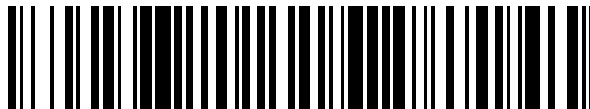


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 531 285**

21 Número de solicitud: 201331329

51 Int. Cl.:

**A61K 31/05** (2006.01)

**A61K 31/352** (2006.01)

**A61P 3/04** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

**12.09.2013**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**12.03.2015**

71 Solicitantes:

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN  
RED FISIOPATOLOGÍA DE LA OBESIDAD Y  
NUTRICIÓN (CIBEROBN) (20.0%)**

**C/ Choupana, s/n Edificio D Planta 1ª**

**15706 Santiago de Compostela (A Coruña) ES;**

**UNIVERSITAT DE LES ILLES BALEARS (40.0%) y**

**UNIVERSIDAD DEL PAIS VASCO/EUSKAL**

**HERRIKO UNIBERTSITATEA (40.0%)**

72 Inventor/es:

**PALOU OLIVER, Andreu;**

**PICÓ SEGURA, Catalina;**

**CERESI, Enzo;**

**OLIVER VARA, Paula;**

**PUY PORTILLO BAQUEDANO, María;**

**ARIAS RUEDA, Noemí;**

**MACARULLA ARENAZA, María Teresa y**

**MIRANDA GÓMEZ, Jonatan**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

54 Título: **Composiciones y usos en la activación de la termogénesis**

57 Resumen:

Composiciones y usos en la activación de la termogénesis.

La presente invención se refiere al uso combinado de estilbenoide seleccionado de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol y al menos un flavonol seleccionado de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina para la fabricación de una composición para el tratamiento y/o la prevención de sobrepeso/obesidad, desórdenes de temperatura corporal y/o patologías asociadas a ambas condiciones en mamíferos. Además la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas, complementos alimenticios y composiciones cosméticas que comprenden dicha composición.

ES 2 531 285 A1

## DESCRIPCIÓN

Composiciones y usos en la activación de la termogénesis.

5 La presente invención se refiere al uso de composiciones que comprenden resveratrol y quercetina para la activación (estimulación, aumento, mayor eficiencia, mayor capacidad) de la termogénesis, y su utilización en el tratamiento y/o la prevención de sobrepeso, obesidad y/o patologías o alteraciones o desórdenes asociadas al sobrepeso en mamíferos, en el  
10 mantenimiento de la temperatura corporal y en las situaciones en las que se puede producir una hipofunción térmica o termogénica, así como en los trastornos del ahorro o eficiencia energética. Además la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas, complementos alimenticios y composiciones cosméticas que comprenden dicha composición. Por tanto, la invención se podría encuadrar en el campo de las industrias farmacéutica, alimenticia y cosmética.

15

### ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

El tejido adiposo responsable del almacenamiento del excedente de energía como grasa es el tejido adiposo blanco. Este tejido está formado por adipocitos blancos que almacenan la grasa  
20 en forma de una única gota lipídica que ocupa casi todo el citoplasma (adipocitos uniloculares). Pero, además, existe otro tipo de tejido adiposo, el tejido adiposo marrón, también conocido como tejido adiposo pardo, formado por adipocitos marrones, que está especializado en el gasto energético. Los adipocitos marrones almacenan la grasa en forma de múltiples gotas lipídicas (adipocitos multiloculares) y actúan disipando el exceso de energía (grasa) como calor,  
25 en un proceso que se conoce como termogénesis, en respuesta a estímulos como el frío o una dieta hipercalórica y gracias a la acción de la proteína desacoplante termogénica 1 o UCP1 (Cannon, B et al., *J. Physiol. Rev.* 84, 277-359, 2004; Palou, A et al., *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 30, 7-11, 1998).

30 Para que el peso corporal se mantenga estable es necesario que haya un equilibrio homeostático entre la ingesta y el gasto energético. De esta manera, la activación de la termogénesis en el tejido adiposo marrón contribuye a aumentar el gasto energético y por tanto a prevenir el exceso de adiposidad corporal. De hecho, en roedores el tejido adiposo marrón contribuye a mantener el peso corporal, y se ha descrito que su activación promueve el gasto  
35 energético, reduce la adiposidad y protege de la aparición de obesidad inducida por la dieta (Ghorbani, M et al., *Biochem. Pharmacol.* 54: 121-131, 1997).

Sin embargo, no había mucho interés por el tejido adiposo marrón porque, a diferencia de lo que ocurre en roedores, durante años se pensó que los humanos adultos carecíamos de este  
40 tejido y que por tanto no contribuía al mantenimiento del peso corporal en nuestra especie. Pero hace unos años se ha descrito que esto no es así, sino que los humanos adultos mantenemos tejido adiposo marrón activo en cantidades significativas y de modo disperso en áreas discretas, localizadas principalmente en la región cervical, supraclavicular, axilar y paravertebral (Nedergaard, J et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 293, 444-452, 2007). Es  
45 más, este tejido adiposo marrón puede ser activado en la mayoría de los humanos y su activación se correlaciona inversamente con el índice de masa corporal, el contenido de grasa total y la diabetes y otra alteraciones, ya que utiliza para su funcionamiento sobre todo grasa pero también glucosa (Celi, F. S. et al., *N. Engl. J. Med.* 360: 1553-1556, 2009).

50 Gracias a estos conocimientos, el tejido adiposo marrón y su potencial termogénico es actualmente una diana reconocida a nivel internacional para combatir el sobrepeso, la obesidad y la diabetes tipo 2. Precisamente, el proyecto europeo DIABAT, en el que participan inventores de esta patente, tiene como objetivo la activación de la termogénesis en el tejido adiposo marrón para prevenir y tratar la diabetes tipo 2.

5 A parte de los adipocitos marrones clásicos presentes en el tejido adiposo marrón se ha descrito en modelos animales (principalmente roedores) que frente a determinados estímulos pueden aparecer adipocitos con características similares a los marrones pero en depósitos de tejido adiposo blanco, en un proceso que se ha denominado *browning* o marronización (Loncar, D. et al., *Cell Tissue Res.* 266: 149-161, 1991).

10 También en humanos se han encontrado zonas o áreas de tejido adiposo marrón dentro de depósitos de grasa blanca, y adipocitos con características de adipocitos marrones que expresan ARNm de UCP1 (Garruti, G, et al., *J. Lipid. Res.* 38: 2125-2133, 1997). Estas células han recibido el nombre de células o adipocitos *brite* (del inglés, *brown-in-white*, marrón en blanco), también conocidas como células *beige*, que llegan a desarrollar una capacidad termogénica similar a la de los adipocitos marrones clásicos (Petrovic, N et al., *J. Biol. Chem.* 285: 7153-7164, 2010) por lo que podrían contribuir al gasto energético y al mantenimiento del peso corporal.

15 La posibilidad de aumentar la cantidad de adipocitos marrones funcionales, especialmente aquellos presentes en los abundantes depósitos de grasa blanca (*brite*) aparece como una interesante herramienta o posibilidad terapéutica para combatir (prevenir o tratar) la obesidad y problemas relacionados. De hecho, se cree que la remodelación del tejido adiposo blanco a marrón puede conferir protección frente a la obesidad en numerosos modelos experimentales (Bonet, M.L et al., *Biochim. Biophys. Acta* 1831: 969-985, 2013).

20 El control farmacológico o nutricional de la termogénesis emerge en este contexto como una nueva estrategia terapéutica en el control de la termorregulación, del peso corporal, la obesidad y sus complicaciones relacionadas, especialmente la resistencia a la insulina y la diabetes, la dislipemia y el hígado graso. En concreto, la resistencia a la insulina es una de las alteraciones fisiopatológicas más estrechamente relacionadas con la obesidad y el sobrepeso. El exceso de grasa corporal genera inflamación del tejido adiposo y una lipotoxicidad sistémica que conduce a la resistencia a la insulina y eventualmente al fallo o disfunción de las células pancreáticas productoras de insulina, lo que origina diabetes (Saltiel, A.R., *Cell* 104:517-529, 2001). En general, la obesidad se asocia a una serie de alteraciones y síntomas característicos que suelen ir ligados, como son resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa, dislipemia e hipertensión, y que en su conjunto definen lo que se conoce como síndrome metabólico. Interesantemente también el correcto funcionamiento de la termogénesis se está revelando como muy importante para combatir (prevenir o tratar) la diabetes tipo 2 (véase proyecto DIABAT).

30 Aparte de contribuir a mantener el balance y la homeostasis energética y el peso corporal, la termogénesis juega un papel importante en la termorregulación, que consiste en la capacidad de mantener la temperatura corporal correcta bajo condiciones ambientales cambiantes. Un cuerpo sano mantiene su temperatura dentro de un estrecho margen (36-37,5°C) usando mecanismos de termorregulación. El mantenimiento de una correcta temperatura corporal es crucial para poder mantener las funciones vitales (McCallum, M. y Higgins, D. *Nurs Times.* 108(45):20-2, 2012). Desde hace muchos años se conoce la importancia de la termogénesis inducida por el frío en el tejido adiposo marrón para mantener la temperatura corporal en humanos recién nacidos (Nedergaard, J et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 293, 444-452, 2007). A raíz de los datos más recientes que indican que los humanos adultos siguen manteniendo cantidades considerables de este tejido, su papel termorregulador en la edad adulta se ha hecho también evidente (Nedergaard, J et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 293, 444-452, 2007).

A la vista de lo anterior, proporcionar métodos y composiciones para el tratamiento, prevención o control de la termorregulación (temperatura), del sobrepeso, así como de algunas de sus

complicaciones metabólicas, es un tema de enorme interés tanto terapéutico como nutricional, además del puramente estético.

5 Una insuficiente producción de calor (termogénesis) puede producirse en situaciones como exposición a ambientes fríos, dietas hipocalóricas para pérdida de peso que bajan el metabolismo basal e ingesta disminuida de alimentos, entre otros.

10 El resveratrol es un polifenol que aparece de manera natural en uvas y en otros alimentos de origen vegetal y para el que se han descrito importantes efectos sobre el metabolismo energético. En ratones alimentados con dietas hiperlipídicas la suplementación con altas dosis de resveratrol (200-400 mg/kg/día) protege del desarrollo de la obesidad y resistencia a la insulina, a la vez que aumenta el gasto energético (Lagouge, M. *et al.*, *Cell* 127:1109-1122, 2006). Además, también existen datos en humanos que muestran que la suplementación con resveratrol durante 30 días tiene efectos sobre la salud comparables a los de la restricción calórica (Timmers, S. *et al.*, *Cell Metab.* 14: 612-622, 2011).

15 La inducción de la expresión de UCP1 se ha observado *in vitro* en adipocitos blancos en estado de diferenciación tratados con resveratrol, pero no en adipocitos maduros (Picard, F. *et al.*, *Nature* 429: 771-776, 2004). Por tanto, los efectos anti-obesidad del resveratrol pueden ser debidos, en parte, a los efectos sobre el metabolismo del tejido adiposo, pero no existen evidencias *in vivo* de que produzcan un efecto inductor de la remodelación de tejido adiposo blanco en marrón (termogénesis).

20 La quercetina es un flavonoide que aparece en alimentos de origen vegetal de la dieta y para el que se han descrito efectos beneficiosos en relación a las enfermedades cardiovasculares (Arts, I. C. *et al.*, *Am. J. Clin. Nutr.* 81:317S-325S, 2005). Al igual que el resveratrol, el tratamiento con altas dosis de quercetina (250 mg/kg/día) en ratas es capaz de prevenir la ganancia de peso inducida por la ingesta de una dieta hiperlipídica (Jung, C.H., *et al.*, *Phytother Res.* 27:139-43, 2013). No existe ninguna evidencia de los efectos de la quercetina sobre el tejido adiposo marrón, la termogénesis, o sobre el proceso de marronización.

## DESCRIPCION DE LA INVENCION

35 Esta invención se basa en el efecto potenciador de la capacidad termogenética en el control de la temperatura corporal, así como en el efecto anti-obesidad de la combinación de resveratrol y quercetina que, en dosis bajas y por si solos no producen efecto, pero que en combinación sorprendentemente muestran una sinergia que resulta en efectos claros de activación del sistema de gasto energético, la capacidad de producir calor, la reducción de grasa y de peso corporal y de las complicaciones asociadas.

