

**Nous derivats de flavanols a partir de subproductes  
vegetals. Síntesi, purificació i avaluació de la seva  
capacitat antiradicalària i pro-apoptòtica en cèl·lules no  
tumoral i canceroses.**

**Carles Lozano Pérez**

Desembre de 2005

Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona  
i  
Institut d'Investigacions Químiques i Ambientals de Barcelona

**Nous derivats de flavanols a partir de subproductes vegetals. Síntesi,  
purificació i avaluació de la seva capacitat antiradicalària i  
pro-apoptòtica en cèl·lules no tumorals i canceroses.**

Memòria presentada per  
**Carles Lozano Pérez**

Per optar al grau de Doctor per la Universitat de Barcelona

Tesi realitzada sota la direcció de

Dr. Josep Lluís Torres Simón  
Dra. Marta Cascante Serratosa

en el

Departament de Química de Pèptids i Proteïnes de l'Institut d'Investigacions  
Químiques i Ambientals de Barcelona

i

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular de la Facultat de Biologia de la  
Universitat de Barcelona

Programa de doctorat de Biotecnologia (Bienni 2001-2003) de la Facultat de Farmàcia,  
Universitat de Barcelona

El Co-director,

La Co-directora,

El Doctorand,

Dr. JOSEP LLUÍS TORRES  
Institut d'Investigacions  
Químiques i Ambientals  
de Barcelona

Dra. MARTA CASCANTE  
Facultat de Biologia  
Universitat de Barcelona

CARLES LOZANO

Barcelona, Desembre de 2005

*“Quan l’últim arbre  
sigui talat, l’últim riu sigui  
contaminat i l’últim animal  
salvatge sigui aniquilat, us  
adonareu que els diners no  
es mengen” –proverbi indi-*

## AGRAÏMENTS

Aquesta memòria engloba cinc anys d'aprenentatge, entre petites alegries personals que es fan una mica més grans quan les pots compartir amb la gent que t'envolta i desil·lusions que et fan aprendre, si més no, a intentar superar les adversitats de la millor manera possible. Adversitats que, com els molins de vent d'en Cervantes, semblen gegants impossibles d'abatre'ls o de ni tan sols fer-los girar les aspes. Afortunadament he estat rodejat d'un gran equip humà que m'han ajudat, i molt, a afrontar les inclemències de la ciència.

D'aquest gran grup de persones destacar l'important paper que han tingut els directors de tesi, Josep Lluís Torres i Marta Cascante, especialment pel seu tarannà positiu enfront els resultats *adversos* (quan el que busques no es ceneix al que trobes). Amb ells he après, possiblement, la lliçó més important en ciència: No hi han resultats adversos ni negatius sinó resultats difícils d'explicar. Aquesta és, potser, una de les grandeses de la ciència.

Darrera de l'experiència de cada director hi ha un grup de companys i amics amb qui convius cada dia i els fas partícips de la teva recerca. Gent amb qui et desfogues, t'animen, t'aconsellen, t'ajuden, i fan molt més lleugera i compartida la vida diària al laboratori. Tinc la gran sort d'haver estat co-dirigit per dos grups amb una magnífica plantilla que m'han fet gaudir tant dins el lab com en les desenes de sopars, bowlings i PortAventures que hem compartit. Moltíssimes gràcies a tot el 206: Laia, Carmen, Ari, Sonia T., Jose, Jordi, Debi, Sonia L., Guillem, Xavi, Susana i Olga. Amb el mateix entusiasme agrair a tota Integrativa per l'acollida rebuda després de temporades d'absència: Bego, Joan, Silvia, Ceci, Antonio, Pedro V., Dane, Shirley, Gisela, Joan Carles, Gema, Fernando R., Fernando O., Pedro A, Santi, Míriam, Maria i Josep. Estic molt orgullós d'haver pres part en aquestes dues grans famílies i molt afortunat d'haver conegut a unes persones tan especials. Igualment, la multidisciplinarietat del treball realitzat m'ha obert les portes en d'altres camps amb gent disposada tant a ensenyar-te com a col·laborar i a ajudar-te en tot el possible. Gràcies a Pere Clapés, Lluís Julià, Francisco Sánchez, Jesus Joglar, Josep Carilla, Jaume Comas, Ricard, Pierre Monsan et collègues du labo à Toulouse et aussi des gens qui m'aidaient beaucoup à mon stage. Merci Chus, Maite, Gemma, Juan, Sandra et Elise. Igualment agrair a la gent dels laboratoris pròxims que fan més lleuger el dia a dia, especialment per la seva total disposició a compartir espais, aparells i material així com a ajudar-te, escoltar-te i animar-te quan fes falta. Tots ells han ajudat en diferent mesura a fer que les aspes del molí giressin en la direcció adequada. Tot i que molta d'aquesta desinteressada col·laboració no queda plasmada en la memòria de la tesi, si que restarà en una altra memòria que portaré sempre a sobre. Moltes gràcies a Xavi, David, Santi, Montse, Maria, Tete, Aurora, Meri, Carme,

