

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 398 371**

51 Int. Cl.:

A61K 36/54 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2008 E 08870964 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.10.2012 EP 2240193**

54 Título: **Composición que comprende los extractos de lindera obtusiloba para la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares**

30 Prioridad:

18.01.2008 KR 20080005672

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

15.03.2013

73 Titular/es:

**YANG JI CHEMICAL COMPANY LTD. (50.0%)
638-6 SUNGGAK-DONG ANSAN
GYEONGGI-DO 425-833, KR y
HAN WHA PHARMA CO., LTD. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**OAK, MIN-HO;
LEE, JUNG-OK;
CHOI, WOON-SUN;
SOHN, JUNG-DUK;
KIM, JONG-HOON;
LIM, JEE WOONG y
RHEE, CHUNG KEUN**

74 Agente/Representante:

GARCÍA-CABRERIZO Y DEL SANTO, Pedro

ES 2 398 371 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

Composición que comprende los extractos de *Lindera obtusiloba* para la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a una composición para la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, que comprende un extracto de *Lindera obtusiloba*, y productos alimenticios funcionales saludables. Más particularmente, la invención se caracteriza por contener, como ingrediente activo, un extracto de *Lindera obtusiloba* que tiene un efecto de tratar y prevenir enfermedades cardiovasculares inhibiendo directamente NAD(P)H oxidasas para suprimir el estrés oxidativo, y al mismo tiempo, activando la óxido nítrico sintasa de tipo
10 endotelial para regular, de este modo, la contracción y relajación de células de músculo liso vascular.

Técnica antecedente

De acuerdo con las estadísticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se describe que la tasa de mortalidad mundial para enfermedades cardiovasculares en 1999 era del 30% o superior, y las enfermedades cardiovasculares serán las primeras en el ranking de enfermedades causantes de muerte en países desarrollados
15 en el año 2010, mientras que la tasa de aumento de las enfermedades es alta particularmente en países asiáticos incluyendo Japón, Corea del Sur y similares. Se especula que esto es atribuible a un aumento de los factores de riesgo para arteriopatías coronarias, como resultado del envejecimiento social que se avecina, cambios en los hábitos alimentarios y similares.

La disfunción endotelial es el mecanismo principal que induce una amplia gama de enfermedades cardiovasculares, incluyendo hipertensión, arterioesclerosis, hiperlipidemia, diabetes mellitus, obesidad y similares (Brunner H. et al., J. Hypertens., 2005, 23: 233-246), dado el descubrimiento de relajación anómala de vasos sanguíneos en pacientes hipertensos en 1990 (Panza JA et al., New England Journal of Medicine, 323: 22-27, 1990). Las células endoteliales son células epiteliales que forman un recubrimiento a lo largo de las cavidades de los vasos sanguíneos y los vasos linfáticos, y su principal función es producir vasodilatadores y mediadores de vasodilatador para regular el tono, así
20 como la estructura vascular.

Una enfermedad cardiovascular es una enfermedad que comienza en forma de disfunción endotelial inicial y que finalmente da como resultado una anomalía en el corazón y en el sistema vascular. El nombre es una expresión genérica para un grupo de anomalías en el corazón y los vasos sanguíneos, incluyendo, aunque sin limitarse a, arterioesclerosis, hipertensión, hiperlipidemia, arteriopatías coronarias (ataque cardíaco), enfermedades cerebrovasculares (accidente cerebrovascular, demencia), enfermedades vasculares periféricas, arritmia, insuficiencia cardíaca, cardiopatías congestivas, miocardiopatías, y similares.
30

En cuanto a los factores principales para la manifestación de enfermedades cardiovasculares, se conocen diversos factores tales como factores genéticos, estilo de vida y complicaciones de diabetes mellitus. Desde el punto de vista de la medicina moderna, aumentos en las especies de oxígeno reactivo (ROS) y el estrés oxidativo vascular como resultado de un aumento de la actividad de NADPH oxidasas, y una disminución del óxido nítrico debido a una disminución de la actividad de óxido nítrico sintasa de tipo endotelial (eNOS), se conocen como factores principales. El óxido nítrico que es producido por óxido nítrico sintasa de tipo endotelial, es un potente factor vasorrelajante, y también desempeña un papel crítico en la regulación homeostática global del sistema cardiovascular inhibiendo la agregación de plaquetas, la proliferación de células del músculo vascular, la adhesión vascular de monocitos, y la expresión de proteínas asociadas con la arterioesclerosis (Forstermann et al., Circulation, 113: 1708-1714, 2006). Sin embargo, un aumento, causado por una serie de factores, de la actividad de NADPH oxidasas que se encargan de la generación de especies de oxígeno activo en los vasos sanguíneos, conduce a una disminución en la producción de óxido nítrico [Gryglewski et al., Nature, 320: 454-456, 1986; Paravicini et al., Circulation Research, 91: 54-61, 2002; Dusting et al., Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 25: S34-41, 1998], y las especies de oxígeno activo producidas de este modo proporcionan la regulación de la expresión de moléculas adhesivas [Lo et al., Am. J. Physiol., 264: L406-412, 1993], la estimulación de la proliferación y migración de células de músculo liso vascular (VSMC) [Griendling y Ushio-Fukai, J. Lab. Clin. Med., 132: 9-15, 1998], la regulación de lipoproteínas que tienen poder oxidante, y similares, para causar de este modo enfermedades cardiovasculares [Lynch y Frei, J. Lipid Res., 34: 1745-1753, 1993]. Además, la generación aumentada de especies de oxígeno activo en los vasos sanguíneos debida a NAD(P)H oxidasas, se asocia con la función alterada de óxido nítrico endotelial (NO) en pacientes que tienen factores de riesgo clínicos para aterosclerosis y arteriopatías coronarias. Fundamentalmente, la generación de especies de oxígeno activo provoca la contracción de vasos sanguíneos [Guzik et al., Cir. Res., 86: E85-90, 2000]. En general, la reducción de especies de oxígeno activo, la supresión de la generación aguas abajo de especies de oxígeno activo, y la inducción de la actividad de óxido nítrico sintasa de tipo endotelial, todas mediante inhibición directa de NAD(P)H oxidasas, son reconocidas como dianas muy importantes en la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares [Forstermann et al., Circulation, 113: 1708-1714, 2006; Doggrell SA, Drug News Perspect., 17(9) 615-632, 2004; Inoguchi T., Curr. Drug Targets, 6(4): 495-501, 2005; Muzaffar S. et al., Trends Cardiovasc Med., 15(8): 278-282].
50
55

Hasta la fecha, se conocen como las sustancias que inhiben NAD(P)H oxidasas difenilenyodonio (DPI) y 4-hidroxi-3-metoxiacetofenona (Apocinina) [Holland J, et al., US 5902831]. Sin embargo, estas sustancias no se han comercializado ni se han usado clínicamente debido a los problemas de toxicidad y especificidad. Además, como reguladores de óxido nítrico, están disponibles nitroprusida y nitroglicerina. Sin embargo, estas sustancias también se usan solamente en los casos de emergencia tales como ataque cardíaco, debido a los problemas de resistencia y toxicidad en usos clínicos.

Mientras tanto, *Lindera obtusiloba* es un arbusto caducifolio de la familia Lauraceae. Crece hasta una altura de aproximadamente 2 a 3 m, y la época de floración es de marzo a abril, mientras que la época de producción de frutos es en septiembre. Los frutos se prensan para obtener aceite, que se ha usado como aceite capilar para mujeres. La planta se denomina "Árbol de Jengibre" dado que la planta huele como el jengibre cuando se arrancan las hojas o ramitas, y también se conoce como Camelia de los Tontos o pimienta salvaje japonesa. Se sabe que la planta es eficaz en la activación de la sangre, fasciculación lenta del músculo, anti-absceso y similares, y para tratar moratones, e hinchazón y dolor debido a extravasación sanguínea, y la planta habitualmente se aplasta y se adhiere al sitio de la herida. La planta se usa principalmente en lugar de la medicina. En prácticas privadas, hojas y brotes de la planta se preparan en infusión y se toman como un té, como antipirético o una medicina para la tos [Illustrated Book of Korean Plants, de Chang-Bok Lee, 1980; Illustrated Book of Korean Folk Medicines, de Jong-Hee Park, 2005, Encyclopedia of Local Medicines].

