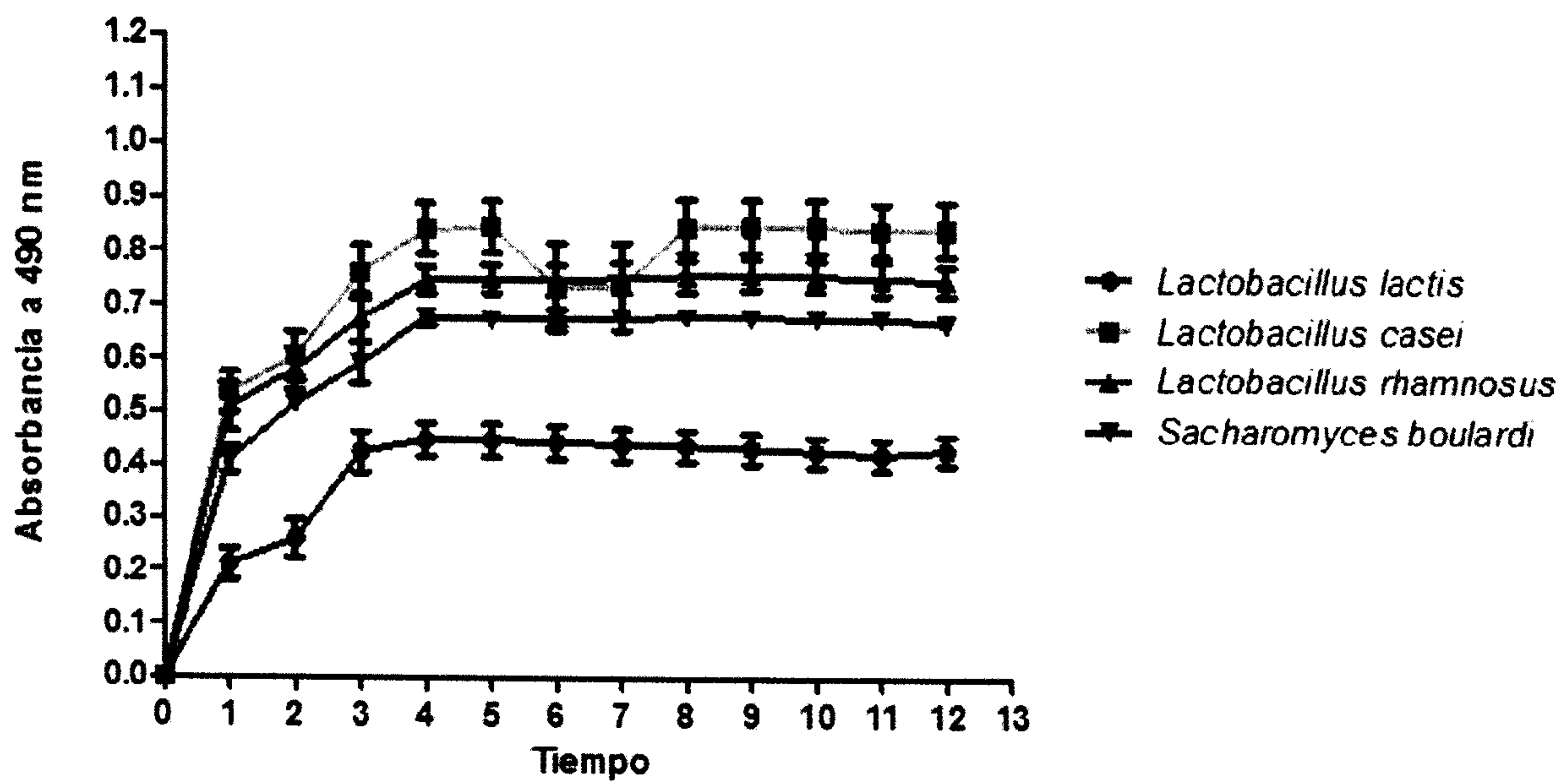