40 La presente invención se refiere al uso combinado de resveratrol y quercetina para el tratamiento y/o prevención de una insuficiente termogénesis y así de sus consecuencias (prevención del sobrepeso u obesidad y/o patologías asociadas al sobrepeso en mamíferos, prevención de una deficiente termorregulación y prevención de un excesivo ahorro energético por bajada del metabolismo basal o asociado a circunstancias de baja termorregulación).

Las ventajas que presenta la presente invención son:

- 50 - Mantenimiento del peso corporal;
- Pérdida de peso corporal en personas con sobrepeso/obesidad;
- Normalización de los parámetros y funciones metabólicas alteradas relacionadas con una adiposidad incrementada: hiperglucemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hígado graso e hipertensión;
- Mantenimiento de una correcta temperatura corporal, especialmente en aquellas personas

con factores de predisposición a la hipotermia;

- Mantenimiento de una tasa metabólica basal;

- Prevención de una excesiva eficiencia o aprovechamiento energético en la utilización de distintos alimentos o nutrientes, como la que se da en regímenes dietéticos bajos en calorías;

5 - Prevención de una bajada en la tasa metabólica debida a tratamientos farmacológicos, médicos o nutricionales.

Por tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere al uso combinado de al menos un estilbenoide seleccionado de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol y al menos un flavonol  
10 seleccionado de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina para la fabricación de una composición para el tratamiento y/o la prevención de la hipofunción termogénica y/o patologías asociadas a la hipofunción termogénica en mamíferos.

15 Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a una composición que comprende al menos un estilbenoide seleccionado de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol y al menos un flavonol seleccionado de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina, caracterizada porque la proporción de  
20 estilbenoide:flavonol está comprendida entre 1:0,05 y 1:10.

25 Un tercer aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la composición tal y como se ha descrito anteriormente junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 Un cuarto aspecto de la presente invención, se refiere a un complemento o suplemento alimenticio que comprende la composición tal y como se ha descrito anteriormente.

Un quinto aspecto de la presente invención se refiere a una composición cosmética que comprende la composición tal y como se ha descrito anteriormente junto con un vehículo  
35 cosméticamente aceptable.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Por tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere al uso combinado de al menos  
35 un estilbenoide seleccionado de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol y al menos un flavonol seleccionado de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina para la fabricación de una composición para el tratamiento y/o la prevención de la hipofunción termogénica y/o patologías asociadas a la hipofunción termogénica en mamíferos.  
40

Los estilbenoides son derivados hidroxilados de estilbeno. En el contexto de la invención, el estilbenoide se selecciona de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol.

45 Los flavonoles son una clase de flavonoides que tienen como esqueleto 3-hidroxiflavona. En el contexto de la invención, el flavonol se selecciona de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina.

Por el término "hipofunción termogénica" se entiende a la actividad por debajo de lo normal de la función termogénica, es decir, a una insuficiente función termogénica.  
50

Por "patologías asociadas a la hipofunción termogénica" se entiende cualquier patología derivada de una insuficiente función termogénica, como pueden ser el sobrepeso (incluida la obesidad), patologías asociadas al sobrepeso, incluida la obesidad y desórdenes de la temperatura corporal.

Por “sobrepeso” o exceso de peso en el contexto de la invención se entiende la acumulación excesiva de grasa corporal, que aparece cuando la ingesta sobrepasa al gasto energético. Por sobrepeso en el contexto de la invención se entiende todo el sobrepeso, desde el sobrepeso leve (índice de masa corporal, IMC > 25) a la obesidad clínicamente manifiesta (IMC > 30).

Por “patologías asociadas al sobrepeso” se entiende cualquier patología que pueda deberse a un estado de sobrepeso u obesidad. Ejemplos no limitantes de estas patologías son: resistencia a la insulina, diabetes tipo 2, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, hígado graso, hipertensión, enfermedad cardiovascular, apnea obstructiva del sueño, cáncer, etc.

Por “desórdenes de la temperatura corporal” se entiende cualquier alteración de la temperatura por fuera de los márgenes normales (36-37,5°C), incluyendo las hipotermias accidentales.

El término “tratamiento” tal como se entiende en la presente invención se refiere a combatir los efectos causados como consecuencia de una enfermedad o condición patológica o anómala de interés en un sujeto (preferiblemente mamífero, y más preferiblemente un humano) que incluye:

- (i) inhibir la enfermedad o condición patológica o anómala, es decir, detener su desarrollo;
- (ii) aliviar la enfermedad o la condición patológica o anómala, es decir, causar la regresión de la enfermedad o la condición patológica o anómala o su sintomatología;
- (iii) estabilizar la enfermedad o la condición patológica o anómala.

El término “prevención” tal como se entiende en la presente invención consiste en evitar la aparición de la enfermedad, es decir, evitar que se produzca la enfermedad o la condición patológica o anómala en un sujeto (preferiblemente mamífero, y más preferiblemente un humano), en particular, cuando dicho sujeto tiene predisposición por la condición patológica o anómala.

En otras palabras, un primer aspecto de la presente invención se refiere a una composición de al menos un estilbenoide seleccionado de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol y al menos un flavonol seleccionado de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina para usar en el tratamiento y/o prevención la hipofunción termogénica y/o patologías asociadas a la hipofunción termogénica en mamíferos. También se podría decir que el primer aspecto de la presente invención, está dirigido a un procedimiento de tratar y/o prevenir la hipofunción termogénica y/o patologías asociadas a la hipofunción termogénica, que comprende administrar al mamífero en necesidad del mismo una cantidad eficaz de una composición de al menos un estilbenoide seleccionado de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol y al menos un flavonol seleccionado de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina. Preferiblemente el estilbenoide comprende resveratrol y el flavonol comprende quercetina, más preferiblemente el estilbenoide es resveratrol y el flavonol es quercetina.

En una realización del primer aspecto de la presente invención, las patologías asociadas a la hipofunción termogénica se seleccionan de sobrepeso, patologías asociadas al sobrepeso y desórdenes de la temperatura corporal.

En una realización del primer aspecto de la presente invención, las patologías asociadas a la hipofunción termogénica se seleccionan de sobrepeso y patologías asociadas al sobrepeso.

En otras palabras, una realización del primer aspecto de la presente invención se refiere a una composición de al menos un estilbenoide seleccionado de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol y al menos un flavonol seleccionado de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina para usar en el tratamiento y/o prevención de sobrepeso y/o patologías asociadas al sobrepeso en mamíferos. También se

podría decir que una realización del primer aspecto de la presente invención, está dirigido a un procedimiento de tratar y/o prevenir sobrepeso y/o patologías asociadas al sobrepeso en mamíferos, que comprende administrar al mamífero en necesidad del mismo una cantidad eficaz de una composición de al menos un estilbenoide seleccionado de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol y al menos un flavonol seleccionado de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina. Preferiblemente el estilbenoide comprende resveratrol y el flavonol comprende quercetina, más preferiblemente el estilbenoide es resveratrol y el flavonol es quercetina.

En una realización del primer aspecto de la presente invención, las patologías asociadas a la hipofunción termogénica son desórdenes de la temperatura corporal.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, las patologías asociadas al sobrepeso se seleccionan de diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, hígado graso y dislipidemia.

Por "diabetes tipo 2" o "diabetes mellitus tipo 2" se entiende una enfermedad metabólica caracterizada por altos niveles de glucosa en la sangre con alteraciones del sistema insulínico.

Por "resistencia a la insulina", también llamada insulinoresistencia, se entiende a una condición fisiológica en la cual las células no responden a las acciones normales de la hormona insulina.

"Hígado graso" o "esteatosis hepática" es una condición en la que se produce una acumulación excesiva de grasa en las células del hígado (hepatocitos), lo cual puede llevar a inflamación hepática, con la posibilidad de desarrollar un daño hepático crónico (cirrosis).

Por "dislipidemia" se entiende una serie de condiciones patológicas cuyo elemento en común es una alteración del metabolismo de los lípidos, con su consecuente alteración de las condiciones de lípidos y lipoproteínas en la sangre. Preferiblemente, por dislipidemia se entiende hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención se refiere a una composición de al menos un estilbenoide seleccionado de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol y al menos un flavonol seleccionado de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina para la fabricación de una composición para el mantenimiento de la temperatura corporal (termorregulación), de interés en cualquier individuo, pero especialmente en situaciones en las que se produzcan descensos de la temperatura por debajo de lo habitual, incluyendo hipotermias.

Por "termorregulación" se entiende la capacidad de mantener la temperatura corporal adecuada (36-37,5°C) bajo condiciones ambientales cambiantes.

Por "hipotermia" se entiende un descenso involuntario de la temperatura corporal por debajo de los 35°C. Esta situación tiene diversos factores predisponentes: exposición al frío, consumo de drogas o fármacos (barbitúricos, tranquilizantes, antidepresivos, anestésicos, etanol...), procesos metabólicos (desnutrición/malnutrición, hipotiroidismo, hipopituitarismo, hipermagnesemia, hipoglucemia, acidosis láctica, cetoacidosis, hipoxemia, uremia, ...), disfunción del sistema nervioso central, así como otras causas (inmovilidad, edad avanzada, coma, psoriasis, quemaduras, lesiones medulares, transfusiones de sangre a baja temperatura...). De todas ellas, entre las causas más frecuentes de hipotermia destacan la exposición al frío, el uso de fármacos depresores del sistema nervioso central y la hipoglucemia.

En una realización del primer aspecto de la presente invención, la proporción estilbenoide:flavonol está comprendida entre 1:0,05 y 1:10, preferiblemente entre 1:1 y 1:5, y más preferiblemente la proporción estilbenoide:flavonol es 1:2. Preferiblemente el estilbenoide comprende resveratrol y el flavonol comprende quercetina, más preferiblemente el estilbenoide es resveratrol y el flavonol es quercetina.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la composición se selecciona de entre un medicamento, una composición cosmética, un complemento alimenticio.

El medicamento al que se refiere la presente invención puede ser de uso humano o veterinario. El "medicamento de uso humano" es toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades para el tratamiento o prevención de enfermedades en seres humanos o que pueda usarse en seres humanos o administrarse a seres humanos con el fin de restaurar, corregir o modificar las funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico médico. El "medicamento de uso veterinario" es toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades curativas o preventivas con respecto a las enfermedades animales o que pueda administrarse al animal con el fin de restablecer, corregir o modificar sus funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico veterinario. También se considerarán "medicamentos veterinarios" las "premezclas para piensos medicamentosos" elaboradas para ser incorporadas a un pienso.

En la presente invención se entiende como "cosmético" a aquellas preparaciones constituidas por sustancias naturales o sintéticas o sus mezclas, de uso externo en las diversas partes del cuerpo humano: piel, sistema capilar, uñas, labios, órganos genitales externos, dientes y membranas mucosas de la cavidad oral, preferiblemente piel, con el objeto exclusivo o principal de higienizarlas, perfumarlas, cambiarles su apariencia, protegerlos o mantenerlos en buen estado y/o corregir olores corporales pero no para producir un efecto terapéutico. La composición cosmética puede contener excipientes y/o vehículos farmacéuticamente y farmacológicamente aceptables tal como se ha descrito en párrafos anteriores. Por otra parte la composición cosmética puede presentarse en cualquier forma adaptada a la administración tópica.

Por "complementos alimenticios", también conocidos como "complementos dietéticos" o "suplementos dietéticos o alimenticios" se entienden los preparados que tienen como objetivo complementar la dieta y aportar nutrientes, como vitaminas, minerales, ácidos grasos y aminoácidos. En el contexto de la invención, por "complementos alimenticios" también se entienden alimentos funcionales, que son alimentos que son elaborados no sólo por sus características nutricionales sino también para cumplir una función específica como puede ser mejorar la salud y/o reducir el riesgo de contraer o desarrollar enfermedades. En los alimentos funcionales la composición se puede ver acompañada de otros componentes como por ejemplo pero no limitantemente leche, yogur, agua, harinas, chocolate, cereales y zumos de frutas.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, el estilbenoide se administra en una dosis de entre 1 mg/kg/día y 150 mg/kg/día, preferiblemente entre 10mg/kg/día y 20mg/kg/día.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la flavonol se administra en una dosis de entre 2 mg/kg/día y 300 mg/kg/día, preferiblemente de entre 25 mg/kg/día y 35 mg/kg/día.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, el estilbenoide se administra en una dosis de entre 1 mg/kg/día y 150 mg/kg/día y el flavonol se administra en una dosis de



entre 2 mg/kg/día y 300 mg/kg/día, preferiblemente el estilbenoide se administra es una dosis de entre 10mg/kg/día y 20mg/kg/día y la flavonol se administra en una dosis de entre 25 mg/kg/día y 35 mg/kg/día. Preferiblemente el estilbenoide comprende resveratrol y el flavonol comprende quercetina, más preferiblemente el estilbenoide es resveratrol y el flavonol es quercetina.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la composición además comprende al menos un antioxidante seleccionado de vitamina C, vitamina D, vitamina E, carotenoides, polifenoles, ácido lipoico.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la composición se encuentra en una forma adecuada para su administración por vía oral, por vía tópica o vía inyectable, preferiblemente la composición se encuentra en una forma adecuada para su administración por vía oral o por vía tópica.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la composición se administra por vía oral.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la composición se administra por vía oral y la composición es un medicamento. Preferiblemente, la composición se encuentra en una forma farmacéutica seleccionada de comprimidos, pastillas, cápsulas, polvos, gránulos, jarabes, suspensiones, soluciones y gotas.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la composición es un complemento alimenticio.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la composición se administra por vía tópica.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la composición se administra por vía tópica y es una composición cosmética.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la composición se administra como crema, loción, gel, ungüento, pomada, linimento, solución o aerosol.

Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a una composición que comprende al menos un estilbenoide seleccionado de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol y al menos un flavonol seleccionado de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina,, caracterizada porque la proporción de estilbenoide:flavonol está comprendida entre 1:0,05 y 1:10. Preferiblemente el estilbenoide comprende resveratrol y el flavonol comprende quercetina, más preferiblemente el estilbenoide es resveratrol y el flavonol es quercetina.

En una realización del segundo aspecto de la presente invención, la proporción estilbenoide:flavonol está comprendida entre 1:1 y 1:5, preferiblemente la proporción estilbenoide:flavonol es 1:2. Preferiblemente el estilbenoide comprende resveratrol y el flavonol comprende quercetina, más preferiblemente el estilbenoide es resveratrol y el flavonol es quercetina.

En otra realización del segundo aspecto de la presente invención, la composición además comprende al menos un antioxidante seleccionado de vitamina C, vitamina D, vitamina E, carotenoides, polifenoles, ácido lipoico.

Por el término "antioxidante" se entiende una composición capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que comienzan reacciones en cadena que dañan células.

- 5 Un tercer aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la composición tal y como se ha descrito anteriormente junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La composición farmacéutica puede comprender un "vehículo" o portador, que es preferiblemente una sustancia inerte. La función del vehículo es facilitar la incorporación de otros compuestos, permitir una mejor dosificación y administración o dar consistencia y forma a la composición farmacéutica. Por tanto, el vehículo es una sustancia que se emplea para diluir cualquiera de los componentes de la composición farmacéutica de la presente invención hasta un volumen o peso determinado; o bien que aún sin diluir dichos componentes es capaz de permitir una mejor dosificación y administración o dar consistencia y forma al medicamento. Además, el excipiente y el vehículo deben ser farmacológicamente aceptables, es decir, que el excipiente y el vehículo esté permitido y evaluado de modo que no cause daño a los organismos a los que se administra.

- 20 En una primera realización del tercer aspecto de la presente invención, la composición farmacéutica se encuentra en una forma farmacéutica seleccionada de comprimidos, pastillas, cápsulas, polvos, gránulos, jarabes, suspensiones, soluciones y gotas.

Un cuarto aspecto de la presente invención, se refiere a un complemento alimenticio que comprende la composición tal y como se ha descrito anteriormente.

En una realización del cuarto aspecto de la presente invención, el complemento alimenticio se encuentra en una forma seleccionada de comprimidos, pastillas, cápsulas, polvos, gránulos, jarabes, suspensiones, soluciones, gotas y alimento funcional.

Un quinto aspecto de la presente invención se refiere a una composición cosmética que comprende la composición tal y como se ha descrito anteriormente vehículo cosméticamente aceptable.

- 35 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

#### DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

45 Fig. 1. Incremento de peso por grupo. I(g): Incremento de peso en gramos; Control: grupo control; RSV: grupo tratado con resveratrol (15 mg/kg/día); Q: grupo tratado con quercetina (30 mg/kg/día); RSV+Q: grupo tratado con 15 mg/kg/día de resveratrol y 30 mg/kg/día de quercetina. Los datos con letras diferentes (a, b) son estadísticamente distintos (test de Newman-Keuls,  $P < 0,05$ ).

50 Fig. 2. Peso de tejido adiposo por depósito por grupo. PTA (g): Peso de tejido adiposo en gramos; I: tejido adiposo inguinal; Pr: tejido adiposo perirrenal; M: tejido adiposo mesentérico; E: tejido adiposo epididimal. Control: grupo control; RSV: grupo tratado con resveratrol (15 mg/kg/día); Q: grupo tratado con quercetina (30 mg/kg/día); RSV+Q: grupo tratado con 15 mg/kg/día de resveratrol y 30 mg/kg/día de quercetina. Los datos con letras diferentes (a, b)

son estadísticamente distintos (test de Newman-Keuls,  $P < 0,05$ ).

Figs. 3A y 3B. Diámetro de los adipocitos por depósito por grupo. DPr: diámetro de los adipocitos del tejido perirrenal; DI: diámetro de los adipocitos del tejido inguinal. Control: grupo control; RSV: grupo tratado con resveratrol (15 mg/kg/día); Q: grupo tratado con quercetina (30 mg/kg/día); RSV+Q: grupo tratado con 15 mg/kg/día de resveratrol y 30 mg/kg/día de quercetina. Los datos con letras diferentes (a, b) son estadísticamente distintos (test de Newman-Keuls,  $P < 0,05$ ).

Figs. 4A y 4B. Número de adipocitos por depósito por grupo. A Pr (%): número de adipocitos por grupo en el tejido perirrenal en %; A I (%): número de adipocitos por grupo en el tejido inguinal en %. Control: grupo control; RSV: grupo tratado con resveratrol (15 mg/kg/día); Q: grupo tratado con quercetina (30 mg/kg/día); RSV+Q: grupo tratado con 15 mg/kg/día de resveratrol y 30 mg/kg/día de quercetina.

Fig. 5. Micrografías de secciones de tejido adiposo perirrenal. Las secciones están teñidas con hematoxilina/eosina. \*: adipocitos blancos uniloculares; →: adipocitos multiloculares "brite". Control: grupo control; RSV: grupo tratado con resveratrol (15 mg/kg/día); Q: grupo tratado con quercetina (30 mg/kg/día); RSV+Q: grupo tratado con 15 mg/kg/día de resveratrol y 30 mg/kg/día de quercetina.

Fig. 6. Micrografías de tinciones inmunohistoquímica para la UCP1 en el tejido adiposo retroperitoneal. \*: adipocitos blancos uniloculares, UCP1 negativos; → (flecha continua): adipocitos multiloculares "brite", UCP1 positivos (proteína teñida); → (flecha discontinua): adipocitos multiloculares "brite", UCP1 negativos. Control: grupo control; RSV: grupo tratado con resveratrol (15 mg/kg/día); Q: grupo tratado con quercetina (30 mg/kg/día); RSV+Q: grupo tratado con 15 mg/kg/día de resveratrol y 30 mg/kg/día de quercetina.

Fig. 7A y 7B. Niveles de expresión de los ARNm para *Cidea* y *Hoxc9* (marcadores de marronización) en el depósito de tejido adiposo blanco perirrenal usando ARNm para beta-actina como control interno, en unidades arbitrarias, dando valor 1 al grupo control. ARNm *Hoxc9*: niveles de expresión para *Hoxc9*; ARNm *Cidea*: niveles de expresión para *Cidea*. Los datos con letras diferentes (a, b) son estadísticamente distintos (test de Newman-Keuls,  $P < 0,05$ ). \*;  $P < 0,01$  RSV+Q vs Control, *t*-test.

Figs. 8A, 8B y 8C. Parámetros relacionados con la sensibilidad a la insulina en ratas. G (mM): glucosa en mM; Ins (mU/l): insulina en mU/l; HOMA-IR: índice HOMA-IR. Control: grupo control; RSV: grupo tratado con resveratrol (15 mg/kg/día); Q: grupo tratado con quercetina (30 mg/kg/día); RSV+Q: grupo tratado con 15 mg/kg/día de resveratrol y 30 mg/kg/día de quercetina. Los datos con letras diferentes (a, b) son estadísticamente distintos (test de Newman-Keuls,  $P < 0,05$ ).

Fig. 9. Concentración de triacilglicéridos circulantes. T(mg/dl): triacilglicéridos en mg/dl; Control: grupo control; RSV: grupo tratado con resveratrol (15 mg/kg/día); Q: grupo tratado con quercetina (30 mg/kg/día); RSV+Q: grupo tratado con 15 mg/kg/día de resveratrol y 30 mg/kg/día de quercetina. Los datos con letras diferentes (a, b) son estadísticamente distintos (test de Newman-Keuls,  $P < 0,05$ ).

## EJEMPLOS

### **Ejemplo 1. Eficacia de una composición de la invención sobre la reducción del sobrepeso en ratas alimentadas con dieta obesogénica.**

Las dietas obesogénicas consisten normalmente en dietas hipercalóricas e hiperlipídicas, que

administradas a animales de experimentación son capaces de inducir un incremento de peso y la aparición de obesidad.

5 Se utilizaron ratas Wistar (*Harlan Laboratories*) de 5 semanas de edad al inicio del experimento. Fueron estabuladas a 22°C con un periodo de luz/oscuridad de 12 horas. Los animales se alimentaron *ad libitum* con una dieta hipergrasa (*OpenSource Diets Inc.*, Ref. D12451M) que contenía 4,73 kcal/g de dieta, y con un 45% de las calorías procedentes de la grasa. Los animales se dividieron en cuatro grupos (Tabla 1).

10 Tabla 1. Grupos del ejemplo 1.

Grupo	Tamaño grupo (n)	Composición
Control	6	Vehículo
Resveratrol (RSV)	6	15 mg/kg/día resveratrol
Quercetina (Q)	6	30 mg/kg/día quercetina
Resveratrol + Quercetina (RSV+Q)	9	15 mg/kg/día resveratrol + 30 mg/kg/día quercetina

Cada grupo recibió diariamente por vía oral y durante 6 semanas las composiciones indicadas en la tabla.

15 Los polifenoles fueron añadidos diariamente en la superficie de la dieta calculando la cantidad necesaria para conseguir las dosis indicadas, en función del peso de cada rata. El grupo control recibió una cantidad equivalente de etanol. Se hizo un seguimiento del peso corporal y la ingesta de los animales durante todo el tratamiento. Al final del periodo experimental los animales fueron sacrificados por exanguinación mediante punción cardiaca tras anestesia con hidrato de cloral (1 ml al 4%/g peso corporal), procediéndose a la recogida de sangre y tejidos,  
20 y al peso de los tejidos adiposos. La significancia estadística de los efectos observados fue analizada mediante el test de Newman-Keuls. El umbral de significancia se estableció a  $P < 0,05$ .

25 El incremento de peso de los grupos está representado en la tabla 2 y en la figura 1.

Tabla 2. Incremento de peso por grupo.

	Incremento de peso (g)	Error estándar de la media
Control	179,8	7,4
RSV	169,2	6,3
Q	162,2	6,9
RSV+Q	149,3	9,3

30 Tal y como se puede apreciar tanto en la tabla como en la figura, el incremento de peso corporal de los animales tratados con la composición de la invención tuvieron un incremento de peso un 7% menor que los controles. Se puede ver que el tratamiento con únicamente resveratrol o únicamente quercetina produce una tendencia a un menor incremento, pero que no resultó estadísticamente diferente respecto a los animales control.

35 Todos los depósitos adiposos seleccionados, tanto subcutáneo (inguinal, (I)) como viscerales (perirrenal(Pr), mesentérico(M) y epididimal (E)) fueron significativamente menores en los animales tratados con la composición de la invención (Tabla 3).

Tabla 3. Peso de tejido adiposo por depósito por grupo.

Tejido adiposo	Peso de tejido adiposo (g)							
	Control	Error estándar de la media	RSV	Error estándar de la media	Q	Error estándar de la media	RSV+Q	Error estándar de la media
I	13,0	0,8	12,4	1,3	11,7	1,1	10,8	0,8
Pr	12,8	1,1	11,9	0,2	11,8	0,9	9,8	0,9
M	4,3	0,2	4,4	0,1	4,0	0,5	3,6	0,3
E	10,2	0,4	8,9	0,8	8,6	0,7	8,8	0,5

Los datos están también representados en la figura 2.