Sandra, Deborah, Sandra M., Espe, Laia, Raquel, Txell, Olga, Merce, Marta, Joedmi, Núria, Neus...entre d'altres companys.

*Mens sana in corpore sano*, tot i que resulta difícil compaginar esport i investigació per la gran dedicació a aquesta última, no vull obviar els científics de tan variada procedència que han fet de l'hora del basquet setmanal una vàlvula d'escapament necessària. Perquè les col·laboracions fora de poiata poden ser tan o més saludables, agrair aquesta ventada d'aire fresc que es renovava setmana rera setmana amb Carles R., Cris, Jose, Xavi, .Luís, Danis (en plural) Pep, Roberto i més gent amb la que em compartit cistella i preocupacions. Moltes gràcies.

Per arribar on soc ara, he necessitat de molta més gent igual de meravellosa que m'ajudés en l'inici de la química. Companys que esdeveniren amics i, una dècada després de començar la carrera al seu costat, encara trobem temps per saber de les nostres vides, totes elles rodejades afortunadament de química. Moltes gràcies a Xavi, Anna, Carol, Eli, Oscar, Mari, Mire, Annalisa i Jose.

Molt especialment agrair de tot cor a qui ha sofert més les meves penes científiques. Una colla de gent que, tot i trobar-se lluny de la Química, han sigut el més preuat escut per protegir-me i desconnectar de la feina. Gent que dona sentit a la vida perquè et sents estimat. Moltes gràcies a Anna, Quique, Laura, Marce, Zahara, Isa, David, Laura, Joel, Maria, David i Míriam per la vostra paciència, ànims i per tantes bones estones de caps de setmana i vacances. Igualment agrair l'ampli recolzament i suport moral, especialment en els moments més adversos, a Núria, Cris T., Néstor, Jordi, Maria, Jordi, Marta, Gemma, Dani, Gisela, Angel, Emma, Javi, Laura, Angel, Manoli, Isabel, Francisco i Luís, sense oblidar a la gent amb qui em vaig començar a educar i que també els he mantingut al corrent d'aquesta tesi Chisco, David, Lluís i Albert. Ja em perdonareu si m'he deixat d'anomenar a algú per aquest llarg camí, que de bon grat li ho agrairé personalment.

Arribat a aquest punt, no em queden paraules per agrair quan d'important ha estat la família en la meva educació i trajectòria. Gràcies a ells aquest treball és una realitat, gràcies a les seves aportacions d'aire diàries que han evitat que el molí s'aturés i que amb prou feines he sabut agrair a temps. Gràcies a ells estic on soc, orgullós i feliç. És per això que aquest treball els hi dedico íntegrament, perquè el mèrit també és seu. Un petò molt fort a la meva mare i pare, Jordi, Allona i Cris. Moltíssimes gràcies Cris per estar al meu costat, pel teu recolzament, ànims, perseverança i *carinyo* rebuts, especialment en els moments més delicats. Un petò molt fort.

