

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 438 266**

51 Int. Cl.:

A23L 1/30 (2006.01)
A23F 3/18 (2006.01)
A23F 3/38 (2006.01)
A61K 36/82 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.09.2007 E 07818394 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2013 EP 2066186**

54 Título: **Extracto de té verde, en particular para el uso como alimento funcional, complemento alimenticio o ingrediente correspondiente, su uso así como procedimiento para la preparación de un extracto de té verde de este tipo**

30 Prioridad:

26.09.2006 DE 102006045763

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

16.01.2014

73 Titular/es:

**PLANTEXTRAKT GMBH & CO. KG (100.0%)
Dutendorfer Strasse 5-7
91487 Vestenbergsgreuth, DE**

72 Inventor/es:

**KLER, ADOLF;
ZENGER, REINHOLD y
DIMPFEL, WILFRIED**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 438 266 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

Extracto de té verde, en particular para el uso como alimento funcional, complemento alimenticio o ingrediente correspondiente, su uso así como procedimiento para la preparación de un extracto de té verde de este tipo

5 La invención se refiere a un extracto de té verde, en particular para el uso como alimento funcional, complemento alimenticio o ingrediente correspondiente para esto así como a su uso y a un procedimiento para la preparación de un extracto de té verde de este tipo.

10 Con respecto a los antecedentes de la invención, se tiene que señalar que un comportamiento cambiante en cuanto a la alimentación, una nueva conciencia de la salud, asociado al deseo de tener a disposición no solo alimentos seguros de buen sabor, sino también alimentos con determinadas propiedades positivas en cuanto a la fisiología de la alimentación.

15 Además de los nutrientes conocidos, en general, hasta ahora y descritos tales como, por ejemplo, proteína, grasa, hidratos de carbono, fibras, vitaminas, minerales, etc., los denominados ingredientes vegetales secundarios (SPS) desempeñan recientemente un papel cada vez más importante. A este respecto, se trata de una gran cantidad de los más diversos compuestos químicos o clases de compuestos tales como, por ejemplo, carotenoides, terpenos, fitoesterinas, polifenoles, etc., tal como se han descrito también por la Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE) en el Ernährungsbericht 1996.

20 Muchas plantas, en particular también hierbas o té, son ricas en ingredientes vegetales secundarios y, por lo tanto, representan un material de partida adecuado para la preparación de extractos vegetales con SPS. Estos extractos se pueden usar como alimento o como ingrediente alimenticio para la preparación de los más diversos alimentos tales como, por ejemplo, bebidas, productos lácteos, productos de panadería y pastelería, dulces, etc. y otorgan ciertas propiedades funcionales al alimento listo para el consumo.

25 En particular el té y el té verde, ambos productos del árbol de té (*Camellia sinensis/Camellia assamica* o sus híbridos) son ricos en SPS, de tal manera que por ejemplo en sustancias conocidas tales como cafeína o polifenoles se conocen en general sus efectos fisiológicos. El té negro y el té verde, así como sus extractos, contienen además otros compuestos altamente interesantes en cuanto a la fisiología de la alimentación tales como, por ejemplo, aminoácidos, teanina y teogalina.

30 En el caso de la teanina, se trata de un derivado del ácido glutámico, la 5-N-etil-L-glutamina. Para la teanina ya se han descrito determinados efectos en cuanto a la fisiología de la alimentación. En esencia, son propiedades relajantes, inhibidoras del estrés y tranquilizantes. Sin embargo, también existen indicios de propiedades estimulantes.

35 En el caso de la teogalina, se trata de un éster del ácido gálico con ácido quínico, el ácido 5-galoil-quínico. No se conoce nada acerca de la teogalina y sus efectos en cuanto a la fisiología de la alimentación en la bebida de té o en extractos de té.

40 En cuanto al estado de la técnica, se puede señalar que las propiedades estimulantes en general conocidas de la cafeína ya están descritas desde hace mucho tiempo. Sin embargo, con el consumo constante de cafeína, en particular más elevado, existen también las desventajas descritas para la cafeína tales como insomnio, agitación, disminución del flujo sanguíneo cerebral, etc. (véase Hager-ROM 2004 Hagers Handbuch der Drogen und Arzneistoffe).

45 Para la teanina como sustancia pura, por un lado, se describen propiedades tranquilizantes (véase los documentos JP 2005 289 948 A1, JP 2005 232 045 A1 o JP 9012454 A1), sin embargo también, por otro lado, propiedades estimulantes (véase el documento JP 9100230 A1). Esto se aplica, en particular, para teanina en mezcla con cafeína, arginina, extracto de salvado de arroz (véase los documentos JP 2002 3220 53 A1, KR 10 2005 121 535 A1 o US 2005 0020 627 A1).

