

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 380 825**

51 Int. Cl.:

**A61P 3/04** (2006.01)

**A61K 31/353** (2006.01)

**A61K 31/12** (2006.01)

**A23L 1/30** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03767578 .2**

96 Fecha de presentación: **20.11.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1575671**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.09.2005**

54 Título: **Composiciones de nutrientes farmacéuticos que comprenden galato de epigalocatequina y cetona de frambuesa**

30 Prioridad:  
**28.11.2002 EP 02026575**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**18.05.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**18.05.2012**

73 Titular/es:  
**DSM IP ASSETS B.V.  
HET OVERLOON 1  
6411 TE HEERLEN, NL**

72 Inventor/es:  
**RAEDERSTORFF, Daniel;  
WEBER, Peter y  
WOLFRAM, Swen**

74 Agente/Representante:  
**Lehmann Novo, Isabel**

ES 2 380 825 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Composiciones de nutrientes farmacéuticos que comprenden galato de epigallocatequina y cetona de frambuesa.

La presente invención se refiere a nuevas composiciones de nutrientes farmacéuticos que comprenden galato de epigallocatequina (en lo sucesivo: EGCG) y cetona de frambuesa (4-(4-hidroxifenil)-2-butanona, en lo sucesivo: RK).  
 5 Más específicamente, la invención se refiere a nuevas composiciones de nutrientes farmacéuticos para el tratamiento o la prevención de la obesidad, o afecciones asociadas con obesidad tales como diabetes mellitus no dependiente de insulina (NIDDM, tipo II) y síndrome X.

La composición tiene por objeto particularmente el tratamiento o la prevención de la obesidad, y la prevención de NIDDM en aquellos individuos que se encuentran en riesgo elevado, v.g., que tienen sobrepeso o tienen tolerancia  
 10 deteriorada a la glucosa.

WO 02/072086 A describe el uso de EGCG en la prevención y el tratamiento de, inter alia, la obesidad. WO 01/60319 A describe el uso de, inter alia, EGCG para reducir la ingestión de alimentos en un individuo. Patent Abstracts de Japón, vol 2000, n° 09 (JP 2000 169325 A) describe el uso de, inter alia, cetona de frambuesa como un promotor para reducir el tejido graso, en particular en cosméticos dermatológicos.

15 La composición de la invención comprende una combinación de EGCG y RK, que tienen mecanismos de acción diferentes sobre la absorción y la excreción de grasa, la producción hepática de glucosa, y el gasto de energía. Así, la combinación proporciona efectos aditivos y/o sinérgicos para el tratamiento o la prevención de la obesidad.

El término nutriente farmacéutico como se utiliza en esta memoria denota utilidad tanto en el campo de aplicación nutricional como en el farmacéutico. Por tanto, la nueva composición de nutrientes farmacéuticos puede utilizarse  
 20 como suplemento para alimentos y bebidas, y como formulación farmacéutica para aplicación enteral o parenteral, que pueden ser formulaciones sólidas tales como cápsulas o tabletas, o formulaciones líquidas tales como soluciones o suspensiones. Como será evidente por lo que antecede, el término composición de nutrientes farmacéuticos comprende también alimentos y bebidas que contienen EGCG y RK así como composiciones de suplementos que contienen ambos ingredientes activos.

25 Aun cuando el conocimiento de la asociación entre obesidad y problemas de salud es antiguo, la prevalencia de la obesidad ha crecido hasta proporciones epidémicas durante las últimas décadas. Actualmente, más del 50% de la población de los Estados Unidos tienen sobrepeso y aproximadamente 20% se considera que son obesas o tienen un sobrepeso extremado. La prevalencia de la obesidad está todavía aumentando rápidamente no sólo en los países industrializados. La obesidad se convertirá en uno de los problemas de salud pública más importantes en los  
 30 países no industrializados, particularmente en aquéllos que están sufriendo transición económica. La Organización Mundial de la Salud (WHO) ha estimado que en 2025, aproximadamente 300 millones de personas serán obesas.

La obesidad es el factor de riesgo más importante para la aparición de NIDDM. Además, el tener un sobrepeso moderado está estrechamente asociado también a la aparición de la NIDDM. La WHO ha calculado que la prevalencia de pacientes con NIDDM podría reducirse tanto como un 64% en los hombres de los Estados Unidos y 74% en las  
 35 mujeres de los Estados Unidos, si no existieran individuos con sobrepeso y obesos. La NIDDM está asociada con riesgo incrementado de enfermedades micro- y macrovasculares, con inclusión de nefropatía, y neuropatía.