**ÍNDIX**

<b>ÍNDEX</b>	<b>i</b>
<b>ABREVIATURES</b>	<b>ix</b>
<b>PRESENTACIÓ</b>	<b>1</b>
<b>1 INTRODUCCIÓ</b>	<b>3</b>
<b>1.1 FLAVONOIDES. GENERALITATS</b>	<b>3</b>
1.1.1 Origen.....	3
1.1.2 Tanins i proantocianidines.....	4
1.1.2.1 <u>Nomenclatura i classificació de les proantocianidines</u> .....	4
1.1.3 Biosíntesi dels flavonoides.....	6
1.1.4 Formació d'oligòmers i polímers de proantocianidines.....	8
1.1.5 Despolimerització.....	9
1.1.6 Separació i anàlisi de les proantocianidines.....	10
1.1.7 Disponibilitat.....	11
<b>1.2 OXIDANTS I ANTIOXIDANTS</b>	<b>14</b>
1.2.1 Espècies reactives d'oxigen.....	14
1.2.2 Sistemes de defensa interns del organisme.....	15
1.2.3 Mecanisme antioxidant dels flavonoides.....	16
1.2.3.1 <u>Mecanisme antiradicalari</u> .....	16
1.2.3.2 <u>Autoxidació de les catequines</u> .....	20
<b>1.3 CÈL·LULES I CULTIUS CEL·LULARS</b>	<b>21</b>
1.3.1 Proliferació.....	21
1.3.2 Cicle cel·lular.....	21
1.3.2.1 <u>Fases del cicle cel·lular</u> .....	21
1.3.2.2 <u>Regulació del cicle cel·lular</u> .....	22
1.3.3 Apoptosi.....	23
1.3.3.1 <u>Regulació de l'apoptosi</u> .....	25
1.3.3.2 <u>Tècniques per detectar l'apoptosi cel·lular</u> .....	25
<b>1.4 CÀNCER</b>	<b>27</b>
1.4.1 Característiques comunes en cèl·lules canceroses.....	27
1.4.2 Flavonoides com agents anti-cancerígens.....	28

<b>2 OBJECTIUS</b>	<b>31</b>
<b>3 MATERIALS I MÈTODES</b>	<b>33</b>
<b>3.1 MATERIAL CROMATOGRÀFIC I DE DERIVATITZACIÓ</b>	<b>33</b>
3.1.1 Equipaments.....	33
3.1.2 Reactius i dissolvents.....	34
3.1.3 Preparació de tampons i dissolucions.....	35
<b>3.2 MATERIAL PER A BIOLOGIA CEL·LULAR</b>	<b>36</b>
3.2.1 Equipaments.....	36
3.2.2 Reactius i dissolvents.....	38
3.2.3 Preparació de tampons i dissolucions.....	38
<b>3.3 PREPARACIÓ DE DERIVATS DE FLAVANOLS I     CARACTERITZACIÓ QUÍMICA</b>	<b>40</b>
3.3.1 Obtenció de les fraccions que contenen procianidines.....	40
3.3.1.1 Fraccions de <i>Vitis vinifera</i> .....	40
3.3.1.2 Fraccions de <i>Pinus pinaster</i> .....	41
3.3.1.3 Fraccions d' <i>Hamamelis virginiana</i> .....	41
3.3.2 Despolimerització àcida de proantocianidines en presència de tiols.....	42
3.3.2.1 <i>Vitis vinifera</i> .....	42
3.3.2.1.1 Tractament de la mostra de <i>Vitis vinifera</i> a escala analítica.....	42
3.3.2.1.2 Tractament de la mostra de <i>Vitis vinifera</i> a escala de mil·ligrams.....	42
3.3.2.1.3 Tractament de la mostra de <i>Vitis vinifera</i> a escala de grams.....	42
3.3.2.2 <i>Pinus pinaster</i> .....	43
3.3.2.2.1 Tractament de l'escorça de <i>Pinus pinaster</i> a escala de grams.....	43
3.3.2.3 <i>Hamamelis virginiana</i> .....	43
3.3.2.3.1 Tractament de l'escorça d' <i>Hamamelis</i> a escala de mil·ligrams.....	43
3.3.2.3.2 Tractament de l'escorça d' <i>Hamamelis</i> a escala de grams.....	43
3.3.3 Estudi de les condicions de separació per bescanvi iònic.....	44
3.3.3.1 Separació a escala analítica.....	44
3.3.3.2 Separació a escala de mil·ligrams.....	44
3.3.3.3 Separació a escala de grams.....	45
3.3.4 Separació per hidrofobicitat mitjançant una reïna Amberlite XAD16.....	45
3.3.4.1 Separació a escala de mil·ligrams.....	45
3.3.4.2 Separació a escala de grams.....	45