50 Por el documento DE 101 06 216 A1, se conoce un extracto de té verde que está descafeinado, que es pobre en taninos que, sin embargo, está enriquecido en cuanto a la L-teanina. Se prepara descafeinando en primer lugar hojas de té verde, trozos de tamizado de té verde o polvo de té verde y extrayendo los mismos a continuación en agua. Después, el extracto se pone en contacto con poliestireno y a continuación se concentra. El extracto se usa como ingrediente para bebidas o concentrados de bebidas.

55 Por el documento EP 10 57 483 A1, se conoce una composición de efecto farmacéutico para el tratamiento de distintos síntomas, tales como adiposidad, síntomas premenstruales o sensibilidad al frío que contiene teanina.

60 Por el documento EP 10 74 252 B1, se conoce una composición que contiene teanina para suprimir alteraciones del comportamiento en animales domésticos. El documento EP 0986958 A2 desvela un procedimiento para la preparación de una infusión de té descafeinado lista para beber, vertiéndose con agua caliente sobre una mezcla

sólida de hojas de té secas, dado el caso trituradas, fermentadas o parcialmente fermentadas o no fermentadas con un agente de adsorción sólido, en forma de partículas, insoluble en agua para cafeína y dejando reposar durante 2-6 minutos, después de lo cual se separa la mezcla sólida de la infusión de té preparada de este modo.

5 Además, en la bibliografía de patentes ya se han descrito las más diversas plantas y extractos vegetales que tienen efectos positivos sobre el metabolismo de una persona, de este modo, por ejemplo, en la solicitud de patente coreana KR 1020030056987A una composición con catequina de té verde como principio activo para la profilaxis de enfermedades cardiovasculares que están asociadas a diabetes.

10 Esto es importante debido a que las circunstancias de la vida en particular en estados altamente civilizados con alimentación monótona así como carencia del movimiento, según la opinión general, se tienen que considerar la causa esencial del sobrepeso, de la diabetes así como otras enfermedades de causa metabólica. Esto se refleja en un aumento de las enfermedades de diabetes de tipo II de la población.

15 El objetivo para contrarrestar esta tendencia tiene que ser una alimentación equilibrada así como un movimiento suficiente. En este campo, los alimentos funcionales en el sentido de una profilaxis pueden contribuir o al menos ayudar a mantener el nivel de azúcar en sangre de personas en riesgo en un intervalo fisiológico.

20 A continuación, la presente invención se basa en el objetivo de desarrollar un extracto especial de té verde que como alimento funcional, que se puede usar, cause ampliamente, por ejemplo, un incremento del rendimiento cognitivo con una relajación simultánea y que se pueda emplear como alimento funcional o ingrediente alimenticio correspondiente en bebidas, productos lácteos, dulces, etc. Con ello, se persigue el objetivo de desarrollar alimentos funcionales que deban garantizar en particular a personas con actividad intelectual un rendimiento cognitivo mejorado y prolongado con una relajación simultánea. Un planteamiento adicional de objetivos interesante es la posible influencia positiva en el metabolismo humano de la glucosa mediante un extracto de té verde de este tipo.

25 Este objetivo se consigue mediante un extracto de té verde con la composición indicada en la reivindicación 1 desde el punto de vista de la técnica de la producción. Pruebas con un extracto de té verde descafeinado enriquecido en teanina y teogalina preferentemente con una parte de al menos el 6,0 % de teanina, al menos el 3,0 % de teogalina y como máximo el 0,03 % de cafeína han mostrado de forma sorprendente que con la aplicación de un extracto de este tipo, por ejemplo, se puede comprobar en una bebida refrescante un incremento del rendimiento cognitivo con una relajación simultánea.

30 De forma sorprendente, además estudios tales como, por ejemplo, una identificación de los más diversos extractos vegetales con respecto al tema "regulación de azúcar en sangre, propiedades antidiabéticas de extractos vegetales" han dado como resultado que el extracto de té verde de acuerdo con la invención presenta también propiedades reguladoras del azúcar en sangre. Se ha comprobado que este extracto de té verde enriquecido en teanina y teogalina, descafeinado está en disposición de incrementar de forma marcada la captación de glucosa por adipocitos diferenciados.