En referencia a investigaciones sobre los componentes de *Lindera Obtusiloba*, Park, Jong-Chul, et al. (J. Korean Soc. Food Nutr. 1996. 25(1), p. 76-79) quercitrina aislada de las hojas, e hiperósido de las ramitas, aunque Kwon, Hak-Cheol, et al. (Archives of Pharmacal Research, 22, p. 417-422, 1999) aislaron actifolina, pluviatiolol, 5,6-dihidromatairresinol, (+)-siringarresinol, 9-O-trans-feruloil-5,5-dimetoxilaricresinol y similares. Se ha descrito que las eficacias de los respectivos componentes aislados incluyen acción carcinocida, acción anti-inflamatoria, y similares (Planta Medica, 69, 610-616, 2003; Archives of Pharmacal Research, 22, p. 417-422, 1999). Los documentos CN-2005/1098935 y CN 1 742 801 describen una composición farmacéutica para aplicación tópica que comprende un extracto de etanol de, *inter alia*, *Cortex Lindera Oblusiloba*. Esta composición puede usarse para el tratamiento de lesión del tejido blando, estasis sanguínea, reumatismo, reumatalgia, hinchazón y dolor, lesión traumática, artralgia y mialgia. El documento US 2007/160699 se refiere a una composición que comprende extracto de *Hovenia dulcis* Thunb, extracto de *Lindera obtusiloba* o extracto de mezcla herbal de las mismas como agente activo. Se describe que los extractos tienen un excelente efecto anti-fibrosis y protector del riñón. Ruehl et al: "[338] Antifibrotic effects of lindera obtusiloba extracts: Downregulation of TGF- β Induced collagen Type I expression and EXPRESSION AND Neutralization of peroxide induced ros production in hepatic stellate cells", Journal of Hepatology, Munksgaard international publishers, Copenhagen, DK, Vol. 46, 1 de abril de 2007 (2007-04-01), Páginas S132-S133, XP022087678, ISSN: 0168-8278, DOI: DOI: 10.1016/S0168-8278(07)61936-9 describe los efectos antifibróticos de extractos acuosos de la pimienta salvaje japonesa *Lindera obtusiloba* sobre las células estrelladas hepáticas. Kwon H C et al: "Two new lignans from Lindera obtusiloba blume", MEDLINE, 1 de agosto de 1999 (1999-08-01), XP002567942 describe dos nuevos furanolignanos junto con tres lignanos conocidos aislados del tallo de *Lindera obtusiloba*. Cuatro de estos compuestos muestran actividad de citotoxicidad contra un pequeño panel de líneas celulares tumorales humanas.

Sin embargo, en la bibliografía mencionada anteriormente no se da descripción o enseñanza alguna, sobre que un extracto de *Lindera obtusiloba* tiene efectos de supresión de estrés oxidativo vascular, relajación de vasos sanguíneos y regulación de la tensión arterial, mediante la inhibición de NADPH oxidasas.

Descripción de la invención

Problema técnico

Por lo tanto, los inventores de la presente invención realizaron una investigación sobre la inhibición de la actividad de NAD(P)H oxidasa y el efecto vasorrelajante con una serie de extractos de plantas, y finalmente confirmaron los efectos de potente inhibición de la actividad de NAD(P)H oxidasas, la reducción del estrés oxidativo vascular, potenciación directa de la actividad de óxido nítrico sintasa de tipo endotelial, relajación de vasos sanguíneos y regulación de la tensión arterial, completando de este modo la presente invención.

La presente invención se diseñó para resolver los problemas tales como se han descrito anteriormente, y un objeto de la invención es proporcionar una composición para la prevención y el tratamiento de una enfermedad cardiovascular, que comprende un extracto de *Lindera obtusiloba* como ingrediente activo.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un producto alimenticio funcional saludable para la prevención de una enfermedad cardiovascular, que comprende un extracto de *Lindera obtusiloba* como ingrediente activo.

Solución técnica

Para conseguir los objetos tal como se han descrito anteriormente, la composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 se caracteriza por contener un extracto de *Lindera obtusiloba* como ingrediente activo.

El extracto de *Lindera obtusiloba* es, preferentemente, un extracto obtenido de las ramitas, las hojas o las ramitas y las hojas.

El extracto de *Lindera obtusiloba* se extrae, preferentemente, con un disolvente seleccionado entre el grupo de agua, un alcohol inferior de C1-C5, y una mezcla de los mismos.

5 El extracto de *Lindera obtusiloba* se extrae, preferentemente, con una solución acuosa a del 30 al 95% en peso de etanol.

En preferible que el extracto de *Lindera obtusiloba* se extraiga con un disolvente seleccionado entre el grupo de agua, un alcohol inferior de C1-C5 y una mezcla de los mismos, y el extracto se extraiga de nuevo con butanol.

El extracto de *Lindera obtusiloba* se caracteriza por tener una actividad inhibidora de NAD(P)H oxidasa.

10 El extracto de *Lindera obtusiloba* se caracteriza por tener un efecto vasorrelajante.

El extracto de *Lindera obtusiloba* se caracteriza por un efecto de potenciar la actividad de óxido nítrico sintasa de tipo endotelial.

El extracto de *Lindera obtusiloba* se caracteriza por tener efectos de rebajar la tensión arterial y reducir el estrés oxidativo vascular.

15 La enfermedad cardiovascular se selecciona entre el grupo constituido por cardiopatías congestivas, arteriopatías coronarias (ataque cardíaco), cardiopatías isquémicas (isquemia miocárdica), hiperlipidemia, arterioesclerosis, hipertensión, arritmia, insuficiencia cardíaca, reestenosis vascular, enfermedades cerebrovasculares (accidente cerebrovascular, demencia), enfermedades vasculares periféricas.

20 Mientras tanto, el producto alimenticio funcional saludable para su uso de acuerdo con la reivindicación 9 se caracteriza por contener un extracto de *Lindera obtusiloba* como ingrediente activo.

Efectos ventajosos

25 Tal como se ha descrito en lo anterior, el extracto de *Lindera obtusiloba* inhibe fuertemente la actividad de NAD(P)H oxidasas y muestra un efecto vasorrelajante al mismo tiempo y, por lo tanto, puede utilizarse de forma útil como una composición farmacéutica o producto alimenticio funcional saludable para la prevención y el tratamiento de una enfermedad cardiovascular.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama que muestra la medición de la actividad vasorrelajante de un extracto de *Lindera obtusiloba* sobre arterias coronarias de cerdo.

30 La figura 2 es un diagrama que muestra la medición de la actividad vasorrelajante de un extracto de *Lindera obtusiloba* sobre

La figura 2 es un diagrama que muestra la medición de la actividad vasorrelajante de un extracto de *Lindera obtusiloba* sobre la aorta de una rata blanca.

La figura 3 es un diagrama que muestra la medición del grado de actividad de óxido nítrico sintasa de tipo endotelial (eNOS) y proteína Akt bajo la acción de un extracto de *Lindera obtusiloba*.

35 La figura 4 es un diagrama que muestra la medición del grado de influencia de un extracto de *Lindera obtusiloba* sobre la frecuencia cardíaca.

La figura 5 es un diagrama que muestra la medición del grado de disminución del estrés oxidativo vascular bajo la acción de un extracto de *Lindera obtusiloba*.

40 La figura 6 es un diagrama que muestra la medición del grado de citotoxicidad de un extracto de *Lindera obtusiloba*.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

45 En lo sucesivo en este documento, se describirán en detalle realizaciones preferidas de la presente invención. En la siguiente descripción, se ilustran numerosos términos característicos tales como elementos constituyentes específicos, pero estos se proporcionan solamente con el propósito de proporcionar una ayuda para una comprensión más exhaustiva de la presente invención, y será obvio para los expertos en este campo técnico que la presente invención puede llevarse a cabo incluso sin estos términos característicos. Además, en la descripción de la presente invención, si se considera que la explicación específica de cualquier función o constitución conocida relacionada podría hacer de forma innecesaria poco claro lo esencial de la invención, la explicación detallada se omitirá.