La obesidad tiene el impacto más acusado sobre el perfil de riesgo cardiovascular entre todos los restantes factores de riesgo. Los individuos obesos presentan un riesgo elevado de presión sanguínea incrementada y perfil de lípidos desfavorable tal como niveles de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL) reducidos, y colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL) así como niveles de triglicéridos, incrementados. Se ha demostrado que la pérdida de peso reduce la presión sanguínea y mejora los niveles de lípidos, y un peso corporal elevado está asociado con mortalidad cardiovascular incrementada.  
 40

Adicionalmente, la obesidad es un factor de riesgo establecido para el cáncer endometrial. Existen pruebas de una posible relación entre obesidad y cáncer de mama, riñón, colon, próstata, y vesícula. Dicha obesidad causa no sólo  
 45 cáncer, sino que podría influir también en la detección del cáncer debido a una falta en el acatamiento de los programas de cribado y debido también a problemas de detección causados por el tejido adiposo. Adicionalmente, la obesidad es uno de los factores de riesgo más importantes para la osteoartritis en las articulaciones de rodilla y cadera y han sido sugeridas asociaciones con discos intervertebrales lumbares herniados, dolor en la parte inferior de la espalda, y dolor crónico en el cuello.

50 La apnea obstructiva del sueño y la dificultad de respiración son consecuencias respiratorias típicas de la obesidad.

Así pues, el tratamiento o la prevención de la obesidad podrían reducir la prevalencia de una diversidad de enfermedades crónicas y sucesos adversos agudos. Típicamente, el tratamiento de la obesidad implica intervenciones dietéticas y de estilo de vida. Sin embargo, el acatamiento de los pacientes a tales programas es bajo. Los pacientes no reconocen comúnmente la obesidad como una enfermedad y están por tanto menos dispuestos a responder a los  
 55 cambios en el estilo de vida. Adicionalmente, incluso métodos multidisciplinarios que incluyen medidas dietéticas,

aumento de la actividad física y modificación del comportamiento no proporcionan una tasa de éxito satisfactoria, particularmente si se consideran resultados a largo plazo.

5 Por esta razón, se ha propuesto el uso de agentes reductores del peso como una elección de tratamiento más eficaz para la obesidad. Sin embargo, el desarrollo de fármacos como las anfetaminas no sólo fue descorazonador en  
 10 términos de eficacia sino que resultó ser la causa de cierto número de efectos adversos parcialmente graves, lo que condujo finalmente a la retirada de la mayoría de estos compuestos. Los fármacos serotoninérgicos tales como fenfluramina y dexfenfluramina se asociaron también con efectos adversos graves y como consecuencia fueron retirados del mercado. Otros tratamientos como el fármaco noradrenérgico/serotoninérgico sibutramina tienen efectos secundarios que van desde boca seca, insomnio, anorexia, estreñimiento, y aumento en el ritmo cardiaco y en la presión sanguínea. Los inhibidores de las lipasas como orlistat causan urgencia fecal, manchas grasientas, heces grasas, flato, flujo, defecación incrementada e incontinencia fecal, que ocurren con una frecuencia de 10 a 30%.

15 Estos hechos ilustran que hay necesidad de un suplemento nutricional seguro y eficaz con efectos secundarios mínimos para el tratamiento y la prevención de la obesidad. Los individuos obesos están interesados en sustancias que ellos consideren que son ingredientes alimenticios naturales o derivados de plantas sin efectos secundarios importantes. Estos compuestos podrían utilizarse como tratamiento adyuvante junto con la intervención dietética y la actividad física incrementada. Adicionalmente, la obesidad es una enfermedad compleja y multifactorial y por tanto, una terapia de combinación es un método atractivo y factible para reducir el peso corporal de una diversidad de pacientes obesos.