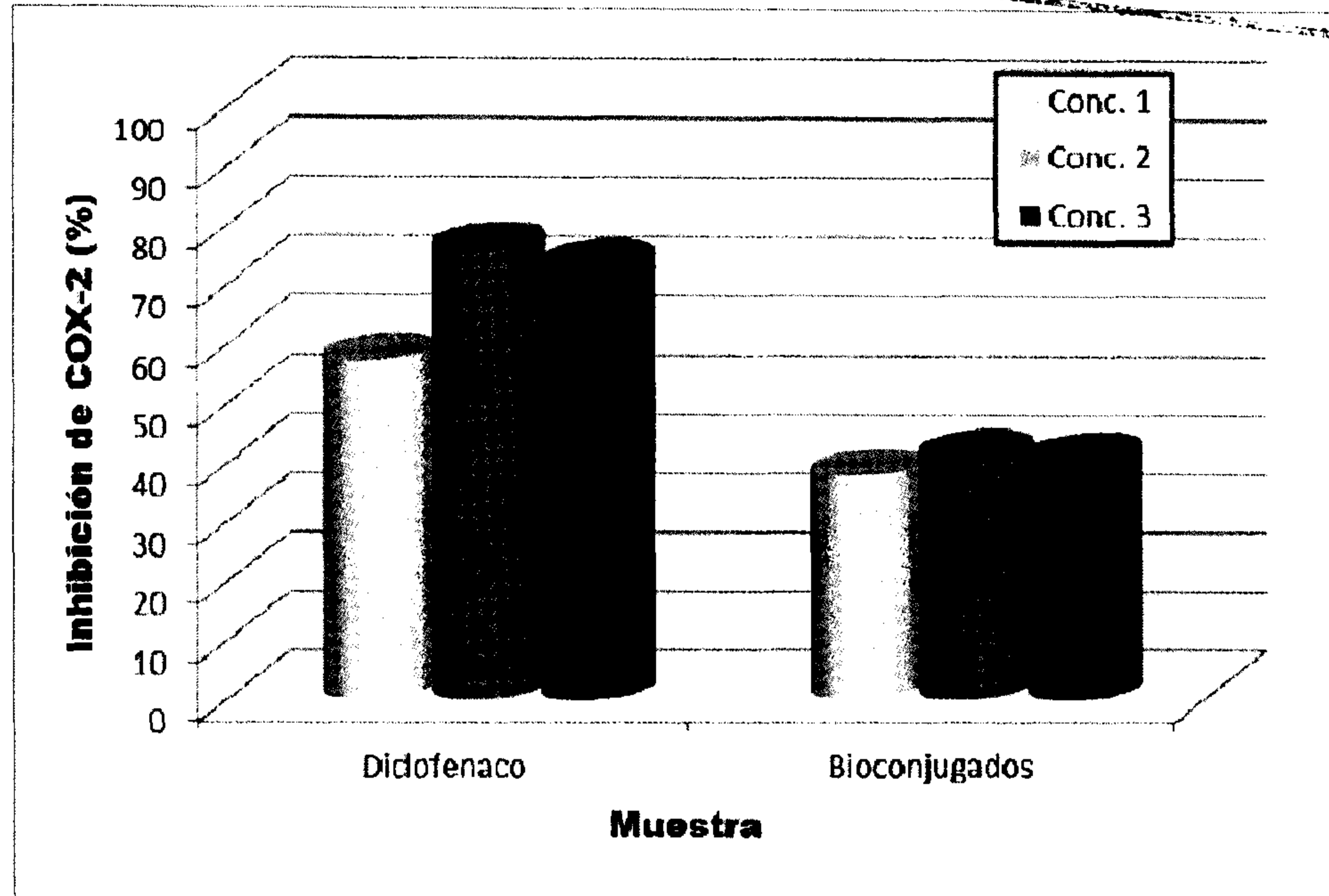