El extracto de *Lindera obtusiloba* puede obtenerse de la siguiente manera.

La parte aérea, más específicamente, las hojas y ramitas, de *Lindera obtusiloba* puede usarse sin limitación, en forma de plantas recogidas de la naturaleza, plantas cultivadas, plantas disponibles en el mercado, o similares. El disolvente para extracción se selecciona entre el grupo constituido por agua, un alcohol inferior de C1-C5, y una mezcla de los mismos. Los inventores de la presente invención lavaron las ramitas y las hojas de *Lindera obtusiloba* para retirar impurezas y sales, y las secaron. Posteriormente, la extracción se realizó con un disolvente polar tal como agua o un alcohol inferior de C1-C5 tal como metanol, etanol o butanol, o un disolvente mixto de estos a una relación de mezclado de aproximadamente 1:0,1 a 1:10, preferentemente con una solución acuosa a del 30 al 95% en peso de etanol, en un volumen que alcanza aproximadamente de 5 a 50 veces, y preferentemente de 10 a 30 veces el peso de la muestra de *Lindera obtusiloba*, a de 50 a 95°C durante de 1 hora a 7 días. El proceso de extracción descrito anteriormente se repite dos o cinco veces, y preferentemente tres veces, y a continuación el extracto resultante se somete a concentración a presión reducida y/o liofilización, para obtener un extracto en bruto de *Lindera obtusiloba*.

Entre los extractos, un extracto soluble en disolvente no polar puede obtenerse suspendiendo el extracto en bruto mencionado anteriormente en agua destilada, añadiendo posteriormente un disolvente no polar tal como hexano, acetato de etilo o cloroformo en un volumen de aproximadamente 0,1 a 100 veces, y preferentemente de aproximadamente 1 a 5 veces, el volumen de la suspensión, y realizando la extracción y el aislamiento de una a 10 veces, y preferentemente de dos a cinco veces. Además, también pueden llevarse a cabo adicionalmente procesos de fraccionamiento convencionales (Harborne, J.B., *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*, 3ª Ed., págs. 6-7, 1998).

Más preferentemente, el extracto en bruto de *Lindera obtusiloba* obtenido mediante los procesos descritos anteriormente, preferentemente un extracto de *Lindera obtusiloba* en una solución acuosa de etanol, se somete a fraccionamiento en disolvente secuencial con disolventes orgánicos tales como n-butanol, hexano y acetato de etilo, en orden desde disolvente menos polar a disolvente más polar, preferentemente en orden de hexano, acetato de etilo y n-butanol, y a concentración a presión reducida y, de este modo, pueden obtenerse fracciones en hexano, acetato de etilo y n-butanol de *Lindera obtusiloba*.

La presente invención proporciona una composición de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende el extracto en bruto o extracto soluble en disolvente no polar de *Lindera obtusiloba* obtenido mediante el método de producción descrito anteriormente, como ingrediente activo para su uso para prevenir y tratar cardiopatías congestivas, arteriopatías coronarias (ataque cardíaco), cardiopatías isquémicas (isquemia miocárdica), hiperlipidemia, arterioesclerosis, hipertensión, arritmia, insuficiencia cardíaca, reestenosis vascular, enfermedades cerebrovasculares (accidente cerebrovascular, demencia) o enfermedades vasculares periféricas. La composición para su uso de acuerdo con la presente invención contiene del 0,1 al 99% en peso del extracto mencionado anteriormente en base al peso total de la composición.

La composición que contiene el extracto de *Lindera obtusiloba* puede contener, además, vehículos, excipientes y diluyentes apropiados que se usan convencionalmente en la producción de composiciones.

La forma de dosificación farmacéutica del extracto puede usarse en forma de sales farmacéuticamente aceptables del mismo, y también puede usarse en solitario, o en forma de conjugado así como un conjunto apropiado con otros compuestos farmacéuticamente activos.

La composición farmacéutica que contiene el extracto puede usarse después de haberla formulado en formulaciones orales tales como polvos, gránulos, comprimidos, cápsulas, suspensiones, emulsiones, jarabes y aerosoles, y en formulaciones tópicas, supositorios y soluciones inyectables estériles, respectivamente de acuerdo con métodos convencionales.

En cuanto a los vehículos, excipientes y diluyentes que pueden estar contenidos en la composición que contiene el extracto, pueden mencionarse lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, xilitol, eritritol, maltitol, almidón, goma arábica, alginato, gelatina, fosfato cálcico, silicato cálcico, celulosa, metilcelulosa, celulosa no cristalina, polivinilpirrolidona, agua, metilhidroxibenzoato, propilhidroxibenzoato, talco, estearato de magnesio, y aceite mineral.

En el caso de la formulación en preparaciones, éstas se preparan usando diluyentes o excipientes usados convencionalmente, tales como cargas, agentes espesantes, agentes aglutinantes, agentes humectantes, disgregantes y tensioactivos.

Los ejemplos de preparaciones sólidas para administración oral incluyen comprimidos, píldoras, polvos, gránulos, cápsulas y similares, y estas preparaciones sólidas se preparan mezclando al menos un excipiente, por ejemplo, almidón, carbonato cálcico, sacarosa o lactosa, gelatina y similares con el extracto mencionado anteriormente. Adicionalmente, además de simples excipientes, también se usan lubricantes tales como estearato de magnesio y talco.

Los ejemplos de preparaciones líquidas para administración oral incluyen suspensiones, líquidos para uso interno, emulsiones, jarabes y similares. Estas preparaciones líquidas pueden incluir diversos excipientes, por ejemplo, agentes humectantes, edulcorantes, fragancias, conservantes y similares, además de agua y parafinas líquidas, que se usan frecuentemente como simples diluyentes.

5 Los ejemplos de preparaciones para administración parenteral incluyen soluciones acuosas esterilizadas, soluciones no acuosas, suspensiones, emulsiones, preparaciones liofilizadas, y supositorios. Como disolventes no acuosos o agentes de suspensión, pueden usarse propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, ésteres inyectables tales como oleato de etilo, y similares. Como la base de los supositorios, pueden usarse Witepsol, Macrogol, Tween, manteca de cacao, grasa de laurina, glicerogelatina y similares.

10 Una cantidad preferible de administración del extracto puede variar con el estado y peso del paciente, la gravedad de la enfermedad, la forma del fármaco, la vía y el periodo de administración, pero puede ser seleccionada apropiadamente por un experto en la materia. Sin embargo, para efectos preferibles, es deseable administrar el extracto en una cantidad de 0,0001 a 100 mg/kg, y preferentemente de 0,001 a 100 mg/kg, al día. La administración puede llevarse a cabo una vez al día, o puede llevarse a cabo varias veces al día. La cantidad de administración no pretende limitar el alcance de la invención de ninguna manera.

15 La presente invención describe un producto alimenticio funcional saludable que contiene el extracto mencionado anteriormente que muestra un efecto de prevenir una enfermedad cardiovascular, y aditivos alimentarios aceptables desde el punto de vista dietético.

20 En cuanto a los productos alimenticios funcionales saludables que puede añadirse con un extracto de *Lindera obtusiloba*, por ejemplo, pueden mencionarse diversos productos alimenticios generales, bebidas, gomas de mascar, té, complejos vitamínicos, y similares.

25 El extracto de *Lindera obtusiloba* también puede añadirse a alimentos o bebidas con el fin de obtener un efecto de prevenir una enfermedad cardiovascular. En este caso, la cantidad del extracto en un producto alimenticio o bebida puede ser del 0,01 al 15% en peso en base al peso total del alimento. La cantidad del extracto en una composición de bebida saludable puede ser de 0,02 a 5 g, y preferentemente de 0,3 a 1 g, con respecto a 100 g del peso total de la bebida.