- 5 Estos resultados indican que la composición de la invención reduce la ganancia de peso corporal en animales alimentados con una dieta obesogénica y reduce la adiposidad corporal, con un efecto sinérgico que excede a la suma de los efectos de los componentes individuales de la combinación por separado.

10 **Ejemplo 2. Eficacia de una composición de la presente invención sobre la reducción del tamaño de adipocitos blancos en ratas**

Se emplearon los mismos grupos experimentales del ejemplo 1. El tamaño (diámetro) de los adipocitos blancos uniloculares y su distribución por tamaño se determinó en los depósitos de tejido adiposo blanco perirrenal e inguinal seleccionados como representativos de la grasa visceral y subcutánea, respectivamente. Para ello se fijaron secciones de ambos tejidos en paraformaldehído al 4% en tampón fosfato salino (PBS) durante una noche a 4°C. Los tejidos fijados se deshidrataron con alcoholes (etanol) de graduación creciente, se aclararon en xileno y se incluyeron en parafina. Se cortaron secciones de 5 µm de grosor que se montaron en portaobjetos y se tiñeron con hematoxilina y eosina. Para medir el tamaño de los adipocitos blancos uniloculares en las secciones teñidas se tomaron imágenes con microscopía óptica que fueron digitalizadas, para lo cual se utilizó un microscopio Zeiss Axioscop 2 acoplado a una cámara digital AxioCam ICc3 (Carl Zeiss, España) Los análisis morfológicos se realizaron en 6-9 animales por grupo. En concreto, se midió el diámetro de un total de aproximadamente 1000 adipocitos por grupo experimental mediante el programa informático Axio Vision (Carl Zeiss, España). Posteriormente se representaron los adipocitos distribuidos según su tamaño a partir de los tamaños de los adipocitos individuales. La significancia estadística de los efectos observados fue analizada mediante el test de Newman-Kels. El umbral de significancia se estableció a  $P < 0,05$ .

30 El tratamiento con una composición de resveratrol resultó en un menor tamaño de los adipocitos blancos del depósito perirrenal, y el tratamiento con quercetina, en un menor tamaño de los adipocitos en el tejido inguinal. Sin embargo, los animales tratados con una composición de la invención (RSV+Q) presentaron adipocitos blancos más pequeños en los dos depósitos de tejido adiposo analizados, tanto en el visceral (perirrenal) como en el subcutáneo (inguinal). Los datos se presentan en la tabla 4 y en las figuras 3A y 3B.

Tabla 4. Diámetro de los adipocitos por tejido por grupo.

	Diámetro de los adipocitos en tejido perirrenal	Error estándar de la media	Diámetro de los adipocitos en tejido inguinal	Error estándar de la media
Control	83,14	2,65	64,50	1,29
RSV	69,92	3,50	55,67	3,10
Q	74,53	3,38	52,34	3,46
RSV+Q	73,46	2,72	51,78	3,71

- 5 Además, si se observa la distribución de los adipocitos uniloculares por tamaño, se puede ver cómo, en ambos depósitos grasos, los animales tratados con una composición de la invención tienen una menor población de adipocitos de mayor tamaño en comparación con los animales del grupo control. Los datos se presentan en las tablas 5 y 6 y en las figuras 4A y 4B.

Tabla 5. Diámetro de los adipocitos por grupo en el tejido perirrenal.

	Diámetro					
	0-30 $\mu\text{m}$	31-60 $\mu\text{m}$	61-90 $\mu\text{m}$	91-120 $\mu\text{m}$	121-150 $\mu\text{m}$	>150 $\mu\text{m}$
Control	3,2	20	36,2	33,8	6,7	0,14
RSV	8	30,6	39,6	19,5	1,87	0,11
Q	8,7	23,8	38,4	26,5	2,69	0
RSV+Q	6,12	26,9	43	21,8	2,13	0,18

10

Tabla 6. Diámetro de los adipocitos por grupo en el tejido inguinal.

	Diámetro				
	0-25 $\mu\text{m}$	26-50 $\mu\text{m}$	51-75 $\mu\text{m}$	76-100 $\mu\text{m}$	101-125 $\mu\text{m}$
Control	0,2	23,4	50,2	23,1	2,1
RSV	5,5	38,4	44,9	10,4	0,9
Q	7,7	47,1	35,4	8,2	1,5
RSV+Q	5,7	50,1	36,6	7,7	0

- 15 El tratamiento produjo un descenso en la población de adipocitos mayores de 90 y 50  $\mu\text{m}$ , en los depósitos grasos perirrenal e inguinal, respectivamente. Por tanto, podemos decir que el efecto reductor de la adiposidad observado en el Ejemplo 1 va asociado a una disminución del tamaño de los adipocitos blancos y, en consecuencia a una reducción del contenido de grasa en estos adipocitos.

20 **Ejemplo 3. Efecto de la suplementación con una composición de la presente invención sobre la remodelación del tejido adiposo blanco a marrón y la capacidad termogénica en ratas.**

- 25 Se empleó una composición que contenía una mezcla de resveratrol y quercetina en una dosificación de 15 mg/kg/día para el RSV y de 30 mg/kg/día para la Q.

30 Se emplearon animales tratados diariamente con una composición conteniendo resveratrol y quercetina tal cual está explicado en el ejemplo1 . Diferentes depósitos de tejido adiposo blanco visceral (perirrenal, mesentérico y epididimal) y el depósito subcutáneo (inguinal) fueron fijados en paraformaldehído, deshidratados e incluidos en parafina. Se cortaron secciones de 5  $\mu\text{m}$  de grosor que se montaron en portaobjetos. Secciones de los diferentes tejidos, teñidas con hematoxilina y eosina fueron observadas al microscopio óptico para visualizar la morfología e

identificar la presencia de adipocitos marrones/*brite* multiloculares.

En aquellas muestras en las que se identificó la presencia de adipocitos marrones/*brite* se determinó también la presencia de UCP1 (responsable molecular de la termogénesis) mediante inmunohistoquímica mediante la técnica de avidina-biotina (Hsu, S.M. *et al.*, J. *Histochem. Cytochem.* 29: 577-80, 1981). De manera sintética, las secciones de tejido incluidas en parafina se incubaron durante una noche a 4°C con un anticuerpo policlonal primario anti-UCP1 de conejo (GeneTex, Inc) diluido 1:150 en PBS. Posteriormente las secciones se incubaron con el correspondiente anticuerpo secundario biotinilado anti-IgG de rata (Vector Laboratories, USA) diluido 1:200 y, posteriormente, con el complejo ABC (Vectastain ABC kit, Vector). La actividad peroxidasa se reveló utilizando 3,3'-diaminobencidina hidrocloreuro como cromógeno (Sigma, España) en agua. Las secciones fueron teñidas también con hematoxilina y montadas en Eukitt (Kindler, Alemania). Se realizaron controles negativos por omisión del anticuerpo primario. Las imágenes se adquirieron con un microscopio Zeiss Axioskop 2 equipado con una cámara digital (Carl Zeiss, España).

Para los análisis morfológicos se utilizaron 6-9 animales por grupo experimental.

El tratamiento durante 6 semanas con una composición de la invención, conteniendo 15 mg/kg/día de resveratrol y 30 mg/kg/día de quercetina produjo una remodelación del tejido adiposo perirrenal de rata, con la aparición de abundantes adipocitos marrones/*brite* multiloculares. En la figura 5 puede observarse la presencia de adipocitos blancos uniloculares intercalados con numerosos adipocitos multiloculares. En el tejido adiposo perirrenal de animales tratados con 15 mg/kg/día de resveratrol, o en los animales tratados con 30 mg/kg/día de quercetina no se encontraron adipocitos multiloculares o bien fueron escasos.

Cuando se analizó la presencia de UCP1 en las muestras de tejido adiposo perirrenal se pudo observar que los adipocitos multiloculares expresaban dicha proteína desacoplante, que es la responsable molecular de la termogénesis (figura 6).

Por tanto, una combinación de resveratrol y quercetina dentro del rango de concentración que se propone en la presente invención, es capaz de promover la remodelación de parte del tejido adiposo blanco a marrón, induciendo la aparición de adipocitos multiloculares que expresan UCP1 y de aumentar la capacidad termogénica del animal. Esta marronización del tejido adiposo blanco explica los efectos reductores de adiposidad promovida por la mezcla de resveratrol y quercetina. Los resultados permiten afirmar que las composiciones de la presente invención aumentan la capacidad termogénica del tejido adiposo y el gasto energético.

#### **Ejemplo 4. Eficacia de una composición de la presente invención sobre la inducción de la expresión de marcadores moleculares de adipocitos marrones/"brite" en tejido adiposo blanco en ratones**

Se estudió la inducción de la expresión génica de un marcador específico de adipocitos "brite", el *Hoxc9* ("homeobox C92), y de un marcador selectivo de adipocitos marrones, el *Cidea* (del inglés, "Cell death-inducing DNA fragmentation factor-alpha-like effector A") (Walden, T.B., *et al.*, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 302: E19-E31, 2012).

Se emplearon los mismos grupos experimentales del ejemplo 1. Se analizó la expresión de ARNm de *Hoxc9* y *Cidea*, genes relacionados con la marca molecular de adipocitos "brite" y de adipocitos marrones, respectivamente, en el tejido adiposo blanco perirrenal. Los niveles de ARNm se determinaron por PCR (*polymerase chain reaction*) a tiempo real, a partir de ARN total extraído de los tejidos con reactivo Trizol y retrotranscrito con transcriptasa inversa, utilizando ARNm de beta-actina como control interno. Las parejas de primers específicas de cada gen se sintetizaron comercialmente por Integrated Technologies ADN (Bélgica). El

análisis de expresión génica se realizó usando el método comparativo del número de ciclos de amplificación (Ct). La amplificación de la secuencia de beta-actina se realizó en paralelo y se utilizó para normalizar los valores obtenidos para los genes estudiados. Los resultados se expresaron utilizando el método de Livak y Schmittgen (Livak, K.J.; Schmittgen, T.D., *Methods* 25:402-408, 2001). La significancia estadística de los efectos observados fue analizada mediante el test de Newman-Keuls. El umbral de significancia se estableció a  $P < 0,05$ .

El tratamiento durante 6 semanas con una composición de la invención produjo un aumento en la expresión de los marcadores de adipocitos marrones y "brite", *Cidea* y *Hoxc9*, respectivamente en el tejido adiposo perirrenal, tal y como se puede ver en la tabla 7 y en las figuras 7A y 7B.

Tabla 7. Niveles de expresión de los ARNm (ARNmensajeros) para *Hoxc9* y *Cidea* en el depósito de tejido adiposo blanco perirrenal. Los niveles de ARNm para beta-actina se utilizaron como control interno. Los resultados están expresados en unidades arbitrarias, dando valor 1 al grupo control.

	Hoxc9	Error estándar de la media	Cidea	Error estándar de la media
Control	1,00	0,09	1,00	0,80
RSV	1,17	0,26	1,50	0,31
Q	1,67	0,39	2,23	0,43
RSV+Q	1,81	0,24	3,73	0,33

**Ejemplo 5. Efecto de la suplementación con una composición de la presente invención sobre parámetros relacionados con la sensibilidad a la insulina en ratas.**

Se emplearon animales estabulados y alimentados en las mismas condiciones que en el ejemplo 1. En este caso se utilizaron animales de dos grupos experimentales, que recibieron diariamente por vía oral y durante 6 semanas: vehículo (grupo control, n=6 animales) o una composición de la presente invención (15 mg/kg/día de resveratrol y 30 mg/kg/día de quercetina) (grupo RSV+Q, n=9 animales).

A los animales se les extrajo sangre tras un ayuno de 12 h, para la determinación de los niveles circulantes de glucosa en suero (utilizando un kit de Biosystems) e insulina (mediante un kit de ELISA, distribuido por Mercodia). Para cada animal se calculó el índice HOMA-IR (del inglés, *homeostatic model assessment for insulin resistance*), que es un índice bien aceptado indicativo de la sensibilidad relativa a la insulina, utilizando la fórmula de Matthews (Matthews *et al.*, *Diabetologia* 28: 412-419, 1985):

$$\text{HOMA-IR} = \text{glucosa en ayunas (mM)} \times \text{insulina en ayunas (mU/l)} / 22,5$$

Cuanto menor el índice HOMA-IR, menor es la resistencia a la insulina y por tanto mayor la sensibilidad a esta hormona. La significancia estadística de los efectos observados fue analizada mediante el test de la *t* de Student. El umbral de significancia se estableció a  $P < 0,05$ .