3.3.5 Anàlisi cromatogràfica i separació per fase reversa.....	46
3.3.5.1 Anàlisi a escala analítica.....	46
3.3.5.2 Separació per fase reversa a escala de grams.....	46
3.3.6 Purificació i caracterització dels productes.....	46
3.3.7 Hidròlisi enzimàtica de l'èster carboxílic dels derivats amb NAmC.....	47
3.3.8 Deuteració en hidrogens làbils.....	47
3.3.9 Avaluació de l'activitat antioxidant/antiradicalària.....	48
3.4 EXPERIMENTS <i>IN VITRO</i> .....	49
3.4.1 Cultius cel·lulars.....	49
3.4.1.1 Línies cel·lulars.....	49
3.4.1.2 Tripsinització cel·lular.....	49
3.4.1.3 Congelació i descongelació de línies cel·lulars.....	50
3.4.1.4 Tècnica de comptatge cel·lular.....	50
3.4.2 Anàlisi de la viabilitat cel·lular.....	51
3.4.2.1 Optimització del número de cèl·lules.....	51
3.4.2.2 Determinació de la viabilitat cel·lular en presència dels productes derivats.....	52
3.4.3 Estudi del cicle cel·lular.....	53
3.4.3.1 Preparació de les mostres per " <i>Fluorescence-activated cell sorting</i> ".....	53
3.4.3.2 Anàlisi de les mostres pels estudis de cicle cel·lular.....	53
3.4.4 Estudi de la inducció d'apoptosi.....	54
3.4.4.1 Anàlisi de les mostres per citometria de flux.....	54
3.4.4.2 Anàlisi de les mostres per " <i>laser scanning cytometry</i> ".....	54
3.4.4.3 Anàlisi de la morfologia cel·lular per tinció nuclear de Hoechst.....	55
3.4.4.4 Anàlisi de la fragmentació de l'ADN per electroforesi.....	56
3.4.4.4.1 Extracció de l'ADN.....	56
3.4.4.4.2 Anàlisi de puresa de l'ADN obtingut.....	57
3.4.4.4.3 Quantificació de l'ADN.....	57
3.4.4.4.4 Electroforesi en gel d'agarosa.....	57

<b>4 RESULTATS I DISCUSSIÓ</b>	<b>59</b>
<b>4.1 COMPORTAMENT CROMATOGRÀFIC DE LES BARREGES DE DESPOLIMERITZACIÓ DE PROCIANIDINES EN PRESENCIA DE TIOLS. ESCALA ANALÍTICA</b>	<b>59</b>
4.1.1 Cromatografia d'alta eficàcia en fase reversa.....	59
4.1.2 Condicions d'elució per bescanvi catiònic dels derivats de cisteïna i cisteamina.....	60
4.1.3 Separació per bescanvi iònic entre els productes derivats i la resta del cru...69	
<b>4.2 OPTIMITZACIÓ DE LES CONDICIONS DE SEPARACIÓ PER BESCANVI IÒNIC A ESCALA DE MIL·LIGRAM</b>	<b>71</b>
<b>4.3 SÍNTESE, SEPARACIÓ I PURIFICACIÓ DELS S-CISTEINIL DERIVATS DE FLAVANOLS A ESCALA DE GRAMS</b>	<b>73</b>
4.3.1 Preparació del cru contenint S-cisteïnil derivats de flavanols.....	73
4.3.1.1 Preparació de derivats de cisteïna a partir del cru de <i>Vitis vinifera</i> .....	73
4.3.1.2 Preparació de derivats de cisteïna a partir del cru de <i>Pinus pinaster</i> .....	74
4.3.1.3 Preparació de derivats de cisteïna a partir del cru d' <i>Hamamelis</i> .....	75
4.3.2 Separació i purificació dels S-cisteïnil derivats de flavanols a partir de <i>Vitis vinifera</i> .....	76
4.3.2.1 Separació per bescanvi catiònic.....	76
4.3.2.2 Separació per fase reversa.....	77
4.3.2.3 Purificació per fase reversa i caracterització dels S-cisteïnil derivats de flavanols.....	78
4.3.2.3.1 Obtenció de 4 $\beta$ -(S-cisteïnil)epicatequina.....	78
4.3.2.3.2 Obtenció de 4 $\beta$ -(S-cisteïnil)catequina.....	80
4.3.2.3.3 Obtenció de 4 $\beta$ -(S-cisteïnil)epicatequin 3-O-galat.....	81
4.3.2.4 Purificació per fase reversa de l'epicatequin 3-O-galat.....	82
4.3.3 Separació i purificació dels S-cisteïnil derivats de flavanols a partir de <i>Pinus pinaster</i> .....	83
4.3.3.1 Separació per hidrofobicitat en XAD16.....	83
4.3.3.2 Purificació per fase reversa .....	85
4.3.3.2.1 Obtenció de 4 $\beta$ -(S-cisteïnil)epicatequina.....	85
4.3.4 Separació i purificació dels S-cisteïnil derivats de flavanols a partir d' <i>Hamamelis virginiana</i> .....	86
4.3.4.1 Separació per hidrofobicitat en XAD16.....	86
4.3.4.2 Separació per bescanvi catiònic.....	86
4.3.4.3 Purificació per fase reversa.....	87
4.3.4.3.1 Obtenció de 4 $\beta$ -(S-cisteïnil)epicatequin 3-O-galat.....	86