30 La composición de bebida funcional saludable no está particularmente limitada para contener otros componentes, además de contener el extracto como un componente esencial a las proporciones indicadas, y puede contener componentes adicionales tales como diversos agentes aromatizantes o carbohidratos naturales, al igual que las bebidas convencionales. Los ejemplos de los carbohidratos naturales mencionados anteriormente incluyen sacáridos convencionales, tales como monosacáridos, por ejemplo, glucosa, fructosa y similares; disacáridos, por ejemplo, maltosa, sacarosa y similares; y polisacáridos, por ejemplo, dextrina, ciclodextrina y similares, y alcoholes de azúcar tales como xilitol, sorbitol y eritritol. Como agentes aromatizantes además de los agentes mencionados anteriormente, pueden usarse ventajosamente taumatina, extractos de Stevia, por ejemplo, leaudiósido A, glicirrizina y similares; y agentes aromatizantes sintéticos, por ejemplo, sacarina, aspartama y similares. La proporción de los carbohidratos naturales es, generalmente, de aproximadamente 1 a 20 g, y preferentemente de aproximadamente 5 a 12 g, por 100 g de la composición.

35 Además de estos, el extracto puede contener diversos nutrientes, vitaminas, minerales (electrolitos), agentes aromatizantes sintéticos y naturales, colorantes y agentes espesantes (queso, chocolate y similares), ácido péctico y sales del mismo, ácido algínico y sales del mismo, ácidos orgánicos, espesantes coloidales protectores, agentes de ajuste del pH, estabilizantes, antisépticos, glicerina, alcoholes, agentes carbonatantes usados en bebidas carbonatadas, y similares. Además de estos, los extractos pueden contener zumos de frutas naturales, y pulpas de frutas para la producción de bebidas de zumo de frutas y bebidas vegetales. Estos componentes pueden usarse individualmente o en combinaciones. En este caso, la proporción de los aditivos no es crítica, pero se selecciona generalmente del intervalo de 0,01 a aproximadamente 20 partes en peso por 100 partes en peso del extracto.

40 En lo sucesivo en este documento, la presente invención se describirá más específicamente, haciendo referencia a los siguientes Ejemplos y Ejemplos de ensayo.

Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de extracto en bruto de *Lindera obtusiloba*

50 Las ramitas y las hojas de *Lindera obtusiloba* recogidas en la provincia de Kangwon-do se lavaron con agua para retirar impurezas y sales, y a continuación se secaron y se machacaron. En un recipiente de extracción, se añadieron 25 g de cada una de las ramitas machacadas o las hojas machacadas de *Lindera obtusiloba*, y 500 ml en total de una solución acuosa al 70% en peso de etanol, y la extracción térmica se llevó a cabo repetidamente tres veces a 70°C, requiriendo cada vez 3 horas, en refrigeración a reflujo. El extracto resultante se filtró a través de un papel de filtro, y el filtrado se concentró a presión reducida en un baño de agua a 40°C, y se liofilizó. Como resultado,

55

se obtuvieron 6,4 g de un extracto en bruto de las ramitas de *Lindera obtusiloba* y 7.0 g de un extracto en bruto de las hojas de *Lindera obtusiloba*.

Ejemplo 2: Preparación de fracciones de extractos en bruto de *Lindera obtusiloba*

5 5 g de cada uno de los extractos en bruto de las hojas y las ramitas de *Lindera obtusiloba* obtenidos en el Ejemplo 1 se suspendieron respectivamente en 50 ml de agua purificada. El extracto resultante se sometió a fraccionamiento en disolvente secuencial tres veces respectivamente, con 50 ml de cada uno de hexano, acetato de etilo y n-butanol en este orden, para obtener las fracciones en disolvente respectivas, y éstas se concentraron a presión reducida. Como resultado, se obtuvieron una fracción en hexano, una fracción en acetato de etilo y una fracción en n-butanol de *Lindera obtusiloba*.

10 Ejemplo de ensayo 1: Medición del efecto inhibitor de extractos de *Lindera obtusiloba* sobre la actividad de NAD(P)H oxidasa

15 Los extractos en bruto y las fracciones de *Lindera obtusiloba* preparados en el Ejemplo 1 y el Ejemplo 2 tal como se ha descrito anteriormente se sometieron a la medición de un efecto de inhibir la actividad de NAD(P)H oxidasas, que son enzimas de referencia para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Con este fin, las células de músculo liso arterial de rata blanca (Células de músculo liso arterial de rata; RASMC) y las células endoteliales vasculares de ternero (Células endoteliales aórticas bovinas; BAEC) se usaron para comparar los cambios en la actividad de NADPH oxidasa, y los resultados se muestran en la siguiente Tabla 1. En primer lugar, las células de músculo liso arterial y las células endoteliales vasculares se mezclaron respectivamente con MEM (medio mínimo esencial), DMEM (medio mínimo esencial de Dulbecco) y una solución de FBS (suero fetal bovino) al 10%, y las células se incubaron respectivamente en una placa de 96 pocillos durante 24 horas en las condiciones de CO₂ al 5%/37°C. A continuación, las células se incubaron de nuevo durante 24 horas en la solución de cultivo con FBS excluido. Una vez que las células se estabilizaron, las células se lavaron con HBSS (solución salina equilibrada de Hank). Estas células se agitaron con el extracto de hojas o el extracto de ramitas de *Lindera obtusiloba* obtenido en el Ejemplo 1, y a continuación se dejó reaccionar a la mezcla durante 15 minutos y se lavó de nuevo con HBSS. 25 Posteriormente, se añadieron NAD(P)H 100 mM y Lucigenina 5 mM al líquido de reacción, y la actividad de NAD(P)H oxidasas se midió durante una hora, usando un lector de luminiscencia (Victor Light, PerkinElmer). El ensayo se realizó en tres ocasiones, mientras se repetía de 2 a 7 veces para cada ocasión. Posteriormente, la actividad del grupo de control y la actividad del grupo tratado con la muestra se compararon, y los valores de CI50 se calcularon. El valor de CI50 es la concentración, expresada en mg/ml, de un material de ensayo, a la cual se 30 inhibe el 50% de la actividad NADPH oxidasa.

[Tabla 1]

Efecto inhibitor de extractos de <i>Lindera obtusiloba</i> sobre la actividad de NADPH oxidasa (unidad: µg/ml)		
	CI50 (BAEC)	CI50 (RASMC)
Extracto en bruto de ramitas de <i>Lindera obtusiloba</i>	2,1	2,0
Fracción en butanol de ramitas de <i>Lindera obtusiloba</i>	0,9	1,5
Fracción en acetato de etilo de ramitas de <i>Lindera obtusiloba</i>	1,0	2,5
Fracción en hexano de ramitas de <i>Lindera obtusiloba</i>	10,5	> 30

35 Tal como se muestra en la Tabla 1, puede verse que los extractos de *Lindera obtusiloba* son excelentes en el alcance de inhibición de la actividad de NADPH oxidasas de las células vasculares. Además, entre las fracciones, puede verse que el extracto en n-butanol muestra efectos excelentes.

Ejemplo de ensayo 2: Medición del efecto vasorrelajante de extractos de *Lindera obtusiloba* (arterias coronarias y aorta)

40 Los efectos vasorrelajantes de los extractos en bruto y las fracciones de *Lindera obtusiloba* preparados en el Ejemplo 1 y el Ejemplo 2 se verificaron. Con este fin, se realizó una comparación sobre los efectos de relajación de las arterias coronarias de un corazón de cerdo y la aorta de rata, y los resultados son tal como se muestra en la

figura 1, la figura 2, la Tabla 2 (arterias coronarias) y la Tabla 3 (aorta). Las arterias coronarias se extrajeron de un corazón de cerdo comprado inmediatamente después del sacrificio en la carnicería. La aorta se extrajo de una rata blanca SD (**Sprague-Dawley**) macho, se sumergió en la solución de Krebs (pH 7,4) que contenía NaCl 18 mM, KCl 9,7 mM, MgSO₄ 1,1 mM, KH₂PO₄ 1,2 mM, CaCl₂ 1,5 mM, NaHCO₃ 25 mM, y glucosa 10 mM para retirar el tejido conectivo y las grasas, y a continuación se cortó en una muestra de aproximadamente 3 mm de longitud.