20 El galato de epigallocatequina (EGCG) es la catequina principal encontrada en el té verde. Los efectos beneficiosos sobre la salud del té verde han sido atribuidos principalmente a las catequinas. En los ratones, las catequinas del té reducen el aumento de peso inducido por la dieta, la masa grasa visceral, así como los niveles de leptina, triglicéridos y glucosa plasmáticos. Se sabe también que las catequinas del té aumentan el consumo de energía en las ratas. En humanos, se ha demostrado que las catequinas del té reducen el peso corporal, la masa de grasa visceral, y los niveles plasmáticos de colesterol, insulina y glucosa. Se demostró que el extracto de té verde aumenta significativamente el consumo de energía y la oxidación de las grasas en hombres sanos. Recientemente, se demostró en el tejido adiposo pardo de las ratas que EGCG estimula la actividad metabólica y el consumo de oxígeno. Adicionalmente, varios estudios en animales han demostrado que las catequinas inhibían la absorción de colesterol y reducían los niveles plasmáticos de colesterol. A su vez, las epicatequinas aumentan la excreción fecal de colesterol y lípidos totales. Por tanto, EGCG tiene un efecto antiobesidad, por una estimulación de la termogénesis y/o una absorción alterada de las grasas.

35 La cetona de frambuesa (4-(4-hidroxifenil)-2-butanona, RK) es uno de los componentes de carácter impactante de la esencia de frambuesa. El compuesto ha sido identificado como la cetona libre y como glucósido en las bayas. El compuesto se acumula rápidamente durante la maduración de los frutos de frambuesa. RK o su glucósido no sólo se encuentran en el fruto de la frambuesa, sino también en las raíces del ruibarbo, los arándanos y las acículas del pino.

40 La composición de nutrientes farmacéuticos de la presente invención contiene EGCG en una cantidad suficiente para administrar a un individuo una dosis de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 60 mg por kg de peso corporal por día, con preferencia desde aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal por día. Así, si la composición de nutrientes farmacéuticos es un alimento o bebida, la cantidad de EGCG contenida en ella está comprendida convenientemente en el intervalo de aproximadamente 0,3 mg por servicio a aproximadamente 1250 mg por servicio. Si la composición de nutrientes farmacéuticos es una formulación farmacéutica, dicha formulación puede contener desde aproximadamente 1 mg a aproximadamente 4000 mg por unidad de dosificación sólida, v.g., por cápsula o tableta, o una dosis correspondiente en una formulación líquida, o desde aproximadamente 1 mg por dosis diaria a aproximadamente 4000 mg por dosis diaria. En un aspecto preferido de la invención, la composición de nutrientes farmacéuticos de la presente invención contiene adicionalmente cetona de frambuesa (RK). La cantidad de RK en la composición puede ser tal que proporcione una dosis diaria de aproximadamente 0,01 mg por kg de peso corporal a aproximadamente 60 mg por kg de peso corporal del individuo al que se administre. Un alimento o bebida contiene convenientemente aprox. 0,3 mg por servicio a aproximadamente 1250 mg por servicio de RK. Si la composición de nutrientes farmacéuticos es una formulación farmacéutica, dicha formulación puede contener RK en una cantidad de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 4000 mg por dosis unitaria, v.g. por cápsula o tableta, o desde aproximadamente 1 mg por dosis diaria a aproximadamente 4000 mg por dosis diaria de una formulación líquida.

Intervalos de dosificación (para una persona de 70 kg): Galato de epigallocatequina (EGCG): 1 a 4000 mg/día; cetona de frambuesa (RK): 1 a 4000 mg/día.

55 Los ejemplos siguientes ilustran adicionalmente la invención.

A. Pueden prepararse composiciones farmacéuticas por procedimientos de formulación convencionales utilizando los ingredientes especificados a continuación:

Ejemplo 1

Cápsula de gelatina blanda

Pueden prepararse cápsulas de gelatina blanda por procedimientos convencionales utilizando los ingredientes especificados a continuación:

Galato de epigallocatequina (EGCG)	100 mg
Cetona de frambuesa (RK)	100 mg

Otros ingredientes: glicerol, agua, gelatina, aceite vegetal.

5

Ejemplo 2

Cápsula de gelatina dura

Se preparan cápsulas de gelatina dura por procedimientos convencionales utilizando los ingredientes especificados a continuación:

Galato de epigallocatequina (EGCG)	100 mg
Cetona de frambuesa (RK)	100 mg

Otros ingredientes:

Cargas: lactosa o celulosa o derivados de celulosa, q.s.

Lubricante: estearato de magnesio en caso necesario (0,5%).

10

Ejemplo 3

Tabletas

Pueden prepararse tabletas por procedimientos convencionales utilizando los ingredientes especificados a continuación:

Galato de epigallocatequina (EGCG)	50 mg
Cetona de frambuesa (RK)	50 mg

Otros ingredientes: celulosa microcristalina, dióxido de silicio (SiO<sub>2</sub>), estearato de magnesio, croscarmelosa sódica.