Figura 10



(A)



(B)

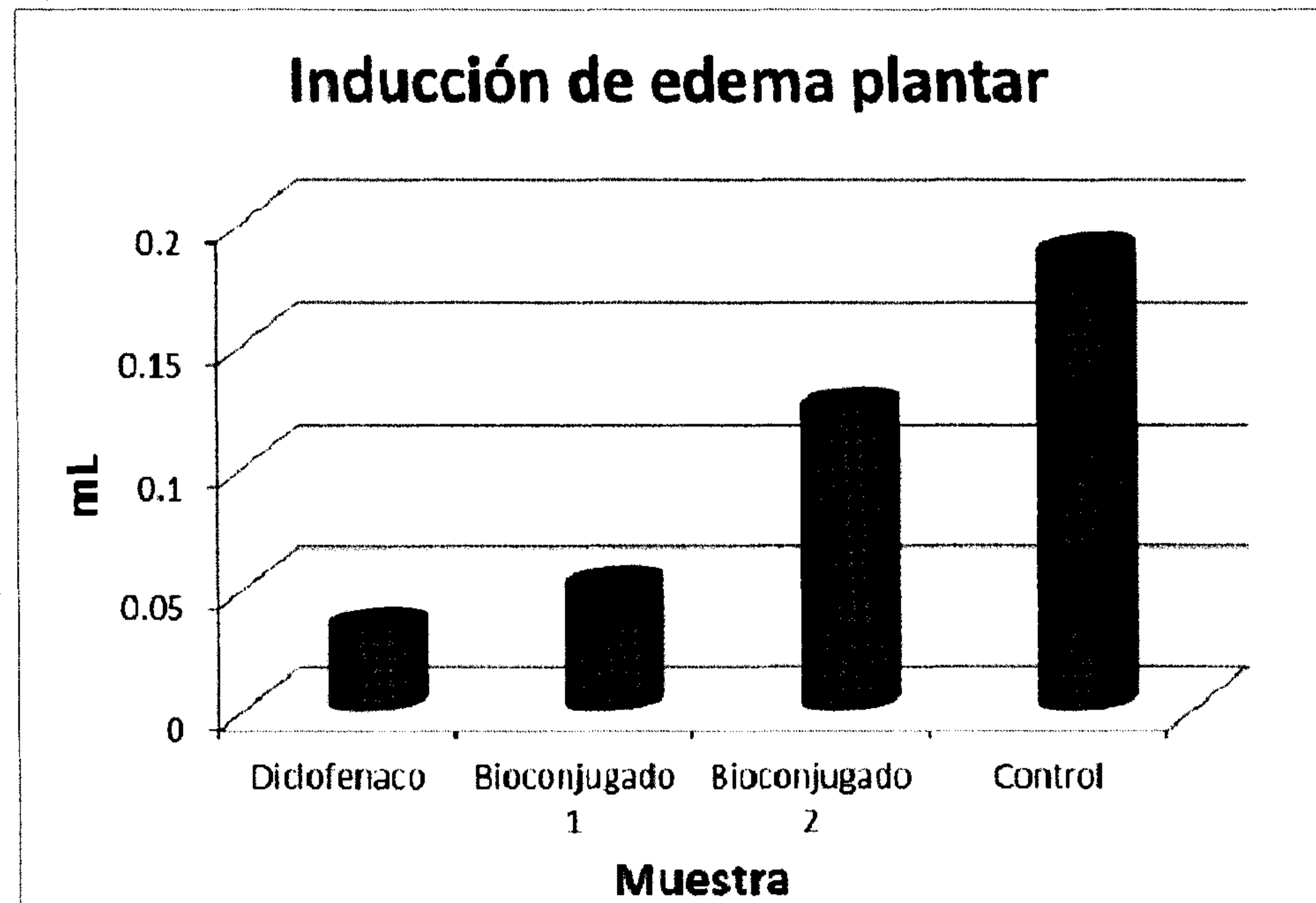


Figura 11