La arteria coronaria preparada y la muestra de aorta se fijaron en la solución de Krebs a 37°C, que se había saturado con gases de O₂ al 95% y CO₂ al 5%. Las tensiones isométricas de las muestras se midieron con un fisiógrafo Grass (Hugo Sachs, Alemania) equipado con un transductor de desplazamiento de fuerza (Hugo Sachs, Alemania). En el caso de las arterias coronarias, las arterias se contrajeron en primer lugar al 80% de la contracción vascular máxima usando U46619 (de 1 a 60 nM), que es un derivado de tromboxano. Después de 10 minutos a partir de esto, las arterias se relajaron con Bradiquinina 300 nM, la seguridad de las células endoteliales vasculares se midió, y a continuación las arterias se lavaron tres veces con la solución de Krebs para realizar el experimento. La medición de los cambios en el efecto vasorrelajante se llevó a cabo contrayendo en primer lugar las arterias con el fármaco U46619, y a continuación la reacción de relajación inducida por los extractos de *Lindera obtusiloba* se ensayó de manera dependiente de la concentración.

En el caso de la aorta de rata blanca, la aorta se contrajo al 80% de la contracción vascular máxima usando fenilefrina. Después de 15 minutos de esto, la aorta se relajó con acetilcolina 10 µM, la seguridad de las células endoteliales vasculares se midió, y a continuación la aorta se lavó tres veces con la solución de Krebs para realizar el experimento. La medición de los cambios en el efecto vasorrelajante se llevó a cabo contrayendo en primer lugar la aorta con el fármaco fenilefrina, y a continuación la reacción de relajación inducida por los extractos en bruto y los extractos de fracción de *Lindera obtusiloba* se ensayó de manera dependiente de la concentración. Este ensayo se llevó a cabo repetidamente usando los vasos sanguíneos extraídos de 5 a 10 individuos diferentes. El valor de DE50 se refiere a la concentración (µg/ml) de la muestra a la cual los vasos sanguíneos contraídos muestran el 50% de vasorrelajación como resultado del tratamiento con la muestra.

[Tabla 2]

Efecto relajante de extractos de <i>Lindera obtusiloba</i> sobre arterias coronarias de cerdo (unidad: µg/ml)	
	DE50
Extracto en bruto de hojas de <i>Lindera obtusiloba</i>	59,4
Extracto en bruto de ramitas de <i>Lindera obtusiloba</i>	12,9
Fracción en butanol de hojas de <i>Lindera obtusiloba</i>	18,6
Fracción en acetato de etilo de hojas de <i>Lindera obtusiloba</i>	> 100
Fracción en hexano de hojas de <i>Lindera obtusiloba</i>	> 100
Fracción en butanol de ramitas de <i>Lindera obtusiloba</i>	6,4
Fracción en acetato de etilo de ramitas de <i>Lindera obtusiloba</i>	71,1

[Tabla 3]

Efecto relajante de extractos de <i>Lindera obtusiloba</i> sobre aorta de rata blanca (unidad: µg/ml)	
	DE50

Efecto relajante de extractos de <i>Lindera obtusiloba</i> sobre aorta de rata blanca (unidad: µg/ml)	
	DE50
Extracto en bruto de hojas de <i>Lindera obtusiloba</i>	14,8
Extracto en bruto de ramitas de <i>Lindera obtusiloba</i>	5,0
Fracción en butanol de hojas de <i>Lindera obtusiloba</i>	5,4
Fracción en acetato de etilo de hojas de <i>Lindera obtusiloba</i>	48,3
Fracción en hexano de hojas de <i>Lindera obtusiloba</i>	79,6
Fracción en butanol de ramitas de <i>Lindera obtusiloba</i>	1,7
Fracción en acetato de etilo de ramitas de <i>Lindera obtusiloba</i>	15,0
Fracción en hexano de ramitas de <i>Lindera obtusiloba</i>	95,0

5 Como resultado del ensayo, tal como se muestra en la figura 1 y la figura 2, los extractos de *Lindera obtusiloba* de la presente invención comenzaron una relajación significativa desde la concentración de 1 a 10 µg/ml, y alcanzaron el 94 ± 2% de relajación a la concentración de 30 µg/ml. Tal como se muestra en la Tabla 1 y la Tabla 2, puede verse que los extractos de *Lindera obtusiloba* son excelentes en el alcance de relajación de los vasos sanguíneos de las arterias coronarias y la aorta. Entra las fracciones, puede verse que el extracto en n-butanol muestra efectos excelentes.

Ejemplo de ensayo 3: Ensayo con extractos de *Lindera obtusiloba* sobre la actividad de óxido nítrico sintasa de tipo endotelial

10 Se realizaron observaciones sobre los efectos de los extractos en bruto de *Lindera obtusiloba* preparados en el Ejemplo 1 y el Ejemplo 2 sobre la potenciación de la actividad de óxido nítrico sintasa de tipo endotelial. Los efectos mencionados anteriormente se compararon en base al grado de fosforilación del resto de serina 1177 de la óxido nítrico sintasa de tipo endotelial (eNOS) y el resto de serina 473 de Akt de células endoteliales aórticas bovinas. Los resultados se presentan en la figura 3.

15 En primer lugar, las células endoteliales vasculares se mezclaron con DMEM (medio mínimo esencial de Dulbecco) y una solución de FBS (Suero fetal bovino) al 10% y se incubaron, y a continuación las células se incubaron de nuevo durante 24 horas en la solución de cultivo con FBS excluido. Una vez que las células se estabilizaron, las células se trataron con las muestras a las concentraciones respectivas, y a continuación se dejaron reaccionar durante 30 minutos. A continuación, las proteínas se extrajeron y se centrifugaron, y el sobrenadante se recogió para retirar restos de las células. Las proteínas extraídas se sometieron a electroforesis en SDS-gel de poliacrilamida, y a continuación las proteínas en el gel se transfirieron con una membrana de nitrocelulosa. Después de bloquear con BSA al 3% durante una hora, los anticuerpos de fosfo-eNOS y fosfo-Akt (Cell Signaling, Estados Unidos) se incubaron durante una noche a 4°C a una relación de 1:1.000. Posteriormente, anticuerpos secundarios diluidos a una relación de 1:2000 se trataron e incubaron a temperatura ambiente durante una hora y a continuación los anticuerpos secundarios se desarrollaron mediante quimioluminiscencia.

20 Como resultado, tal como se muestra en la figura 3, puede verse que los extractos de *Lindera obtusiloba* muestran altos efectos de potenciar la activación de óxido nítrico sintasa de tipo endotelial (fosfo-eNOS), que produce óxido nítrico, y un alto grado de aumento de la activación de Akt (fosfo-Akt), que es un factor regulador aguas arriba.

Ejemplo de ensayo 4: Ensayos de efectos de extractos de *Lindera obtusiloba* en un modelo animal de enfermedad cardiovascular

Los efectos hipotensores en animales enfermos, y los efectos sobre la mejoría del estrés oxidativo vascular y la mejoría de disfunción endotelial, ejercidos por los extractos de *Lindera obtusiloba* obtenidos en el Ejemplo 2, se verificaron. Con este fin, se realizó una comparación sobre el alcance de los efectos en un modelo de enfermedad inducidos por angiotensina 2, y los resultados se presentan en la figura 4, la figura 5, la figura 6 y la Tabla 4.

5 Ratas blancas SD (**Sprague-Dawley**, 6 semanas de edad) macho se adquirieron de Orientbio, Inc., y las ratas se aclimataron durante una semana mientras se les suministraba libremente alimento sólido y agua en una pequeña cámara de cría animal que estaba regulada para tener un periodo de luz-oscuridad de 12 horas. A continuación, las ratas se agruparon de forma arbitraria en un grupo de control y un grupo tratado con angiotensina 2, con cada grupo incluyendo 6 animales. Desde tres días antes del tratamiento con angiotensina 2, los extractos de *Lindera obtusiloba* obtenidos en el Ejemplo 2 se suspendieron respectivamente en CMC (carboximetilcelulosa) al 0,5% a una concentración de 100 mg/kg, y las suspensiones se administraron por vía oral dos veces al día. El grupo de control se administró con CMC al 0,5% solamente. La angiotensina 2 se disolvió en solución salina fisiológica a una concentración de 65 ng/min/kg, y la solución se colocó en una mini-bomba osmótica (Alzet Model 2002). Las ratas se anestesiaron, y el tratamiento con angiotensina 2 se llevó a cabo abriendo la piel, e insertando la mini-bomba en la región interescapular. La medición de la tensión arterial se realizó simultáneamente con el inicio de la administración oral, y se realizaron mediciones adicionales una vez cada dos días durante 2 semanas, una hora después de la administración oral por la mañana. La muestra se calentó por adelantado durante aproximadamente 10 minutos a de 45 a 50°C, y a continuación la tensión arterial máxima (tensión sistólica) de la arteria caudal se midió de manera no invasiva mediante el método de pletismografía con esfingomanómetro caudal usando un sistema de registro de la tensión arterial automatizado. La frecuencia cardiaca también se midió al mismo tiempo.