35 Como grados de enriquecimiento preferentes para teanina y teogalina han resultado ser al menos seis por ciento o al menos tres por ciento, debiendo encontrarse el contenido de cafeína en como máximo el 0,03 por ciento.

40 Desde el punto de vista de la técnica del procedimiento, la invención describe un procedimiento para la preparación de un extracto de té verde que presenta las siguientes etapas del procedimiento:

- 45
- a) extracción acuosa de hojas de té verde,
 - b) extracción líquido-líquido del extracto de té verde acuoso obtenido en la etapa a) mediante acetato de etilo con retirada de cafeína y una parte de los polifenoles,
 - 50 c) enriquecimiento absorbivo del extracto acuoso obtenido en la etapa b) enriquecido con teanina y teogalina en un absorbedor cargado con divinilbenceno funcionalizado,
 - d) elución del absorbedor con agua desmineralizada, obteniéndose dos subfracciones independientes y
 - e) concentración del eluato de la segunda subfracción rica en teanina, teogalina y aminoácidos específicos de té verde hasta dar un extracto de té verde descafeinado enriquecido con teanina y teogalina con un contenido de
 - 55 materias secas, preferentemente, al menos el 50 %.

Basándose en estas etapas básicas del procedimiento que se especifican con más detalle en las demás reivindicaciones dependientes se pueden conseguir las partes que se han mencionado anteriormente de teanina, teogalina y cafeína.

60 Otras características, particularidades y ventajas de la invención son evidentes a partir de la siguiente descripción, que se refiere a un

Ejemplo de realización:

Para la preparación del extracto de acuerdo con la invención se usa té verde como materia prima. Este se somete en una primera etapa a una extracción acuosa - etapa a) del procedimiento de preparación.

5 El extracto de té verde acuoso, obtenido de este modo, se somete a una extracción líquido-líquido en una segunda etapa - etapa b) – mediante acetato de etilo. En este caso, se retiran la cafeína y una parte de los polifenoles, lo que conduce a un enriquecimiento de las sustancias deseadas teanina y teogalina.

10 Otro enriquecimiento adsorptivo se realiza en un tercer paso del proceso - etapa c) – a través de un adsorbente cargado con divinilbenceno funcionalizado. A este respecto, se tiene que desechar el paso acuoso que se produce. La elución – etapa d) - se realiza con agua desmineralizada obteniéndose dos subfracciones independientes. En particular, la segunda subfracción es rica en teanina, teogalina y aminoácidos contenidos en el té verde.

15 En otro paso - etapa e) – se concentra la correspondiente fracción hasta un contenido de materia seca de aproximadamente el 50 % y ya se puede usar como tal. El extracto de té verde enriquecido en teanina y teogalina concentrado contenido de este modo se puede secar por pulverización en una etapa adicional del proceso.

20 El extracto de té verde preparado, como se ha descrito anteriormente, presenta en esencia la siguiente composición con respecto a la materia seca:

Contenido de agua	3,2 %
Contenido de cenizas	24,1 %
Suma de aminoácidos	3,52 %
Cafeína	≤ 0,01 %
L-teanina	9,71 %
Teogalina	4,65 %

El resto está compuesto de una pluralidad de sustancias. Los análisis han dado como partes restantes taninos en hasta el 2,5 % así como hidratos de carbono, ácidos y derivados de ácidos en hasta el 52,3 %.

25 Distintos estudios animales al igual que un estudio humano han mostrado de forma sorprendente que de acuerdo con el procedimiento que se ha descrito anteriormente, un extracto de té verde descafeinado producido enriquecido en teanina y teogalina presenta las propiedades que se han mencionado anteriormente, siendo responsable en particular la teogalina o sus metabolitos tales como, por ejemplo, ácido quínico para el incremento del rendimiento cognitivo. La teanina muestra en el extracto descrito propiedades ligeramente relajantes.

30 Además, se pudo comprobar la capacidad del extracto de té verde descafeinado enriquecido en teanina y teogalina para el incremento de la capacidad de captación de la glucosa de tipo celular, concretamente adipocitos diferenciados de fibroblastos murinos en una prueba descrita más adelante. Con ello, se prueba la idoneidad del extracto de té verde como alimento funcional para respaldar el metabolismo de la glucosa de una persona.

Se llevaron a cabo los siguientes estudios experimentales:

- examen del extracto mediante una bebida en prueba humana

40 Se llevó a cabo un estudio de doble enmascaramiento aleatorizado, controlado con placebo con cruzamiento, de fisiología humana con doce probandos. La bebida de principio activo contenía 2,57 g/500 ml de extracto de té verde de acuerdo con la invención, la bebida de placebo estaba exenta de este extracto.