<b>4.4 SÍNTESI, SEPARACIÓ I PURIFICACIÓ DELS S-(O-ETILCISTEINIL) DERIVATS DE FLAVANOLS A ESCALA DE GRAMS</b>	<b>89</b>
4.4.1 Preparació del cru contenint S-(O-etilcisteinil) derivats de flavanols.....	89
4.4.2 Separació i purificació dels S-(O-etilcisteinil) derivats de flavanols a partir de <i>Vitis vinifera</i> .....	89
4.4.2.1 Separació per bescanvi catiònic.....	89
4.4.2.2 Separació per fase reversa.....	91
4.4.2.3 Purificació per fase reversa i caracterització dels <u>S-(O-etilcisteinil) derivats de flavanols</u> .....	92
4.4.2.3.1 Obtenció de 4 $\beta$ -[S-(O-etilcisteinil)]epicatequina.....	92
4.4.2.3.2 Obtenció de 4 $\beta$ -[S-(O-etilcisteinil)]catequina.....	93
4.4.2.3.3 Obtenció de 4 $\beta$ -[S-(O-etilcisteinil)]epicatequin 3-O-galat.....	94
<b>4.5 SÍNTESI, SEPARACIÓ I PURIFICACIÓ DELS S-(N-ACETIL-O-METILCISTEINIL) DERIVATS DE FLAVANOLS A ESCALA DE GRAMS</b>	<b>96</b>
4.5.1 Preparació del cru contenint S-(N-acetil-O-metilcisteinil) derivats de flavanols.....	96
4.5.2 Separació i purificació dels S-(N-acetil-O-metilcisteinil) derivats de flavanols a partir de <i>Vitis vinifera</i> .....	96
4.5.2.1 Separació per bescanvi aniònic.....	96
4.5.2.2 Separació per fase reversa.....	98
4.5.2.3 Purificació per fase reversa i caracterització dels <u>S-(N-acetil-O-metilcisteinil) derivats de flavanols</u> .....	99
4.5.2.3.1 Obtenció de 4 $\beta$ -[S-(N-acetil-O-metilcisteinil)]epicatequina.....	99
4.5.2.3.2 Obtenció de 4 $\beta$ -[S-(N-acetil-O-metilcisteinil)]catequina.....	100
4.5.2.3.3 Obtenció de 4 $\beta$ -[S-(N-acetil-O-metilcisteinil)]epicatequin 3-O-galat.....	102
<b>4.6 OBTENCIÓ DEL S-(N-ACETILCISTEINIL) DERIVAT PER HIDRÒLISI ENZIMÀTICA DE L'ÈSTER CARBOXÍLIC</b>	<b>103</b>
4.6.1 Reacció d'hidròlisi amb papaïna.....	103
4.6.2 Separació i purificació per fase reversa.....	104
<b>4.7 SEPARACIÓ PER BESCANVI ANIÒNIC DELS DERIVATS CYS, OET I NAmC A ESCALA DE MIL·LIGRAMS</b>	<b>105</b>
<b>4.8 AVALUACIÓ DE L'ACTIVITAT ANTIOXIDANT/ANTIRADICALÀRIA</b>	<b>109</b>
<b>4.9 ESTUDI DE DEUTERACIÓ EN HIDROGENS LÀBILS</b>	<b>112</b>