La aorta se extrajo de la misma manera que en el Ejemplo de ensayo 2, y el grado de tinción mediante DHE (**dihidroetidio**) y el grado de relajación mediante acetilcolina se caracterizaron para medir el alcance de estrés oxidativo vascular y disfunción endotelial vascular. Los resultados se compararon con los resultados del grupo de control.

25 [Tabla 4]

Efectos hipotensores de <i>Lindera obtusiloba</i> (unidad: mm de Hg)			
	1º día	7º día	14º día
Control	107,6	107,4	112,6
Angiotensina 2	110,3	169,6	158,3
Extracto de ramitas de <i>Lindera obtusiloba</i>	113,9	129,7	127,4
Extracto de hojas de <i>Lindera obtusiloba</i>	112,5	144,2	145,4

Como resultado del ensayo, puede verse a partir de la Tabla 4 que el aumento de la tensión arterial en los animales de ensayo inducido mediante angiotensina 2 se inhibía significativamente mediante la administración de los extractos de *Lindera obtusiloba*.

30 El aumento de la frecuencia cardiaca se midió y, como resultado, tal como se muestra en la figura 4, se confirmó que los extractos de *Lindera obtusiloba* no tienen efectos secundarios adversos sobre el corazón, tales como taquicardia.

Además, tal como se muestra en la figura 5, puede verse que el aumento del estrés oxidativo vascular inducido por angiotensina 2 es inhibido fuertemente por la administración de los extractos de *Lindera obtusiloba* (La figura 5 es un producto de modificación en blanco y negro de una fotografía que indica el objeto en rojo y el fondo en negro, y en el momento de la modificación, el fondo se hizo blanco para una distinción clara del objeto).

35 La relajación inducida por acetilcolina 0,01 μ M en los animales tratados con angiotensina 2, se comparó con la del grupo de control, y se descubrió que se producía una disfunción endotelial vascular en la que la relajación no se

produce suavemente (grupo de control - 27%, grupo de acetilcolina - 8%). Puede verse que dicha disfunción endotelial vascular se mejora mediante la administración del extracto de ramitas (20%) y el extracto de hojas (19%) de *Lindera obtusiloba*.

Ejemplo de ensayo 5: Ensayo sobre la citotoxicidad de extractos de *Lindera obtusiloba*

5 Se realizó una comparación para los extractos en bruto de *Lindera obtusiloba* preparados en el Ejemplo 1 y el Ejemplo 2 en el alcance de citotoxicidad, y los resultados son tal como se muestra en la figura 6.

10 Células de músculo liso arterial se mezclaron con MEM (medio mínimo esencial) y una solución de FBS (suero fetal bovino) al 10%, y las células se incubaron durante 24 horas en las condiciones de CO₂ al 5%/37°C. Una vez que las células se estabilizaron, las células se trataron con los extractos de *Lindera obtusiloba* obtenidos en el Ejemplo 2, se agitaron, y se dejaron reaccionar durante 24 horas. Seguidamente, las células se incubaron durante una hora en presencia de una solución de MTS (CellTiter 96 Aqueous One Solution, Promega), y a continuación se midió la absorbancia a 490 nm.

Tal como se muestra en la figura 6, puede verse que no se descubrió que los extractos de *Lindera obtusiloba* tengan influencia alguna sobre la supervivencia de células, y son fármacos muy seguros.

15 Ejemplo de ensayo 6: Procesamiento estadístico

La importancia de los resultados del ensayo se determinó realizando el test t de Student y el test ANOVA de una vía con los resultados experimentales, de modo que existe una diferencia significativa en el caso en el que p es 0,05 o menos.

20 A continuación se describirán ejemplos de preparación de la composición farmacéutica y productos alimenticios funcionales saludables que contienen el extracto, pero la presente invención no pretende limitarse a ellos, sino describirlos específicamente.

Ejemplo de preparación 1: Producción de preparación en polvo

Extracto en polvo de *Lindera obtusiloba* 20 mg

Lactosa 100 mg

25 Talco 10 mg

Los componentes se mezclaron y se cargaron en un envase sellado, y de este modo se produjo una preparación en polvo.

Ejemplo de preparación 2: Producción de preparación de comprimidos

Extracto en polvo de *Lindera obtusiloba* 10 mg

30 Almidón de maíz 100 mg

Lactosa 100 mg

Estearato de magnesio 2 mg

Los componentes se mezclaron y a continuación se conformaron en comprimidos de acuerdo con un método de producción de comprimidos convencional, y de este modo se produjo una preparación de comprimidos.

35 Ejemplo de preparación 3: Producción de preparación de cápsulas

Extracto en polvo de *Lindera obtusiloba* 10 mg

Celulosa cristalina 3 mg

Lactosa 14,8 mg

Estearato de magnesio 2 mg

40 De acuerdo con un método de producción de cápsulas convencional, los componentes se mezclaron y se cargaron en cápsulas de gelatina, y de este modo se produjo una preparación en cápsulas.

Ejemplo de preparación 4: Producción de preparación inyectable

Extracto en polvo de *Lindera obtusiloba* 10 mg

Manitol 180 mg

Agua destilada estéril para inyección 2794 mg

Na₂HPO₄·12H₂O 26 mg

5 De acuerdo con un método de producción convencional para preparación inyectable, se produjo una preparación inyectable a los contenidos de componentes mencionados anteriormente por ampolla (2 ml).

Ejemplo de preparación 5: Producción de preparación líquida

Extracto en polvo de *Lindera obtusiloba* 10 mg

Jarabe de maíz rico en fructosa 10 g

Manitol 5 g

10 Agua purificada Cantidad apropiada

De acuerdo con un método de producción convencional para preparación líquida, los componentes se añadieron y se disolvieron en agua purificada, se le añadió una cantidad apropiada de aroma de limón, los componentes se mezclaron, y el volumen total se ajustó a 100 ml añadiendo agua purificada. Esto se cargó en un frasco marrón y se esterilizó, y de este modo se produjo una preparación líquida.