45 Como parámetros de medición o magnitudes objetivo principales, examinó el rendimiento espectral de EEG y el potencial evocado visualmente P300. Como método, se emplearon el EEG topográfico cuantitativo con aplicación del denominado estudio "Cateem®" así como el procedimiento de evaluación "Caterpa" para la determinación de P300.

Los criterios "aumento de concentración", "aumento de la relajación", "incremento del rendimiento mental" y "función cognitiva mejorada" indican debido a las evaluaciones anteriores mejoras significativas con aplicación de la bebida de principio activo en comparación con el placebo.

50 Por ello, en total, se pudo mostrar una mejora de la función cognitiva con relajación simultánea después de la ingestión de la bebida de principio activo.

- examen del extracto total e ingredientes individuales en la preparación de corte de hipocampo del cerebro de las ratas aisladas:

55 Como preparaciones, se usaron preparaciones de corte de forma análoga a Dimpfel *et al.*, 1991 que se sometieron a una estimulación eléctrica con registro de los potenciales de campo extracelulares. Los potenciales de campo medidos se registraron después de una estimulación con estímulos individuales o una estimulación de ráfagas teta.

Se examinaron las siguientes sustancias:

- 60 - extracto de té verde descafeinado enriquecido en teanina y teogalina

- teogalina al 97 %
- mezcla de aminoácidos de forma análoga a extracto de té verde
- mezcla de aminoácidos de forma análoga a extracto de té verde con teanina
- L-teanina > 90 %
- 5 - ácido quínico 98 %
- ácido gálico 98 %

El método de estudio de corte de hipocampo *in vitro* se seleccionó para examinar la influencia del extracto de té verde examinado en la prueba humana e ingredientes individuales del mismo sobre el tejido de células nerviosas del hipocampo. Los resultados muestran que el presente extracto de té verde enriquecido en teanina y teogalina está en disposición de cambiar el patrón fisiológico de la actividad eléctrica del hipocampo.

También se pudo mostrar que varias sustancias del extracto de té verde influyen en la actividad eléctrica. El ácido glutámico y la teogalina y sus metabolitos tales como, por ejemplo, ácido quínico se tienen que considerar sustancias estimulantes. La teanina muestra el efecto contrario.

Hasta ahora, no se ha descrito el efecto de la teogalina y sus metabolitos tales como, por ejemplo, ácido quínico como sustancias que mejoran el rendimiento cognitivo. Los resultados muestran una estimulación dependiente de la concentración en la preparación de corte de hipocampo, lo que conduce a un aumento de la potenciación a largo plazo, un parámetro sustituto de una activación de la memoria de trabajo espacial y temporal.

Los resultados, por tanto, complementan y respaldan los resultados obtenidos en la prueba en seres humanos, donde también se pudo comprobar incremento del rendimiento cognitivo con relajación simultánea.

- Experimentos *in vivo* complementarios en ratas en marcha libre mediante registro cuantitativo de la actividad cerebral eléctrica (telestéreo-EEG).

Se observaron 344 ratas de Fischer adultas de marcha libre con electrodos cerebrales concéntricos 4-bipolares implantados. Se llevó a cabo un análisis *in vivo* continuo del potencial de campo eléctrico (telestéreo EEG) de la corteza anterior, hipocampo, cuerpo estriado y de la formación reticular de forma análoga Dimpfel *et al.* 1986. Además, se midió la movilidad de las ratas con un sistema de seguimiento con vídeo de la GJB Datentechnik GmbH, Langewiesen.

Como sustancias se emplearon

- extracto de té verde enriquecido en teanina y teogalina
- ácido glutámico
- L-teanina > 90 %
- teogalina 97 %
- 35 - ácido quínico 98 %

El modelo "telestéreo-EEG" en ratas de marcha libre se seleccionó como modelo *in vivo* para comprobar después de los resultados obtenidos en las pruebas *in vitro* en el hipocampo de ratas, en particular la superación de la barrera hematoencefálica para las sustancias descritas.

La administración oral del extracto total muestra una clara estimulación dependiente del tiempo de los potenciales de campo, caracterizada por disminución de las frecuencias delta, teta y alfa. De las sustancias individuales seguidas presentes en el extracto, teanina, teogalina o ácido quínico son las sustancias que contribuyen en esencia a los resultados medidos. Los resultados *in vivo* conseguidos en telestereo-EEG de ratas indican por tanto que el extracto de té verde descrito o los componentes contenidos en el extracto pueden superar también la barrera hematoencefálica en el ser humano.