<b>4.10 ASSAIG <i>IN VITRO</i> DE VIABILITAT EN LÍNIES DE CULTIU CEL·LULAR</b>	<b>116</b>
<b>4.10.1 Viabilitat cel·lular en línies de melanoma</b> .....	<b>116</b>
4.10.1.1 <u>Determinació del número de cèl·lules òptim</u> .....	117
4.10.1.2 <u>Efecte sobre la viabilitat de la línia cel·lular A375</u> .....	119
4.10.1.3 <u>Efecte sobre la viabilitat de la línia cel·lular M21</u> .....	120
<b>4.10.2 Viabilitat cel·lular en la línia no tumoral de queratinòcits</b> .....	<b>121</b>
4.10.2.1 <u>Efecte sobre la viabilitat de la línia cel·lular HaCaT</u> .....	121
<b>4.11 EFECTE DELS FLAVANOLS CONJUGATS AMB CYS SOBRE EL CICLE CEL·LULAR EN LÍNIES CEL·LULARS DE PELL</b>	<b>124</b>
4.11.1 Efecte dels flavanols conjugats sobre el cicle cel·lular en la línia A375.....	124
4.11.2 Efecte dels flavanols conjugats sobre el cicle cel·lular en la línia M21.....	125
4.11.3 Efecte dels flavanols conjugats sobre el cicle cel·lular en la línia HaCaT...126	
<b>4.12 CAPACITAT D'INDUIR APOPTOSI DELS FLAVANOLS CONJUGATS AMB CYS SOBRE LES LÍNIES DE PELL</b>	<b>129</b>
4.12.1 Anàlisi per citometria: FACS i LSC.....	129
4.12.1.1 <u>Inducció de l'apoptosi en la línia A375</u> .....	129
4.12.1.2 <u>Inducció de l'apoptosi en la línia M21</u> .....	131
4.12.1.3 <u>Inducció de l'apoptosi en la línia HaCaT</u> .....	132
4.12.2 Anàlisi de la morfologia cel·lular per tinció nuclear amb Hoechst .....	134
4.12.3 Anàlisi de la fragmentació d'ADN per electroforesi.....	135
<b>4.13 VIABILITAT CEL·LULAR EN LA LÍNIA TUMORAL DE CÀNCER DE COLON</b>	<b>138</b>
4.13.1 Determinació del número de cèl·lules òptim.....	139
4.13.2 Efecte sobre la viabilitat de la línia cel·lular HT29.....	139
<b>4.14 EFECTE DELS FLAVANOLS CONJUGATS AMB OET I NAmC SOBRE EL CICLE CEL·LULAR EN LA LÍNIA HT29</b>	<b>142</b>
<b>4.15 CAPACITAT D'INDUIR APOPTOSI DELS FLAVANOLS CONJUGATS AMB OET I NAmC SOBRE LA LÍNIA HT29</b>	<b>144</b>

---

<b>5 CONCLUSIONS</b>	<b>149</b>
<b>6 ANNEXOS</b>	<b>151</b>
6.1 ANNEX I	151
6.2 ANNEX II : PUBLICACIONS ORIGINADES DURANT LA TESI	169
6.3 ANNEX III : ALTRES PUBLICACIONS	203
<b>7 BIBLIOGRAFIA</b>	<b>207</b>

---

## **ABREVIATURES**

**ABREVIATURES**

ADN, àcid desoxiribonucleic

AQH, fracció aquosa de l'extracte d'*Hamamelis virginiana*

AQP, fracció aquosa de l'extracte *Pinus pinaster*

AQV, fracció aquosa de l'extracte *Vitis vinifera*

ARN, àcid ribonucleic

Aufs, escala completa d'unitats d'absorbància (absorbance units at full scale)