15

B. Pueden prepararse artículos alimenticios por procedimientos convencionales utilizando los ingredientes especificados a continuación:

Ejemplo 4

Bebida no alcohólica con 30% de zumo

Servicio típico:	240 ml
------------------	--------

Ingredientes activos:

Galato de epigallocatequina (EGCG):	0,3-1250 mg/por servicio
Cetona de frambuesa (RK):	0,3-1250 mg/por servicio

20 I. Se prepara una composición de bebida no alcohólica a partir de los siguientes ingredientes:

Concentrados de zumo y esencias solubles en agua	[g]
--	-----

1.1 Concentrado de naranja

## ES 2 380 825 T3

60,3° Brix, acidez 5,15%	657,99
Concentrado de limón	
43,5° Brix, 32,7% de acidez	95,96
Esencia de naranja, soluble en agua	13,43
Esencia de albaricoque, soluble en agua	6,71
Agua	26,46
<u>1.2. Colorante</u>	
β-caroteno 10% CWS	0,89
Agua	67,65
<u>1.3 Ácido y Antioxidante</u>	
Ácido ascórbico	4,11
Ácido cítrico anhidro	0,69
Agua	43,18
<u>1.4 Estabilizadores</u>	
Pectina	0,20
Benzoato de sodio	2,74
Agua	65,60
<u>1.5 Esencias oleosolubles</u>	
Esencia de naranja, oleosoluble	0,34
Aceite esencial de naranja destilado	0,34

### 1.6 Ingredientes activos

Ingredientes activos EGCG y RK en las concentraciones arriba mencionadas.

5 Los concentrados de zumo de fruta y las esencias solubles en agua se mezclan sin incorporación de aire. Se disuelve el colorante en agua desionizada. El ácido ascórbico y el ácido cítrico se disuelven en agua. Se disuelve en agua el benzoato de sodio. Se añade la pectina con agitación y se disuelve mientras se hierve. Se enfría la solución. Se mezclan previamente el aceite esencial de naranja y las esencias oleosolubles. Los ingredientes activos que se mencionan en 1.6 se mezclan en seco y se agitan luego preferiblemente en la mixtura de concentrado de zumo de frutas (1.1).

10 Con objeto de preparar la composición de bebida no alcohólica, se mezclan entre sí todas las partes 3.1.1 a 3.1.6 antes de la homogeneización utilizando un Turrax y luego un homogeneizador de alta presión ( $p_1 = 200$  bar,  $p_2 = 50$  bar).

II. Se prepara un Jarabe de Embotellado a partir de los ingredientes siguientes:

	[g]
Composición de bebida no alcohólica	74,50
Agua	50,00
Jarabe azucarado de 60° Brix	150,00

Se mezclan entre sí los ingredientes del jarabe de embotellado. El jarabe de embotellado se diluye con agua hasta 1 litro de bebida lista para beber.

Variaciones:

En lugar de utilizar benzoato de sodio, la bebida puede pasteurizarse. Asimismo, la bebida puede carbonatarse.

Ejemplo 5

Pan de cinco cereales

Servicio típico: 50 g

Ingredientes activos:

Galato de epigallocatequina (EGCG): 0,3-1250 mg/por servicio

Cetona de frambuesa (RK): 0,3-1250 mg/por servicio

Otros componentes:

	[%]
Harina de cinco cereales	56,8
Agua	39,8
Levadura	2,3
Sal	1,1

- 5 La levadura se disuelve en una parte del agua. Todos los ingredientes se mezclan entre sí para formar una masa. Se añade sal al final del tiempo de amasado. Después de la fermentación, se reelabora la masa y se divide antes de formar una hogaza. Antes de la cochura, la superficie de la hogaza se frota con agua y se espolvorea con harina.

Procedimiento:

Amasado:

Sistema de amasado en espiral	4 min, primera velocidad
	5 min, segunda velocidad
Desarrollo de burbujas de gas en la pasta:	60 min
Temperatura de la pasta:	22-24°C
Tiempo de desarrollo de las burbujas de gas:	30 min

Cochura:

Horno:	Horno tipo holandés
Temperatura de cochura:	250-220°C
Tiempo de cochura:	50-60 min

10

Ejemplo 6

Galletas tipo Milán

Servicio típico: 30 g

Ingredientes activos:

Galato de epigallocatequina (EGCG): 0,3-1250 mg/por servicio

Cetona de frambuesa (RK): 0,3-1250 mg/por servicio

Otros componentes: [g]

## ES 2 380 825 T3

Harina de trigo, tipo 550	41,0
Azúcar	20,5
Grasa/manteca	20,5
Huevo entero (líquido)	18,0
Esencia de limón	q.s.
Agente de cochura	q.s.