Por tanto, los resultados respaldan los datos obtenidos en la prueba en seres humanos donde se mostró que el presente extracto de té verde conduce a un incremento del rendimiento cognitivo con relajación simultánea.

- Ensayo de captación de glucosa como estudio *in vitro*:

Para un ensayo de captación de glucosa se diferenciaron células 3T3-L1 (fibroblastos murinos) en tres etapas de diferenciación durante 8-9 días con insulina (1 µg/ml), dexametasona (40 µM) e IBMX (500 µM) hasta dar adipocitos. En la segunda etapa de diferenciación, se sembraron las células (60000 células/pocillo) en placas de cultivo celular. Para el ensayo, se incubaron las células en medio sin suero durante 3 horas. Después de la preincubación de las células con una solución de insulina 0,16 µM y los extractos de té verde durante 25 min a 37 °C se inició el ensayo con 2-desoxi-D-[1-³H]-glucosa (0,11 µCi/ml) y se incubaron durante 25 min a temperatura ambiente. La cantidad de la 2-desoxi-D-[1-³H]-glucosa captada por las células se determinó después de diversas etapas de lavado y lisis de las células mediante un contador de escintilación. Las mediciones se llevaron a cabo en un contador de escintilación líquida Tri-Carb 1900 TR (Packard, EE.UU). Se llevaron a cabo controles cero (t (0)) sin adición de insulina. Como control negativo se usó citocalasina B (200 µM), un inhibidor del sistema de transportador de glucosa estimulado por insulina. El resultado de los estudios muestra que el extracto de té verde ensayado duplica y más la captación de glucosa en el tiempo de incubación descrito en comparación con el control. Esto se aplica a las tres concentraciones de ensayo empleadas de 3 µg/ml, 100 ng/ml y 300 pg/ml.

REIVINDICACIONES

5 1. Extracto de té verde, en particular para el uso como alimento funcional, complemento alimenticio o ingrediente correspondiente con una parte enriquecida en teanina, conteniendo el extracto además una parte enriquecida en teogalina y estando descafeinado, **caracterizado por** los siguientes intervalos de porcentaje con respecto a la materia seca:

- teanina al menos el 6,0 %
- teogalina al menos el 3,0 %
- cafeína como máximo el 0,03 %

2. Extracto de té verde de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por** las siguientes partes con respecto a la materia seca:

- contenido de agua del 2,0 % al 5,0 %
- cenizas del 20,0 % al 30,0 %
- aminoácidos del 2,0 % al 10,0 %
- cafeína por debajo del 0,03 %
- teanina del 6,0 % al 40,0 % y
- teogalina del 3,0 % al 20,0 %.

10 3. Extracto de té verde de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado por** la siguiente composición con respecto a la materia seca:

- contenido de agua del 2,5 % al 4,0 % en particular el 3,2 %
- cenizas del 23,0 % al 25,0 %, en particular el 24,1 %
- aminoácidos del 3,0 % al 4,0 %, en particular el 3,52 %
- cafeína por debajo del 0,01%
- teanina del 9,0 % al 10,5 %, en particular el 9,71 % y
- teogalina del 4,0% al 5,5%, en particular el 4,65 %.

15 4. Uso del extracto de té verde de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores como alimento funcional, complemento alimenticio o ingrediente para uno de estos.

5. Procedimiento para la preparación de un extracto de té verde de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por** las siguientes etapas del procedimiento:

- 20 a) extracción acuosa de hojas de té verde,
- b) extracción líquido-líquido del extracto de té verde acuoso obtenido en la etapa a) mediante acetato de etilo con retirada de cafeína y una parte de los polifenoles,
- c) enriquecimiento absortivo del extracto obtenido en la etapa b), acuoso, enriquecido con teanina y teogalina en un absorbedor cargado con divinilbenceno funcionalizado,
- 25 d) elución del absorbedor con agua desmineralizada, obteniéndose dos subfracciones independientes, y
- e) concentración del eluato de la segunda subfracción rica en teanina, teogalina y aminoácidos específicos de té verde hasta dar un extracto de té verde descafeinado y enriquecido con teanina y teogalina con un contenido de materia seca de, preferiblemente, al menos el 50%.

30 6. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado porque** el extracto té verde obtenido en la etapa e) se seca por pulverización.