Cat, (+)-catequina

CYA, cisteamina

CYS, cisteïna

DE, desviació estàndard

DMEM, Dulbecco's modified eagle medium

DMSO, dimetil sulfòxid

DO, densitat òptica

DPPH, radical lliure 1,1-difenil-2-picrilhidracil

DTT, 1,4-ditio-DL-treitol

Ec, (-)-epicatequina

EcG, epicatequin 3-O-galat

EDTA, àcid etilendiaminotetraacètic

EgcG, epigalocatequin 3-O-galat

Egc, epigalocatequina

EPR, ressonància paramagnètica electrònica (electron paramagnetic resonance)

EtOH, etanol

FACS, classificació de cèl·lules per fluorescència (fluorescence-activated cell sorting)

FBS, sèrum fetal boví (foetal bovine serum)

FITC, fluoresceïn isotiocianat

FPLC, sistema ràpid de cromatografia líquida per proteïnes (fast protein liquid chromatography)

HNTTM, radical lliure tris(2,4,6-tricloro-3,5-dinitrofenil)metil

HPLC, cromatografia líquida d'alta eficàcia (high pressure liquid chromatography)

HSA, albumina de serum humà (human serum albumine)

IC<sub>50</sub>, concentració capaç d'inhibir un 50 % del total

IP, iodur de propidi

LSC, citometria d'escombratge làser (laser scanning citometry)

MeOH. metanol

MTT, bromur de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazoli

NAC, *N*-acetilcisteïna

NAmC, *N*-acetil-*O*-metilcisteïna

OET, *O*-etilcisteïna

OW, fracció polifenòlica soluble en solvent orgànic i aquós

PBS, tampó fosfat salí (phosphate buffer saline)

Rpm, revolucions per minut

TBE, tampó tris-borat

TEAP, tampó fosfat de trietilamina

TFA, àcid trifluoroacètic (trifluoroacetic acid)

UV, llum ultraviolada

VC, volum de columna



**PRESENTACIÓ**

## PRESENTACIÓ

Sembla clar que el factor del reciclatge, o de l'aprofitament, serà predominant en la mentalitat de la societat de les properes generacions, degut a una conscienciació sobre el fet que els recursos naturals són limitats i la demanda és cada cop més gran. Per tant, es necessita racionalitzar l'explotació dels recursos. Un camí per aconseguir la sostenibilitat és la utilització de material de rebuig com a font renovable per la producció de nous productes químics i de combustible alternatiu. Així, l'obtenció de productes d'elevat valor afegit a partir de subproductes i de residus és un dels punts que defineixen el que es coneix com a química verda (Ritter, 2001).

En les àrees agrícoles d'aquest país, cultius com el del raïm, les olives i els cítrics generen grans quantitats de subproducte. Només a Europa, al voltant de 112 milions de tones de raïm van ser utilitzades en la indústria del vi en el 1998. D'aquesta quantitat, el 13% (14.5 milions de tones) van correspondre al residu generat després del primer premsat (brisa), constituït principalment per pells i llavors (Torres *et al.*, 2001b). De la mateixa manera trobem subproductes generats per la indústria de l'oli (amb els pinyols), dels sucus (amb les peles de fruita) i de les asserradores (amb l'escorça dels arbres).

En el cas del subproducte generat en l'obtenció de vi (brisa), aquest s'aprofita per a la producció d'alcohol i com adob en els camps de conreu. Tot i així, una gran part d'aquest residu del premsat no s'aprofita i resulta una molèstia degut al seu caràcter contaminant. Una primera observació que crida l'atenció és que tant la brisa (Prieur *et al.*, 1994; Souquet *et al.*, 1996) com l'escorça de pi (Packer *et al.*, 1999) i d'altres subproductes vegetals (pells i llavors de cítrics (Manthey *et al.*, 2001; Scordino *et al.*, 2005)) presenten activitat antioxidant deguda a la presència de polifenols. Això els converteix en una possible font natural de compostos funcionals.

Aquest treball s'ha dut a terme en el marc de dos projectes de recerca multidisciplinar de títols *Extracción y purificación de polifenoles bioactivos, potencialmente útiles como antioxidantes alimentarios o dermoprotectores, a partir de subproductos de la industria agroalimentaria y forestal* i *Obtención de procianidinas a partir de bagazo de uva y corteza de pino. Aplicaciones alimentarias y biomédicas* finançats pel Pla Nacional de I+D+I.