Se añaden lentamente Todos los ingredientes bajo mezcladura para formar una masa dulce quebradiza.

Después de ello, la masa se mantiene fría (4°C) durante al menos 2 horas antes de alisar la masa hasta un espesor de aprox. 5 mm. Se corta en piezas y se frota éstas con yema de huevo en la superficie antes de la cochura.

### 5 Cochura:

Horno: horno de ventilador

Temperatura de cochura: 180°C

Tiempo de cochura: 15 min

#### Ejemplo 7

Tostada

Servicio típico: 100 g

Ingredientes activos:

Galato de epigallocatequina (EGCG): 0,3-1250 mg/por servicio

Cetona de frambuesa (RK): 0,3-1250 mg/por servicio

Otros componentes: [%]

Harina de trigo, tipo 550 55,4

Agua 33,2

Levadura 2,8

Sal 1,1

Grasa/manteca 5,5

Malta 0,6

Agente de cochura emulsionado 1,4

10

Se disuelve la levadura en una parte del agua. Se mezclan todos los ingredientes para formar una masa. Se añade sal al final del tiempo de amasado. Después de ello, se trabaja de nuevo la masa, se divide y se pone en una bandeja de cochura para fermentación. Después de la cochura, la hogaza se desmoldea directamente.

#### Procedimiento:

### 15 Amasado:

Sistema de amasado espiral 5-6 min, primera velocidad

3-4 min segunda velocidad

Desarrollo de las burbujas de gas: Ninguno

## ES 2 380 825 T3

Temperatura de la pasta:	22-24°C
Tiempo de desarrollo de las burbujas de gas:	40 min
<u>Cochura:</u>	
Horno:	Horno tipo holandés
Temperatura de coadura:	220°C
Tiempo de coadura:	35-40 min

### Ejemplo 8

Yogur - tipo solidificado; 3,5% grasa

Servicio típico:	225 g
Ingredientes activos:	
Galato de epigallocatequina (EGCG):	0,3-1250 mg/por servicio
Cetona de frambuesa (RK):	0,3-1250 mg/por servicio

Otros componentes:	[%]
Leche entera (3,8% grasa)	90,5
Leche desnatada en polvo	2,0
Azúcar	5,0
Cultivo	2,5

- 5 Se calienta la leche a 35°C antes de la adición de leche en polvo, estabilizador, azúcar e ingredientes activos. Esta mixtura se calienta a 65°C para disolver todos los ingredientes. A continuación se homogeneiza la mixtura en un homogeneizador de alta presión ( $p_1 = 150$  bar,  $p_2 = 50$  bar) a 65°C. Esta emulsión se pasteuriza luego a 80°C durante 20 minutos. Después de enfriar a 45°C, se añade el yogur natural y el cultivo y se mezcla. A continuación se llena esta mixtura en copas y se fermenta a 45°C durante 3-4 horas hasta que se alcanza un pH de 4,3, después de lo cual se guarda a 4°C.
- 10

### Ejemplo 9

Yogur - tipo agitado; 3,5% grasa

Servicio típico:	225 g
Ingredientes activos:	
Galato de epigallocatequina (EGCG):	0,3-1250 mg/por servicio
Cetona de frambuesa (RK):	0,3-1250 mg/por servicio
Otros componentes:	
Leche entera (3,8% grasa)	90,2
Leche desnatada en polvo	2,0
Estabilizador	0,3
Azúcar	5,0
Cultivo	2,5



- 5 Se calienta la leche a 35°C antes de la adición de leche en polvo, estabilizador, azúcar e ingredientes activos. Esta mixtura se calienta a 65°C para disolver todos los ingredientes antes de homogeneización en un homogeneizador de alta presión ( $p_1 = 150$  bar,  $p_2 = 50$  bar) a 65°C. Esta emulsión se pasteuriza luego a 80°C durante 20 minutos. Después de enfriar a 45°C, se añaden el yogur natural y el cultivo y se mezcla, seguido por fermentación a 45°C durante 3-4 horas hasta que se alcanza un pH de 4,3. Después de enfriar y agitar enérgicamente, el yogur se llena en copas y se guarda a 4°C.