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 8 y en las figuras 8A, 8B, 8C.



Tabla 8. Niveles circulantes de glucosa en mM (G) e insulina en mU/l (Ins) e índice HOMA-IR.

	G (mM)	Error estándar de la media	Ins (mU/l)	Error estándar de la media	HOMA-IR	Error estándar de la media
Control	6,6	0,2	45,8	8,8	13,5	2,6
RSV+Q	6	0,3	24,8	3	6,4	1,3

**Ejemplo 6. Efecto de la suplementación por vía oral con una composición de la presente invención sobre los niveles de triacilgliceroles en ratas**

5

Se utilizaron los mismos grupos experimentales del ejemplo 5. Se determinaron los niveles de triglicéridos circulantes en suero de ratas ayunadas preparado a partir de sangre extraída por punción cardíaca, mediante un ensayo enzimático colorimétrico comercial (Sigma). La significancia estadística de los efectos observados fue analizada mediante el test de la *t* de Student. El umbral de significancia se estableció a  $P < 0,05$ .

10

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 9 y en la figura 9.

Tabla 9. Niveles circulantes de triacilgliceroles en mg/dl.

15

	triacilgliceroles (mg/dL)	Error estándar de la media
Control	53,4	1,5
RSV	35,8	0,7
Q	42,7	2,5
RSV+Q	30,6	3

Como se puede ver en la tabla 9 y figura 9, los animales suplementados con la composición de la invención presentaron menor trigliceridemia que los controles. En consecuencia, las composiciones de la presente invención pueden ser de gran utilidad en el tratamiento o

20

prevención de la dislipidemia y en reducir la concentración de triglicéridos en sangre.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso combinado de al menos un estilbenoide seleccionado de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol y al menos un flavonol seleccionado de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina para la fabricación de una composición para el tratamiento y/o la prevención de la hipofunción termogénica y/o patologías asociadas a la hipofunción termogénica en mamíferos.
- 10 2. Uso según la reivindicación anterior, donde las patologías de la hipofunción termogénica se seleccionan de sobrepeso, incluida la obesidad, patologías asociadas al sobrepeso y desórdenes de la temperatura corporal.
- 15 3. Uso según la reivindicación anterior, donde las patologías asociadas al sobrepeso se seleccionan de diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, hígado graso y dislipidemia.
4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la proporción estilbenoide:flavonol está comprendida entre 1:0,05 y 1:10.
- 20 5. Uso según la reivindicación anterior, donde la proporción estilbenoide:flavonol está comprendida entre 1:1 y 1:5.
6. Uso según la reivindicación anterior, donde la proporción estilbenoide:flavonol es 1:2.
- 25 7.- Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la composición se selecciona de entre un medicamento, una composición cosmética, un complemento alimenticio.
8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde el estilbenoide se administra en una dosis de entre 1 mg/kg/día y 150 mg/kg/día.
- 30 9. Uso según la reivindicación anterior, donde el estilbenoide se administra en una dosis de entre 10mg/kg/día y 20mg/kg/día.
10. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la flavonol se administra en una dosis de entre 2 mg/kg/día y 300 mg/kg/día.
- 35 11. Uso según la reivindicación anterior, donde la flavonol se administra en una dosis de entre 25 mg/kg/día y 35 mg/kg/día.
- 40 12. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el estilbenoide es resveratrol y el flavonol es quercetina.
13. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición además comprende al menos un antioxidante seleccionado de vitamina C, vitamina D, vitamina E, carotenoides, polifenoles, ácido lipoico.
- 45 14. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición se encuentra en una forma adecuada para su administración por vía oral o por vía tópica.
15. Uso según la reivindicación anterior donde la composición se administra por vía oral.
- 50 16. Uso según la reivindicación anterior donde la composición es un medicamento.

17. Uso según la reivindicación anterior, donde la composición se encuentra en una forma farmacéutica seleccionada de comprimidos, pastillas, cápsulas, polvos, gránulos, jarabes, suspensiones, soluciones y gotas.
- 5 18. Uso según la reivindicación 15, donde la composición es un complemento alimenticio.
19. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, donde la composición se administra por vía tópica.
- 10 20. Uso según la reivindicación anterior, donde la composición es una composición cosmética.
21. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 19 o 20, donde la composición se administra como crema, loción, gel, ungüento, pomada, linimento, solución o aerosol.
- 15 22. Composición que comprende al menos un estilbenoide seleccionado de resveratrol, pterostilbeno y piceatannol y al menos un flavonol seleccionado de quercetina, quercetina 4'-O-glucósido, quercetina 3,4' diglucósido, kaempferol, miricetina e isorhamnetina, caracterizada porque la proporción de estilbenoide:flavonol está comprendida entre 1:0,05 y 1:10.
- 20 23. Composición según la reivindicación anterior, donde la proporción estilbenoide:flavonol está comprendida entre 1:1 y 1:5.
24. Composición según la reivindicación anterior, donde la proporción estilbenoide:flavonol es 1:2.
- 25 25. Composición cualquiera de las reivindicaciones 22 a 24, donde el estilbenoide es resveratrol y el flavonol es quercetina.
26. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 22 a 25 que además comprende al menos un antioxidante seleccionado de vitamina C, vitamina D, vitamina E, carotenoides, polifenoles, ácido lipoico.
- 30 27. Composición farmacéutica que comprende la composición según cualquiera de las reivindicaciones 22 a 26 junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 35 28. Composición farmacéutica según la reivindicación anterior donde la composición farmacéutica se encuentra en una forma farmacéutica seleccionada de comprimidos, pastillas, cápsulas, polvos, gránulos, jarabes, suspensiones, soluciones y gotas.
- 40 29. Complemento alimenticio que comprende la composición según cualquiera de las reivindicaciones 22 a 26.
30. Complemento alimenticio según la reivindicación anterior, donde el complemento alimenticio se encuentra en una forma seleccionada de comprimidos, pastillas, cápsulas, polvos, gránulos, jarabes, suspensiones, soluciones, gotas y alimento funcional.
- 45 31. Composición cosmética que comprende la composición según cualquiera de las reivindicaciones 22 a 26 junto con un vehículo cosméticamente aceptable.