15 Ejemplo de preparación 6: Producción de bebida saludable

Extracto en polvo de *Lindera obtusiloba* 10 mg

Vitamina C 15 g

Vitamina E (en polvo) 100 g

Lactato de hierro 19,75 g

20 Óxido de zinc 3,5 g

Amida de ácido nicotínico 3,5 g

Vitamina A 0,2 g

Vitamina B1 0,25 g

Vitamina B2 0,3 g

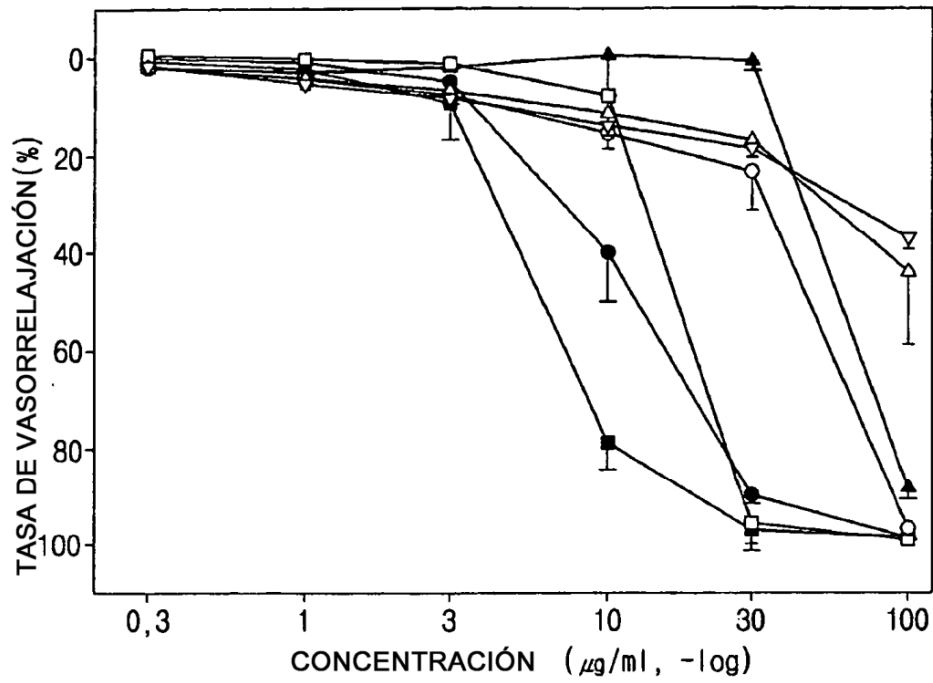
25 Agua Cantidad apropiada

30 De acuerdo con un método de producción convencional para bebida saludable, los componentes se mezclaron, la mezcla se calentó con agitación a 85°C durante aproximadamente una hora, y la solución resultante se filtró. El filtrado se colocó en un recipiente de 2 l esterilizado, se selló, se esterilizó y se refrigeró, y esto se usó en la producción de las composiciones de bebida saludable. En las relaciones de composición dadas anteriormente, componentes que son relativamente adecuados para bebidas favoritas se mezclaron y prepararon como un Ejemplo preferido, pero la relación de mezclado puede modificarse arbitrariamente de acuerdo con la preferencia geográfica y racial, tal como de la clase de consumidores o país consumidor, los usos, o similares.

REIVINDICACIONES

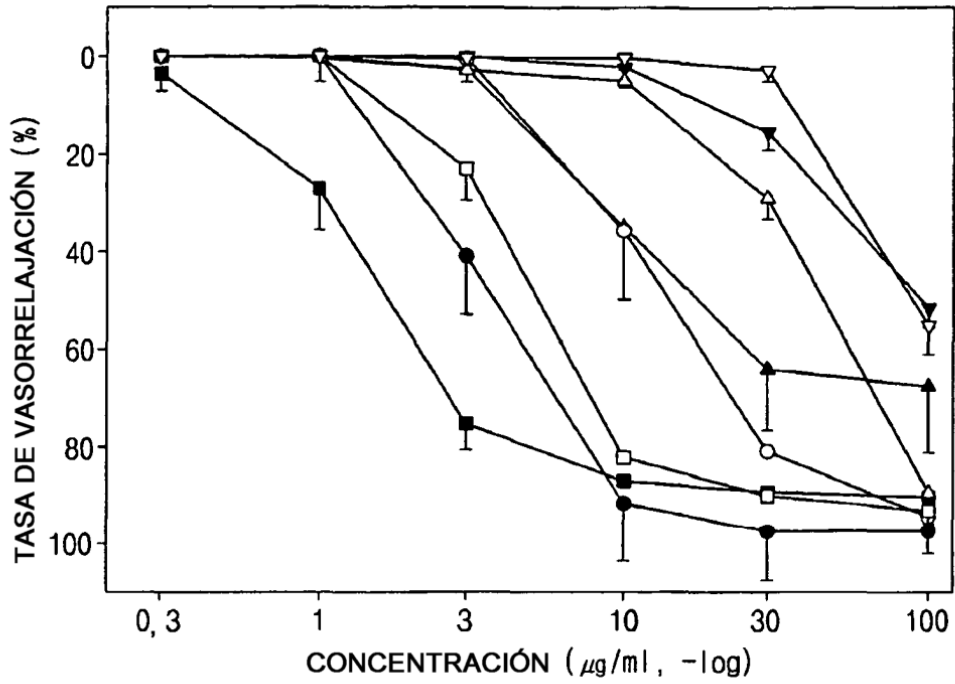
- 5 1. Una composición para su uso en la prevención y el tratamiento de cardiopatías congestivas, arteriopatías coronarias (ataque cardíaco), cardiopatías isquémicas (isquemia miocárdica), hiperlipidemia, arterioesclerosis, hipertensión, arritmia, insuficiencia cardíaca, reestenosis vascular, enfermedades cerebrovasculares (accidente cerebrovascular, demencia) o enfermedades vasculares periféricas, que comprende un extracto de *Lindera obtusiloba* como ingrediente activo.
- 10 2. La composición para su uso en la prevención y el tratamiento de cardiopatías congestivas, arteriopatías coronarias (ataque cardíaco), cardiopatías isquémicas (isquemia miocárdica), hiperlipidemia, arterioesclerosis, hipertensión, arritmia, insuficiencia cardíaca, reestenosis vascular, enfermedades cerebrovasculares (accidente cerebrovascular, demencia) o enfermedades vasculares periféricas de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la *Lindera obtusiloba* se selecciona entre el grupo constituido por ramitas, hojas y mezclas de las mismas.
- 15 3. La composición para su uso en la prevención y el tratamiento de cardiopatías congestivas, arteriopatías coronarias (ataque cardíaco), cardiopatías isquémicas (isquemia miocárdica), hiperlipidemia, arterioesclerosis, hipertensión, arritmia, insuficiencia cardíaca, reestenosis vascular, enfermedades cerebrovasculares (accidente cerebrovascular, demencia) o enfermedades vasculares periféricas de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el extracto de *Lindera obtusiloba* se extrae con un disolvente seleccionado entre el grupo constituido por agua, un alcohol inferior de C1-C5, y una mezcla de los mismos.
- 20 4. La composición para su uso en la prevención y el tratamiento de cardiopatías congestivas, arteriopatías coronarias (ataque cardíaco), cardiopatías isquémicas (isquemia miocárdica), hiperlipidemia, arterioesclerosis, hipertensión, arritmia, insuficiencia cardíaca, reestenosis vascular, enfermedades cerebrovasculares (accidente cerebrovascular, demencia) o enfermedades vasculares periféricas de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el extracto de *Lindera obtusiloba* se extrae con una solución acuosa a del 30 al 95% en peso de etanol.
- 25 5. La composición para su uso en la prevención y el tratamiento de cardiopatías congestivas, arteriopatías coronarias (ataque cardíaco), cardiopatías isquémicas (isquemia miocárdica), hiperlipidemia, arterioesclerosis, hipertensión, arritmia, insuficiencia cardíaca, reestenosis vascular, enfermedades cerebrovasculares (accidente cerebrovascular, demencia) o enfermedades vasculares periféricas de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el extracto de *Lindera obtusiloba* se extrae con un disolvente seleccionado entre el grupo constituido por agua, un alcohol inferior de C₁-C₃ y una mezcla de los mismos, y el extracto resultante se extrae de nuevo con butanol.
- 30 6. La composición para su uso en la prevención y el tratamiento de cardiopatías congestivas, arteriopatías coronarias (ataque cardíaco), cardiopatías isquémicas (isquemia miocárdica), hiperlipidemia, arterioesclerosis, hipertensión, arritmia, insuficiencia cardíaca, reestenosis vascular, enfermedades cerebrovasculares (accidente cerebrovascular, demencia) o enfermedades vasculares periféricas de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el extracto de *Lindera obtusiloba* tiene una actividad inhibidora de NAD(P)H oxidasa.
- 35 7. La composición para su uso en la prevención y el tratamiento de cardiopatías congestivas, arteriopatías coronarias (ataque cardíaco), cardiopatías isquémicas (isquemia miocárdica), hiperlipidemia, arterioesclerosis, hipertensión, arritmia, insuficiencia cardíaca, reestenosis vascular, enfermedades cerebrovasculares (accidente cerebrovascular, demencia) o enfermedades vasculares periféricas de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el extracto de *Lindera obtusiloba* tiene un efecto vasorrelajante.
- 40 8. La composición para su uso en la prevención y el tratamiento de cardiopatías congestivas, arteriopatías coronarias (ataque cardíaco), cardiopatías isquémicas (isquemia miocárdica), hiperlipidemia, arterioesclerosis, hipertensión, arritmia, insuficiencia cardíaca, reestenosis vascular, enfermedades cerebrovasculares (accidente cerebrovascular, demencia) o enfermedades vasculares periféricas de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el extracto de *Lindera obtusiloba* tiene un efecto de aumentar la actividad de óxido nítrico sintasa de tipo endotelial.
- 45 9. Un producto alimenticio funcional saludable para su uso en la prevención de cardiopatías congestivas, arteriopatías coronarias (ataque cardíaco), cardiopatías isquémicas (isquemia miocárdica), hiperlipidemia, arterioesclerosis, hipertensión, arritmia, insuficiencia cardíaca, reestenosis vascular, enfermedades cerebrovasculares (accidente cerebrovascular, demencia) o enfermedades vasculares periféricas, que comprende un extracto de *Lindera obtusiloba* como ingrediente activo.
- 50 55