Ejemplo 10

Helado; 8% grasa

Servicio típico:	85 g
Ingredientes activos:	
Galato de epigallocatequina (EGCG):	0,3-1250 mg/por servicio
Cetona de frambuesa (RK):	0,3-1250 mg/por servicio
Otros componentes:	[%]
Leche (3,7% grasa)	600,00
Nata (35% grasa)	166,00
Leche desnatada en polvo	49,10
Azúcar	109,00
Jarabe de glucosa 80%	70,00
Estabilizador de helados	5,00
Saborizante	q.s.
Colorante	q.s.

- 10 Se añaden el azúcar, la leche desnatada en polvo y el estabilizador a la leche y la nata, se mezcla y se calienta a 45°C. Se añade luego el colorante como solución stock y el jarabe de glucosa así como los ingredientes activos. La mezcla se calienta y se pasteuriza (20 min, 80°C). Se realiza a continuación un paso de homogeneización. Después de ello, se enfría la mezcla bajo agitación constante y se añade el saborizante a 5°C. La mezcla se madura a 5°C durante al menos 4 horas y se pasa luego a través de una máquina de helados (rebose aprox. 100%). El helado se  
 15 llena en copas y se guarda a -20 hasta -30°C.

Ejemplo 11

Chicles de vino

Ingredientes activos:	
Galato de epigallocatequina (EGCG):	0,3-1250 mg/para 30 g
Cetona de frambuesa (RK):	0,3-1250 mg/para 30 g
Otros componentes:	[g]
Gelatina 200 Bloom	80,0
Agua I	125,0
Azúcar Crist.	290,0
Agua II	120,0
Jarabe de glucosa DE38	390,0
Ácido cítrico	10,0

Saborizante	2,0
Colorante	q.s.
Producción, aprox.	1000,0

Se dispersa la gelatina en el agua I, se agita y se disuelve por calentamiento en un baño de vapor o utilizando un microondas. Se mezcla el azúcar con el agua II y se lleva a ebullición hasta que se obtiene una solución clara. Se retira de la fuente de calor. Se mezcla con jarabe de glucosa mientras la solución de azúcar disuelto está todavía caliente. Se añade lentamente la solución de gelatina. Se deja reposar hasta que puede retirarse la espuma de la superficie y se alcanzan 60-65°C. Se añaden el saborizante, el ácido cítrico y la solución de colorante así como los ingredientes activos bajo agitación. Se deposita en moldes estampados en bandejas de almidón y se deja reposar durante al menos 48 horas a la temperatura ambiente. Se retira el polvo de almidón y se pulimenta con aceite o cera. Se seca a la temperatura ambiente y se envasa en bolsas herméticas.

10 Ejemplo 12

La eficacia de la combinación de EGCG y RK así como de ambos compuestos solos sobre el peso corporal y la adiposidad se testó en un estudio de 4 semanas en ratones C57BL6/J alimentados con una dieta rica en grasa, con alto contenido de sacarosa (n = 8-11/grupo). Este modelo de obesidad inducida por la dieta y diabetes temprana tipo 2 es ampliamente utilizado para determinar la eficacia de las composiciones anti-obesidad.

15 Se obtuvieron ratones macho C57BL6/J de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, EE.UU.). Se utilizaron en el experimento ratones adultos de 4 semanas. Los ratones se alojaron individualmente en jaulas de plástico con lechos y se les permitió acceso libre a una dieta para ratones rica en grasa y con alto contenido en sacarosa (Kliba #2154, Klibamuehle, Kaiseraugst, Suiza) y agua del grifo. Los alojamientos de los animales se controlaron respecto a temperatura (24°C), humedad (55%), y luz (ciclo luz-oscuridad de 12 horas). Los animales se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos. Se administraron EGCG y RK como adición a la alimentación. Como sustancia portadora para EGCG y RK se utilizó celulosa de maíz (2% de la dieta) y como placebo cuando se utilizó sola. El grupo 1 recibió placebo, el grupo 2 recibió EGCG a una dosis de 1400 mg/kg de peso corporal (BW)/día, el grupo 3 recibió RK a una dosis de 1400 mg/kg de BW/día, y el grupo 4 recibió la combinación de EGCG y RK a dosis de 1400 y 1400 mg/kg BW/día, respectivamente. Se determinaron el peso corporal y la ingestión de alimento a lo largo del curso del estudio. Todos los datos se expresan como valores medios para los animales en cada grupo de dieta.