FIG. 1

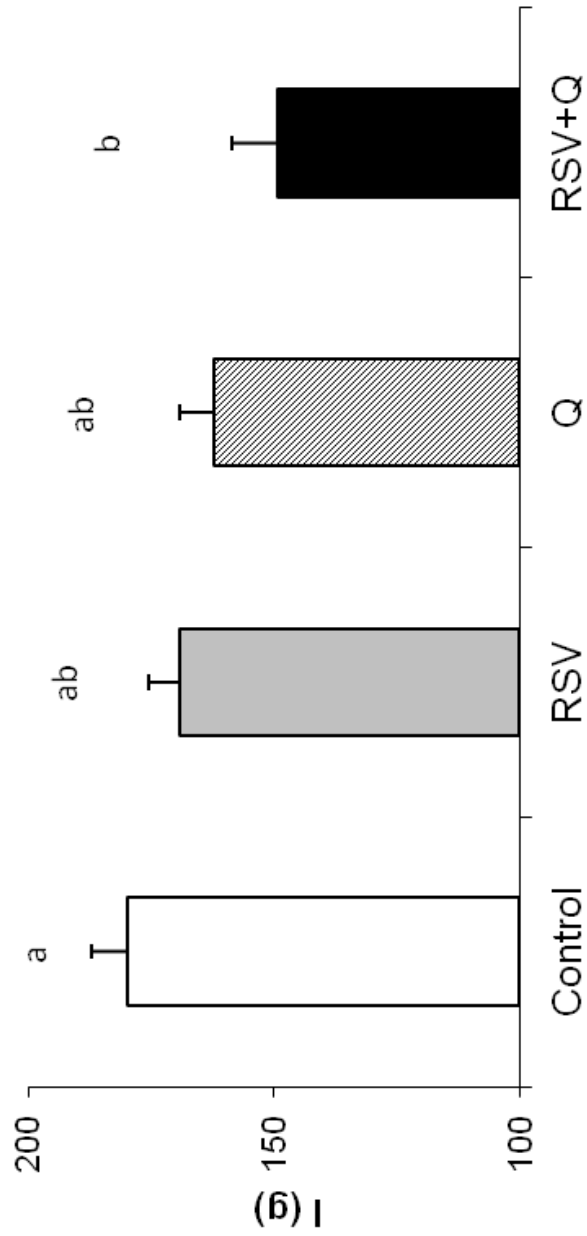


FIG. 2

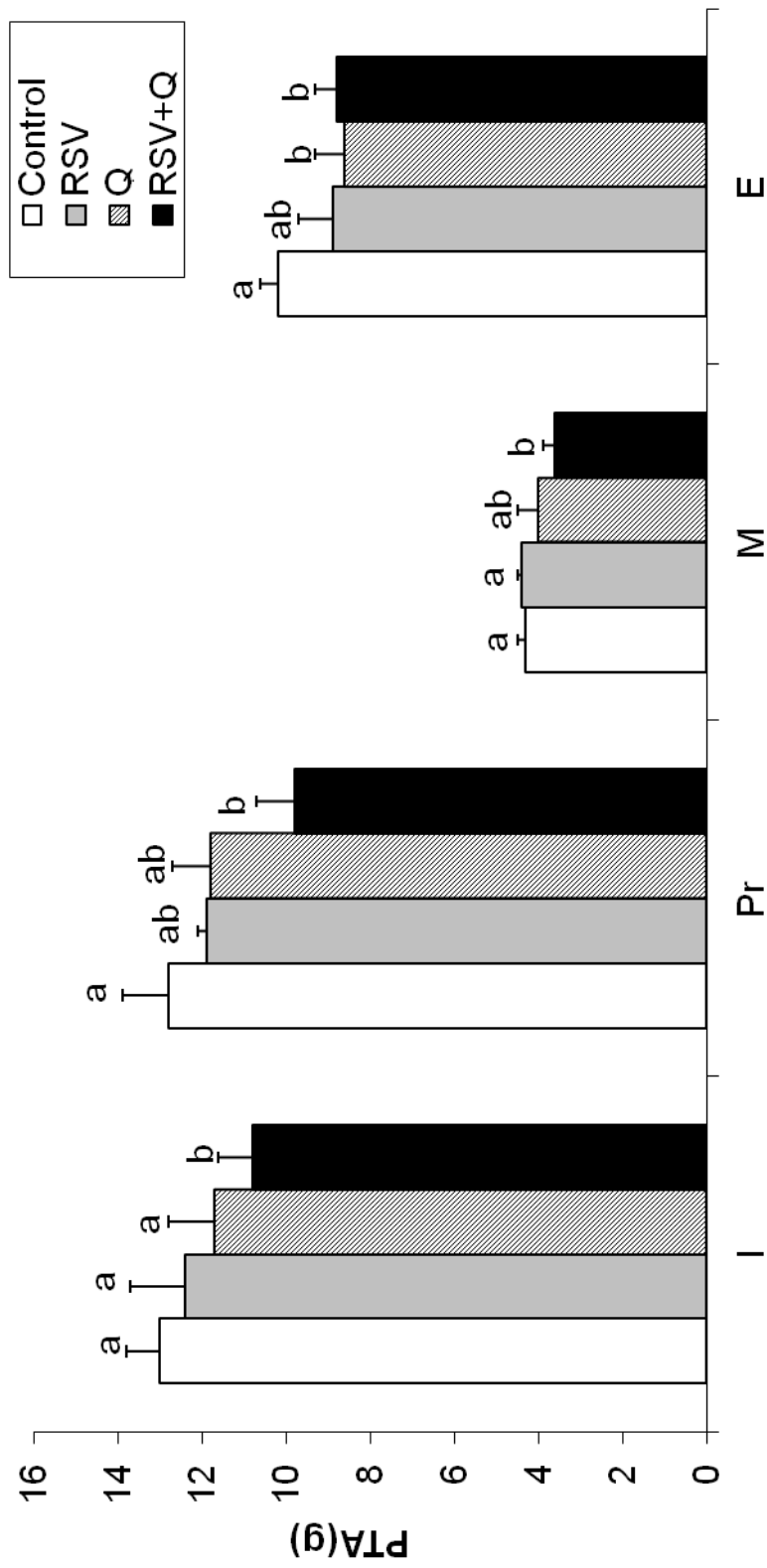


FIG. 3A

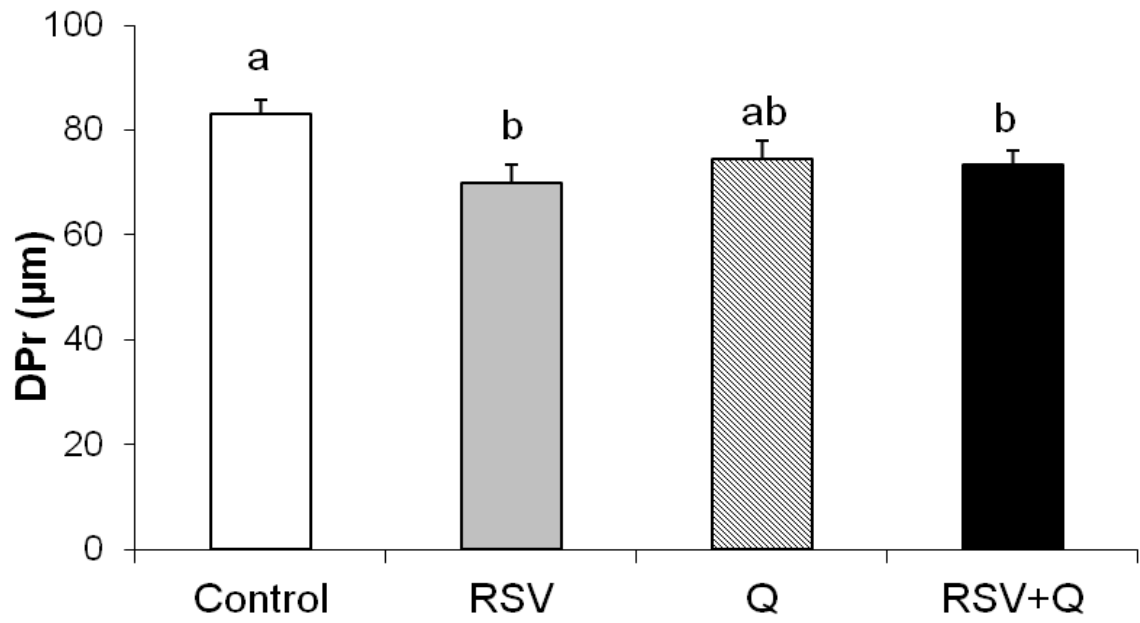


FIG. 3B

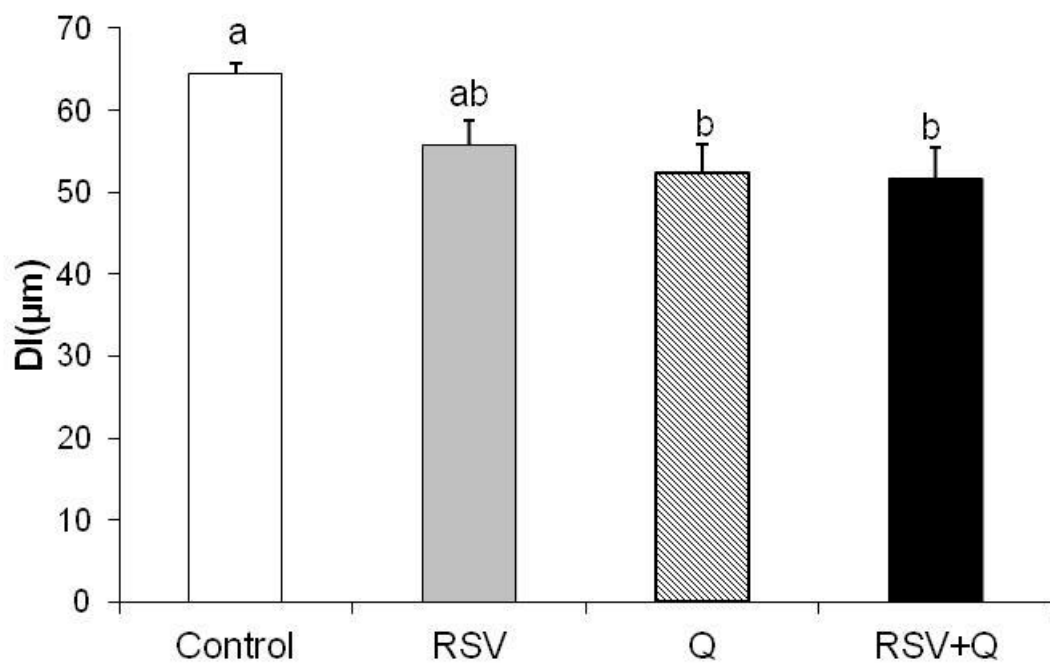


FIG.4A

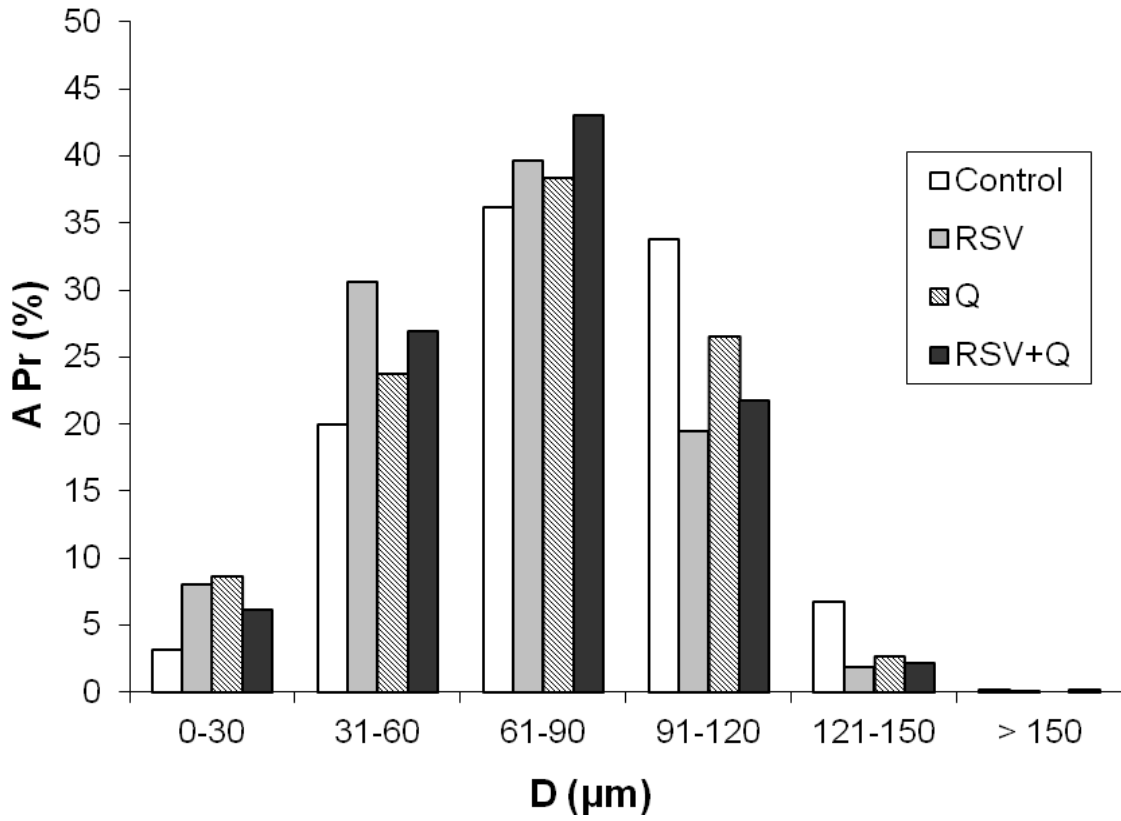


FIG.4B

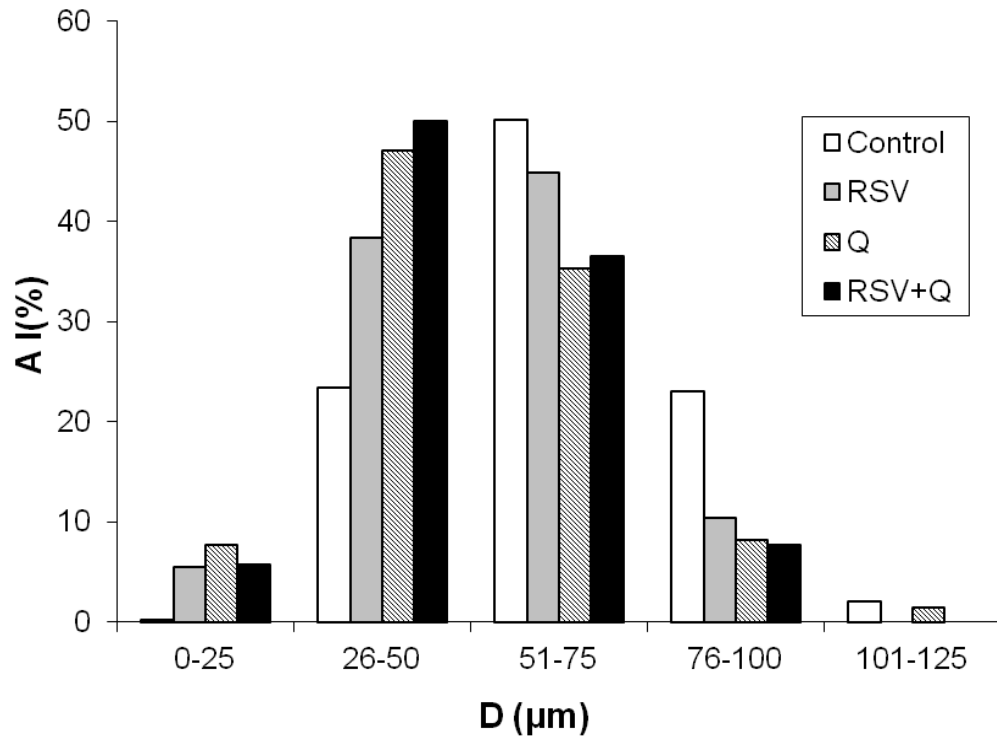


FIG. 5

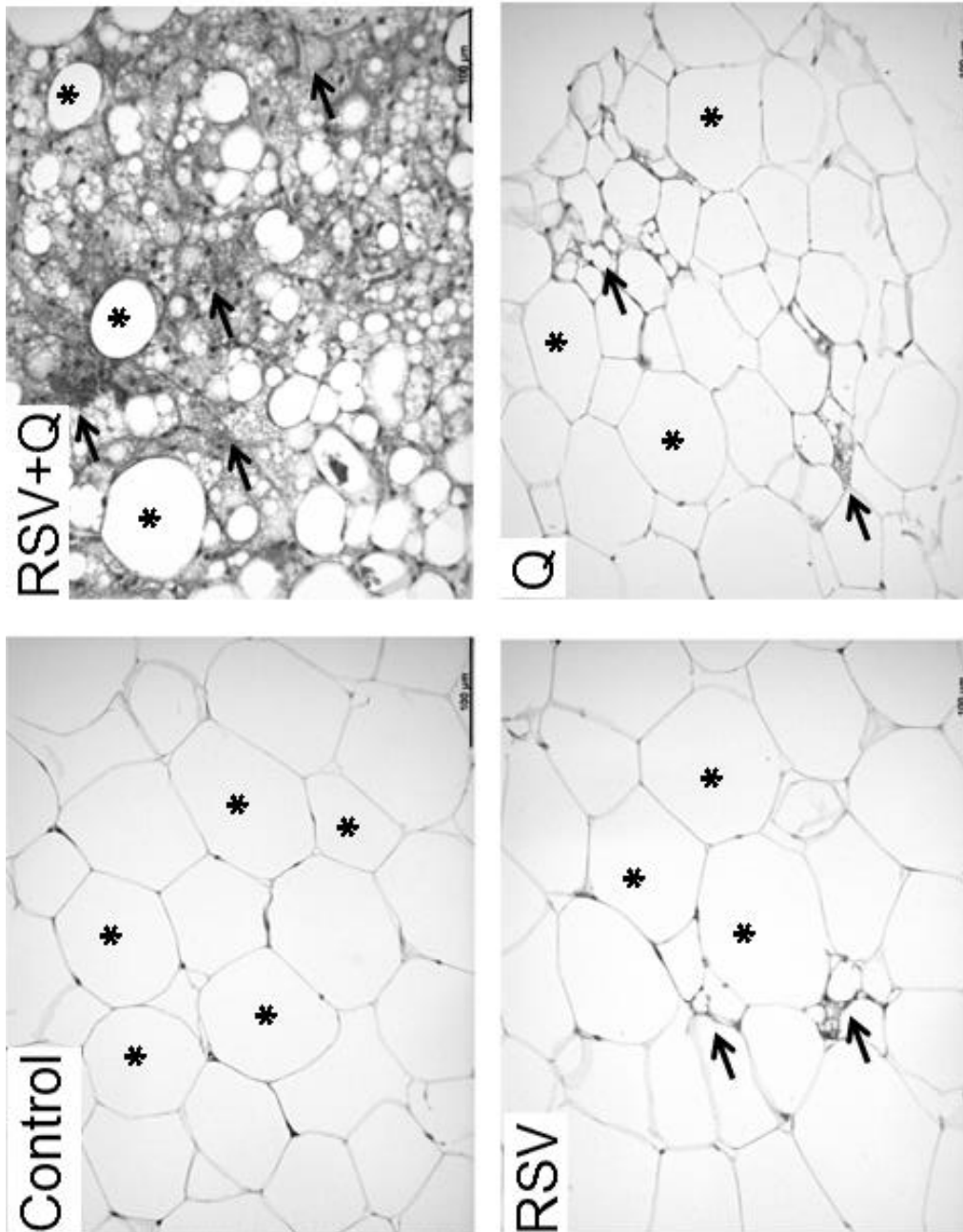




FIG. 6

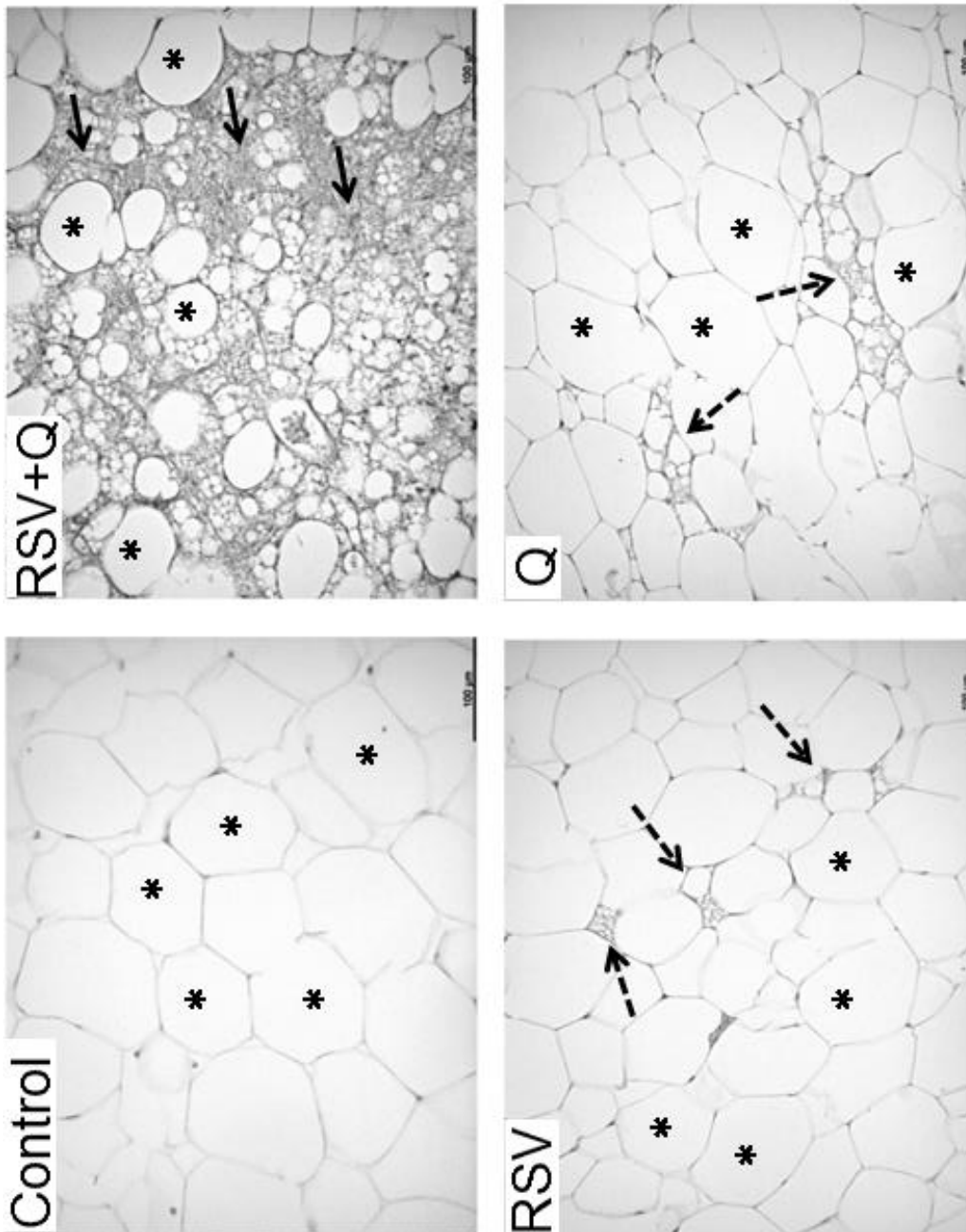


FIG. 7A

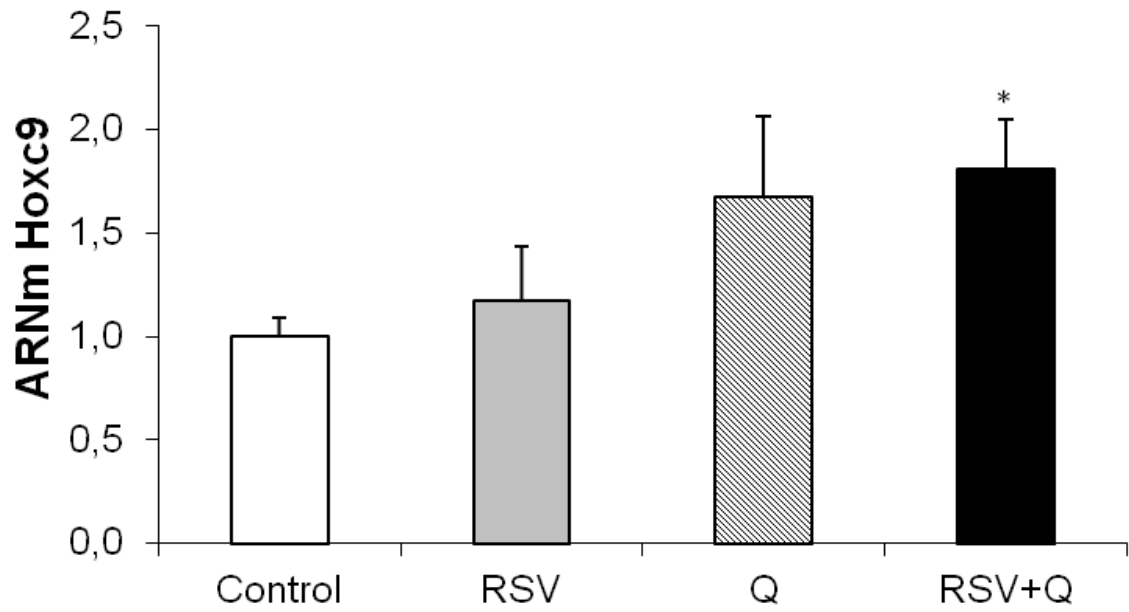


FIG. 7B

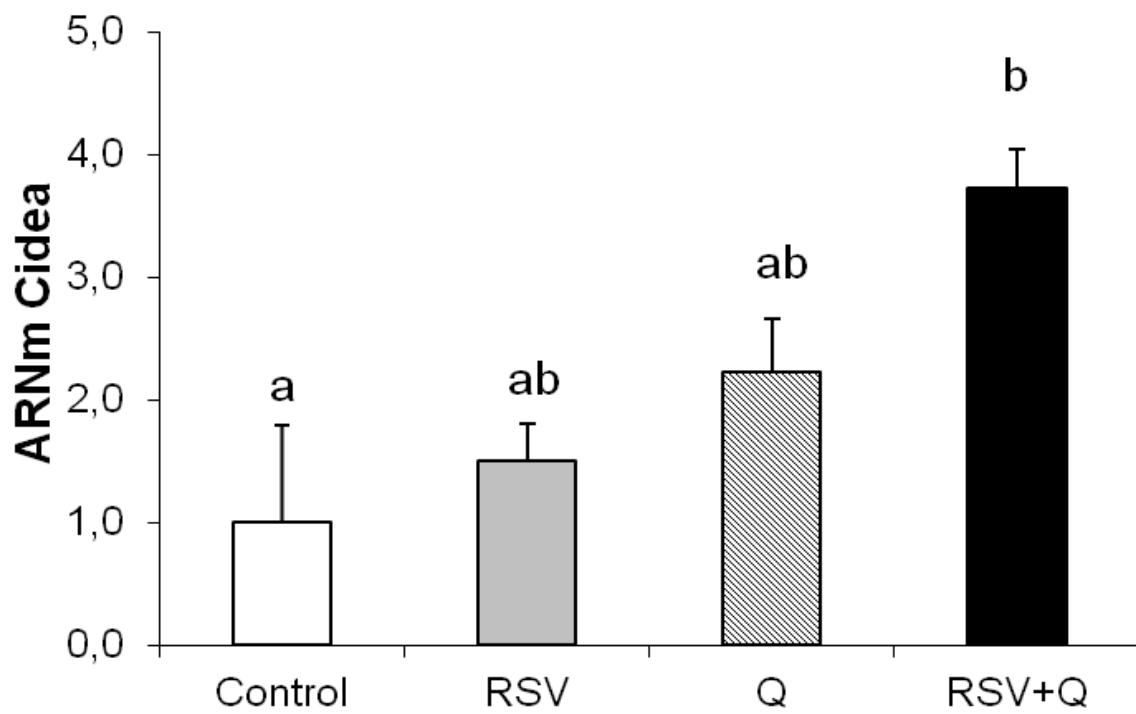


FIG. 8A

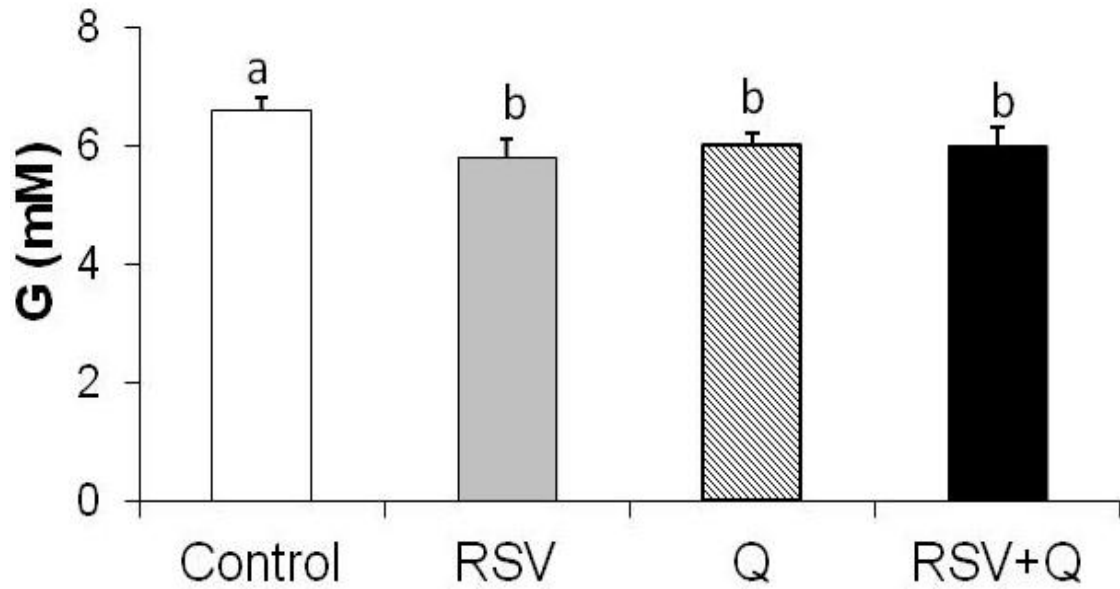


FIG. 8B

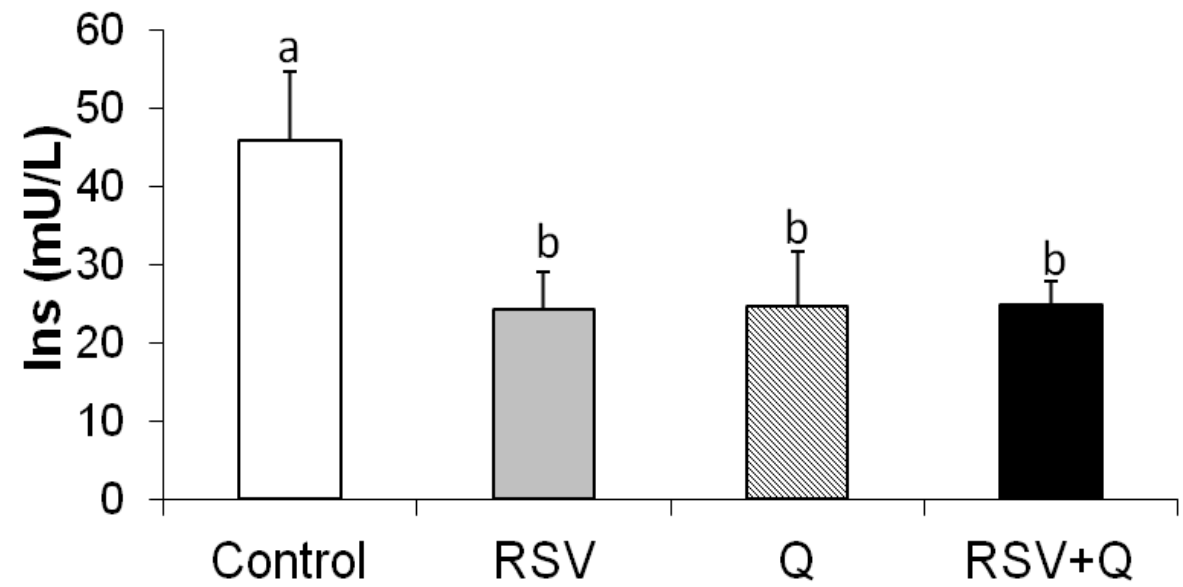


FIG. 8C

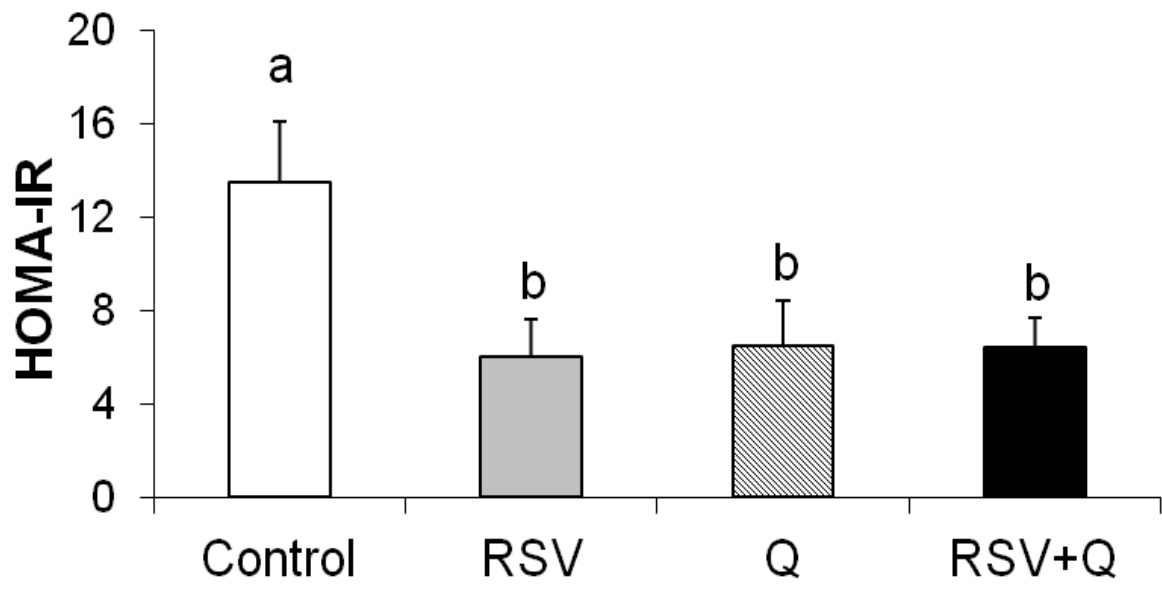
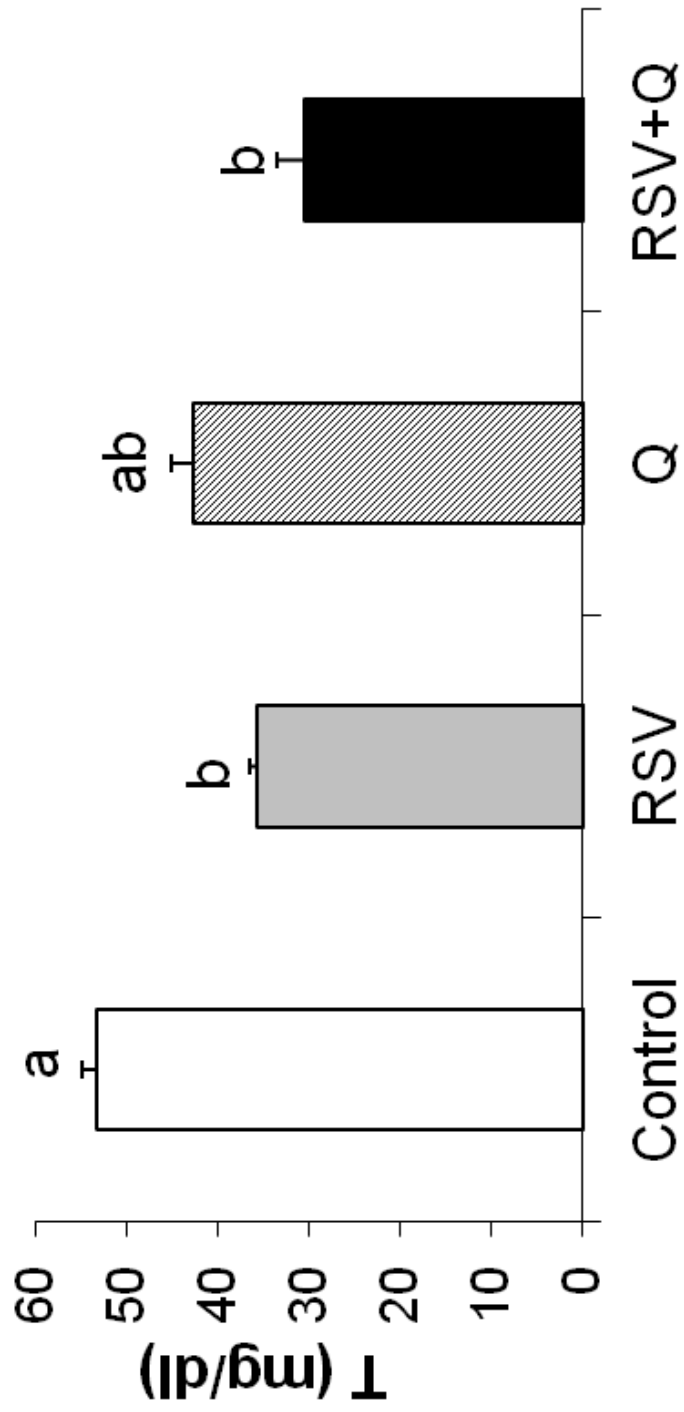


FIG. 9





- ②① N.º solicitud: 201331329  
 ②② Fecha de presentación de la solicitud: 12.09.2013  
 ③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	US 2010093678 A1 (DELLA-FERA MARY ANNE et al.) 15.04.2010, página 2, párrafos 13,15; figuras 7,9; página 3, párrafo 25; página 9, párrafo 122; página 14, párrafo 161.	1-28,31
X	WO 2005082407 A1 (MUSC FOUND FOR RES DEV et al.) 09.09.2005, página 6, línea 24 – página 7, línea 6; reivindicaciones 1-14.	22-28
X	WO 2008120221 A1 (SMIPHACON RES PVT LTD et al.) 09.10.2008, página 7, ejemplo; reivindicaciones 1,2.	22-26,29,30
A	MARTA GONZLEZ-CASTEON et al. Dietary phytochemicals and their potential effects on obesity: A review. PHARMACOLOGICAL RESEARCH, 20110711 ACADEMIC PRESS, LONDON, GB 11.07.2011 VOL: 64 No: 5 Págs: 438-455 ISSN 1043-6618 Doi: doi:10.1016/j.phrs.2011.07.004.	1-31
A	THRSE SERGENT et al. Phenolic compounds and plant extracts as potential natural anti-obesity substances. FOOD CHEMISTRY, 20120414 Elsevier Ltd, NL 14.04.2012 VOL: 135 No: 1 Págs: 68-73 ISSN 0308-8146 Doi: doi:10.1016/j.foodchem.2012.04.074.	1-31

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia  
 Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría  
 A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita  