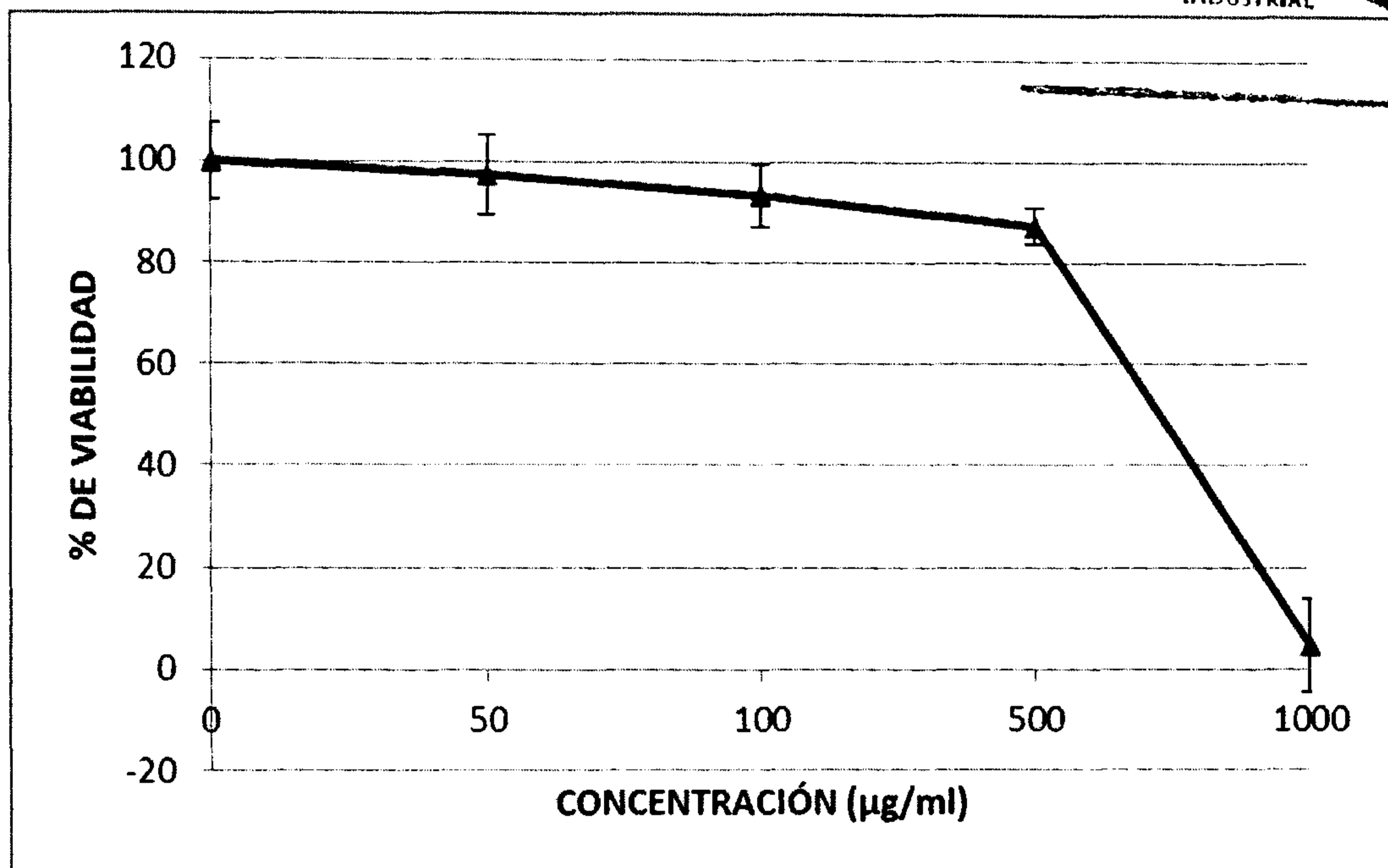


Figura 12

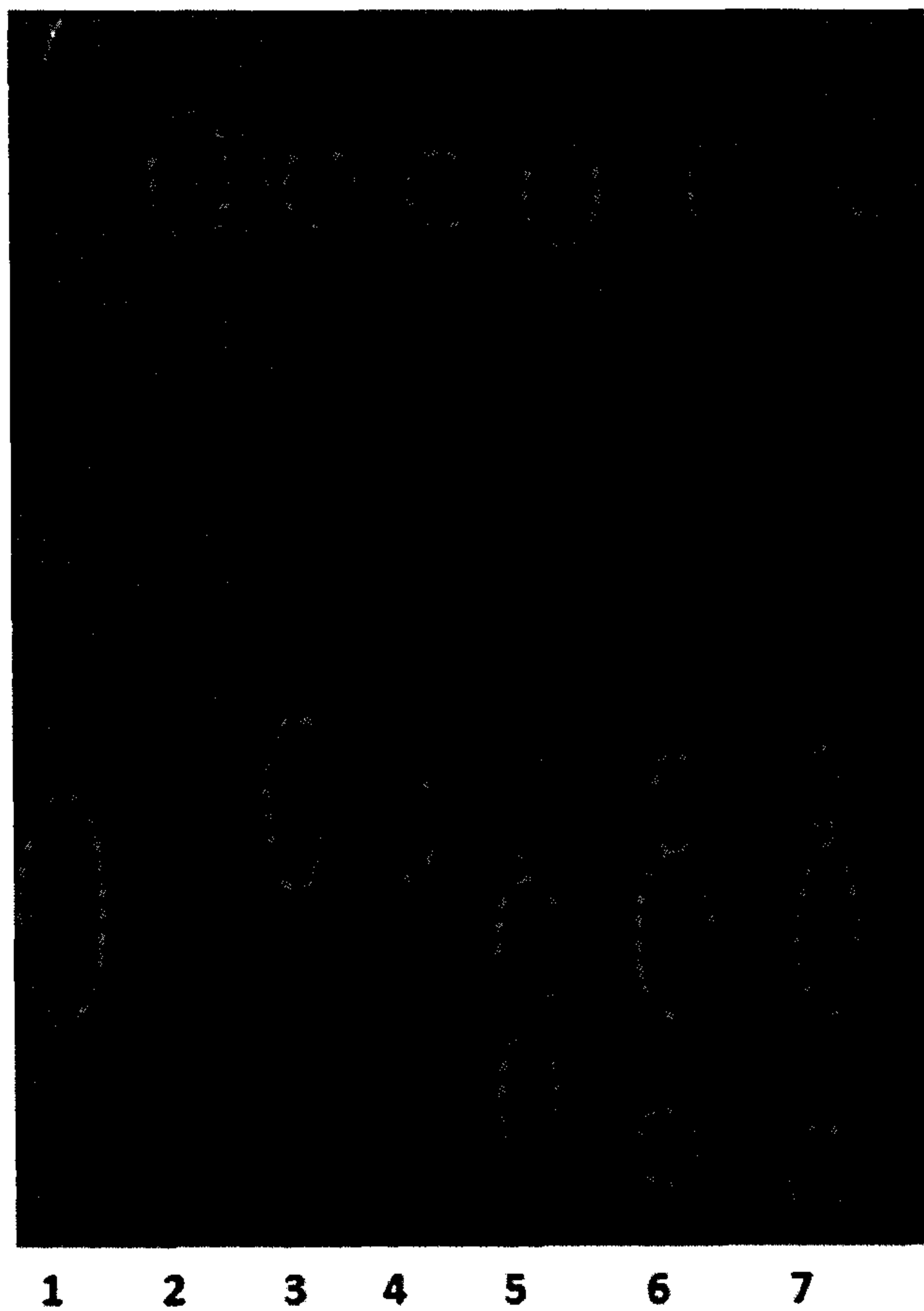


Figura 13

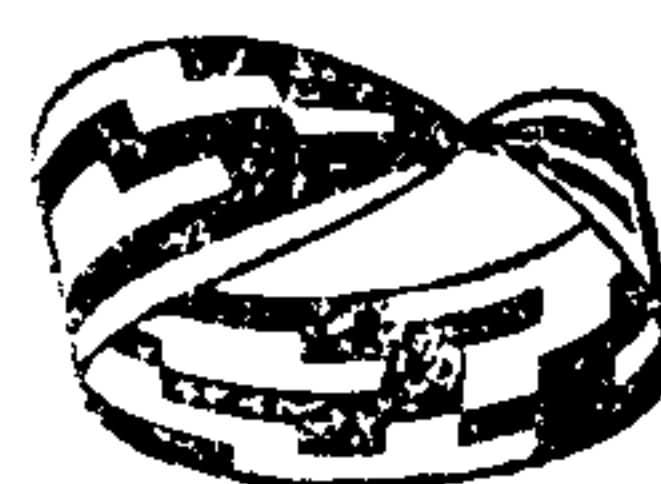


Figura 14