El peso corporal para grupo de tratamiento se muestra en la Tabla 1. No había diferencia alguna en la ingestión de alimento entre los grupos a lo largo del periodo de estudio. Los ratones sometidos a la dieta de control consumían la misma cantidad de energía que los ratones que recibieron el suplemento con EGCG, RK o el tratamiento combinado de EGCG más RK. Se calculó la disminución en el peso corporal en comparación con el grupo de control causada por cada tratamiento (los datos se presentan en la Tabla 2). El efecto esperado del tratamiento de la terapia combinada con EGCG y RK se calculó por la suma de los efectos producidos por monoterapia con EGCG o RK. El factor de sinergia (SF) se define como el cociente del efecto observado y el efecto esperado. Si SF > 1, el tratamiento combinado producía un efecto sinérgico.

30 Tabla 1

	Peso Corporal		
	Inicial (g)	Semana 2 (g)	Semana 4 (g)
Control	10,6	20,4	23,6
EGCG (1400 mg/kg BW/día)	11,4	17,7*	21,4*
RK (1400 mg/kg BW/día)	11,5	19,0*	22,1*
EGCG + RK (1400 + 1400 mg/kg BW/día)	11,2	14,9*	18,3*

35 \* Significativamente diferente del control (los valores P menores que 0,05 se consideraron significativos)

Tabla 2

	Disminución de peso corporal	
	Semana 2 (g)	Semana 4 (g)
EGCG (1400 mg/kg BW/día)	2,7	2,2
RK (1400 mg/kg BW/día)	1,6	1,5
Valor esperado (EGCG (1400 mg/kg BW/día) + RK (1400 mg/kg BW/día))	4,3	3,7
Tratamiento combinado	5,5*	5,3*
EGCG + RK (1400 + 1400 mg/kg BW/día)		
SF	1,28	1,43

\* Significativamente diferente del valor esperado (los valores P menores que 0,05 se consideraron significativos)

5 Cuando los ratones C57BL6/J se alimentaron con una dieta rica en grasa y con alto contenido de sacarosa, el peso corporal aumentaba notablemente durante el periodo de estudio de 4 semanas. Sin embargo, la adición a la dieta del suplemento que contenía EGCG o RK daba como resultado una disminución significativa en el peso corporal comparada con los ratones de control sin aporte de suplemento. El tratamiento combinado con EGCG y RK conducía a una disminución mayor en el peso corporal que la ejercida por cualquier monoterapia. Además, la disminución en el peso corporal debida al tratamiento combinado era significativamente mayor que la disminución que podría esperarse por suma de los efectos de EGCG y RK. Por tanto, el efecto del tratamiento combinado es sinérgico, como se indica por un SF > 1 para la semana 2 y la semana 4.

### Ejemplo 13

15 La eficacia de la combinación de EGCG y RK así como de ambos compuestos solos sobre el peso corporal y la adiposidad se testó en un estudio de 5 semanas en ratones C57BLKS/J db/db (n = 8-9/grupo). Este modelo de diabetes tipo 2 tardía con hiperglucemia y obesidad severas es ampliamente utilizado para determinar la eficacia de los compuestos anti-diabéticos y anti-obesidad.

20 Se obtuvieron ratones macho db/db de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, EE.UU.). En el experimento se utilizaron ratones adultos de 8 semanas. Los ratones se alojaron individualmente en jaulas de plástico con lechos y se les permitió acceso libre a comida estándar para roedores y agua del grifo. Los alojamientos de los animales se controlaron en cuanto a temperatura (24°C), humedad (55%), y luz (ciclo luz-oscuridad de 12 horas). Los animales se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos. Se administraron EGCG y RK como adición a la comida. Como sustancia portadora para EGCG y RK sirvió celulosa de maíz (2% de la dieta), y como placebo cuando se utilizó sola. El grupo 1 recibió placebo, el grupo 2 recibió EGCG a una dosis de 1400 mg/kg BW/día, el grupo 3 recibió RK a una dosis de 1400 mg/kg BW/día y el grupo 4 recibió la combinación de EGCG y RK a dosis de 1400 y 1400 mg/kg BW/día, respectivamente. Se determinaron el peso corporal y la ingestión de alimento a lo largo del curso del estudio. Todos los datos se expresan como valores medios para los animales en cada grupo de dieta.