 P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud  
 E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

**El presente informe ha sido realizado**

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

<b>Fecha de realización del informe</b> 20.12.2013	<b>Examinador</b> H. Aylagas Cancio	<b>Página</b> 1/4
---	--	----------------------

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**A61K31/05** (2006.01)

**A61K31/352** (2006.01)

**A61P3/04** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC,WPI, EMBASE, MEDLINE, NPL, BIOSIS, XPESP, XPESP2, REGISTRY, HCAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 20.12.2013

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-31	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-31	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.



**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 2010093678 A1 (DELLA-FERA MARY ANNE et al.)	15.04.2010
D02	WO 2005082407 A1 (MUSC FOUND FOR RES DEV et al.)	09.09.2005
D03	WO 2008120221 A1 (SMIPHACON RES PVT LTD et al.)	09.10.2008
D04	MARTA GONZLEZ-CASTEON et al. Dietary phytochemicals and their potential effects on obesity: A review. PHARMACOLOGICAL RESEARCH, 20110711 ACADEMIC PRESS, LONDON, GB 11.07.2011 VOL: 64 No: 5 Págs: 438-455 ISSN 1043-6618 Doi: doi:10.1016/j.phrs.2011.07.004.	11.07.2011

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La presente solicitud se refiere al uso combinado de un estilbenoide seleccionado de resveratrol, terostilbeno y piceatannol al menos un flavonol seleccionado de quercetina, kaempferol, mircetina o isohamnetina para la fabricación de una composición para el tratamiento y/o la prevención de la hipofunción termogénica y/o patologías asociadas a la misma, entre ellas se encuentra el sobrepeso, incluida la obesidad. Se reivindica asimismo la composición farmacéutica, un complemento alimenticio y una composición cosmética que contiene la mezcla.