[Fig. 1]



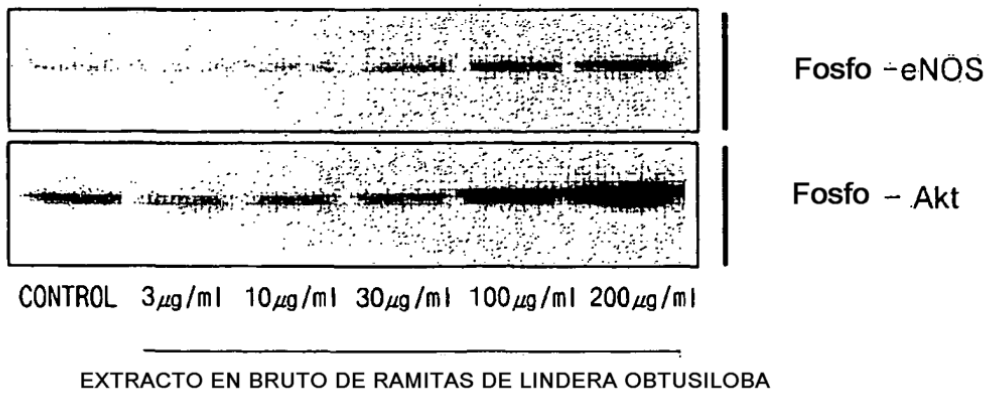
- EXTRACTO EN BRUTO DE RAMITAS DE LINDERA OBTUSILOBA
- FRACCIÓN EN BUTANOL DE RAMITAS DE LINDERA OBTUSILOBA
- ▲ FRACCIÓN EN ACETATO DE ETILO DE RAMITAS DE L. OBTUSILOBA
- EXTRACTO EN BRUTO DE HOJAS DE LINDERA OBTUSILOBA
- FRACCIÓN EN BUTANOL DE HOJAS DE LINDERA OBTUSILOBA
- △ FRACCIÓN EN ACETATO DE ETILO DE HOJAS DE L. OBTUSILOBA
- ▽ FRACCIÓN EN HEXANO DE HOJAS DE L. OBTUSILOBA

[Fig. 2]

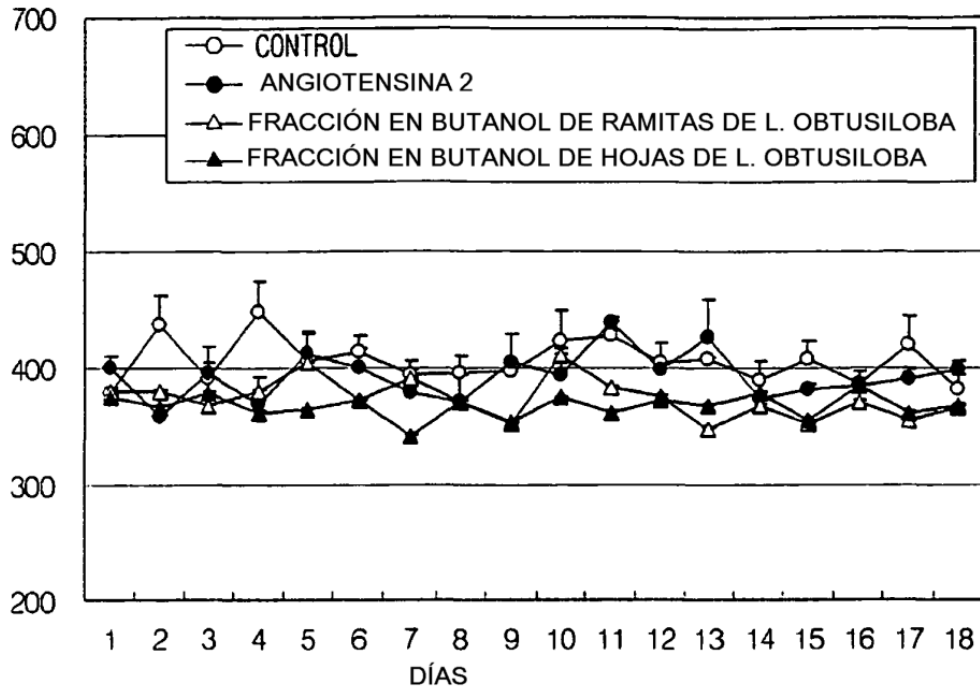


- EXTRACTO EN BRUTO DE RAMITAS DE LINDERA OBTUSILOBA
- FRACCIÓN EN BUTANOL DE RAMITAS DE LINDERA OBTUSILOBA
- ▲ FRACCIÓN EN ACETATO DE ETILO DE RAMITAS DE L. OBTUSILOBA
- ▼ FRACCIÓN EN HEXANO DE RAMITAS DE LINDERA OBTUSILOBA
- EXTRACTO EN BRUTO DE HOJAS DE LINDERA OBTUSILOBA
- FRACCIÓN EN BUTANOL DE HOJAS DE LINDERA OBTUSILOBA
- △ FRACCIÓN EN ACETATO DE ETILO DE HOJAS DE L. OBTUSILOBA
- ▽ FRACCIÓN EN HEXANO DE HOJAS DE L. OBTUSILOBA

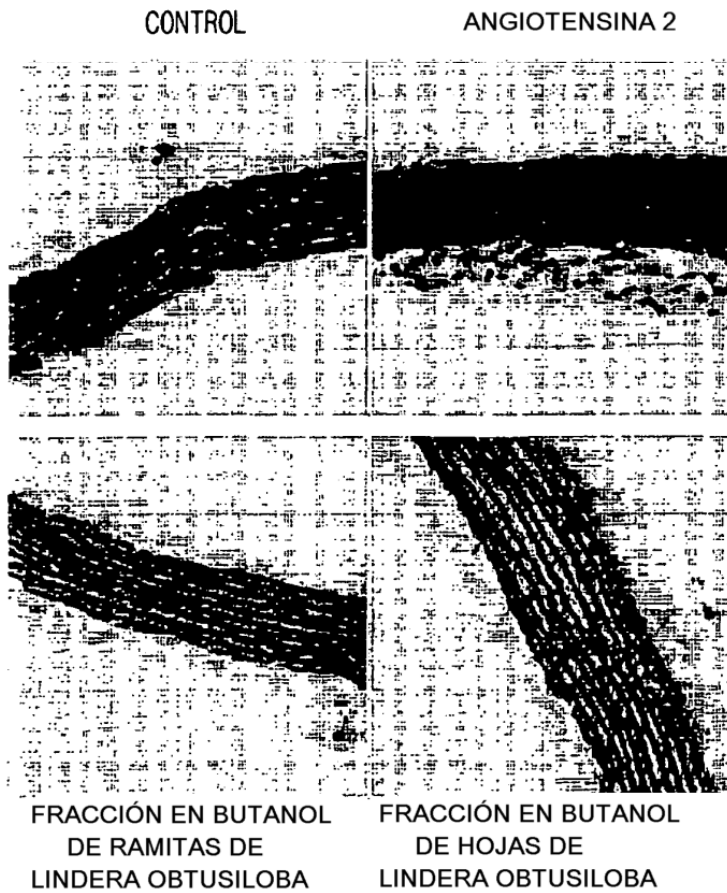
[Fig. 3]



[Fig. 4]



[Fig. 5]



[Fig. 6]