30 El peso corporal para cada grupo de tratamiento se muestra en la Tabla 3. No había diferencia alguna en la ingestión de alimento entre los grupos a lo largo del periodo de estudio. Se calculó la disminución en el peso corporal en comparación con el grupo de control causada por cada tratamiento (los datos se presentan en la Tabla 4). El efecto esperado del tratamiento de la terapia combinada con EGCG y RK se calculó por la suma de los efectos ejercidos por monoterapia con EGCG o RK. El factor de sinergia (SF) se define como el cociente del efecto observado y el efecto esperado. Si SF > 1, el tratamiento cambiando producía un efecto sinérgico.

Tabla 3

	Peso corporal		
	Inicial (g)	Semana 2 (g)	Semana 4 (g)
Control	32,2	38,7	38,4
EGCG (1400 mg/kg BW/día)	32,2	35,7*	37,7

RK (1400 mg/kg BW/día)	32,5	38,4	38,0
EGCG + RK(1400 + 1400 mg/kg BW/día)	32,4	33,7*	34,3*

\* Significativamente diferente del control (los valores P menores que 0,05 se consideraron significativos).

Tabla 4

	Disminución de peso corporal	
	Semana 2 (g)	Semana 4 (g)
EGCG (1400 mg/kg BW/día)	3,0	0,8
RK (1400 mg/kg BW/día)	0,3	0,4
Valor esperado (EGCG (1400 mg/kg BW/día) + RK (1400 mg/kg BW/día))	3,3	1,2
Tratamiento combinado	5,0*	4,1*
EGCG + RK (1400 + 1400 mg/kg BW/día)		
SF	1,52	3,42

\* Significativamente diferente del valor esperado (los valores P menores que 0,05 se consideraron significativos).

- 5 El modelo db/db es ampliamente utilizado para determinar la eficacia de los compuestos anti-diabéticos y anti-obesidad. Como se muestra en la Tabla 1, estos ratones desarrollan rápidamente obesidad severa al principio de su vida y después de ello alcanzan una estabilización en el peso corporal. El suplemento dietético con EGCG daba como resultado un aumento significativo en el peso corporal en la semana 2 comparado con los ratones de control sin suplemento. El tratamiento con RK no reducía significativamente el peso corporal durante el periodo de estudio.
- 10 Después de 4 semanas de tratamiento, ni EGCG ni RK causaban una disminución en el peso corporal cuando se utilizaron como monoterapia, pero el tratamiento combinado con EGCG y RK disminuía significativamente el peso corporal en comparación con el grupo de control sin tratar. Así pues, el tratamiento combinado con EGCG y RK conduce a una disminución en el peso corporal mayor que la ejercida por cualquier monoterapia. Además, la disminución en el peso corporal debida al tratamiento combinado era significativamente mayor que la disminución que podría esperarse por suma de los efectos de EGCG y RK. El tratamiento combinado con EGCG y RK producía un
- 15 efecto sinérgico inesperado sobre la disminución de peso corporal como se indica por un SF > 1 para la semana 2 y la semana 4.

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición de nutrientes farmacéuticos para el tratamiento o la prevención de la obesidad o afecciones asociadas con obesidad, que comprende una cantidad eficaz de galato de epigallocatequina (EGCG) y 4-(4-hidroxifenil)-2-butanona (RK).
- 5 2. Composición de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende EGCG en una cantidad suficiente para administrar a un individuo aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 60 mg de EGCG por kg de peso corporal y RK en una cantidad suficiente para administrar a un individuo aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 60 mg de RK por kg de peso corporal.
3. Composición de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2 que es una composición farmacéutica.
- 10 4. Composición de acuerdo con la reivindicación 3 que es una composición farmacéutica sólida que comprende aproximadamente 10 mg a aproximadamente 500 mg de EGCG y aproximadamente 10 mg a aproximadamente 500 mg de RK en una unidad de dosificación.
- 15 5. Composición de acuerdo con la reivindicación 3 que es una composición farmacéutica sólida que comprende aproximadamente 10 mg a aproximadamente 50 mg de EGCG y aproximadamente 10 mg a aproximadamente 50 mg de RK en una unidad de dosificación.
6. Composición de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2 que es una comida o bebida o una composición de suplemento para una comida o bebida.