El documento D1 se refiere a composiciones para el tratamiento de la obesidad y de la osteoporosis. En la figura 7 (ver página 2 párrafo 13) se muestra el efecto de la combinación de resveratrol, quercetina y genisteina sobre la supresión de la adipogénesis en ratas y en la figura 9 (ver página 2, párrafo 15), se muestra la efectividad de la composición con vitamina D, quercetina, resveratrol y genisteina en reducir la adiposidad, prevenir la pérdida ósea y la ganancia de peso en la postmenopausia. En la página 14 párrafo 161, se citan las dosis administradas siendo de 1, 5 o 25 mg/kg /día para el resveratrol y de 5, 25, o 125 mg/kg /día para la quercetina durante un tratamiento de 8 semanas. Las composiciones pueden ser administradas por vía oral, parenteral, tópica, etc (ver página 9, párrafo 122). En la página 3, párrafo 25 se citan las cantidades administradas por día de los dos principios activos.

Por lo tanto, a la vista del documento D1 la materia correspondiente a las reivindicaciones 1-28 y 31 carecen de novedad según el art. 6.1 de la L.P.

El documento D2 se refiere a una composición farmacéutica tópica que contiene quercetina y resveratrol, siendo las cantidades efectivas en cada caso de entre 2 µM a 75 µM. Se utiliza para el tratamiento del cáncer oral en distintas formas farmacéuticas (ver reivindicaciones 1-14). En la página 7, líneas 1-6 se cita el efecto sinérgico que se produce con la administración conjunta de quercetina y resveratrol .

En consecuencia, a la vista del documento D2, la materia correspondiente a las reivindicaciones 22-28 carece de novedad según el artículo 6.1 de la L.P.

El documento D3 se refiere a una composición nutricional en forma de yogurt que comprende compuestos polifenólicos seleccionados entre resveratrol, fisetina y quercetina. En el ejemplo de la página 7, se cita la preparación del mismo siendo la relación entre las cantidades de resveratrol y quercetina del yogurt de 1:3

Por lo tanto, a la vista del documento D3, las reivindicaciones 22-26, 29 y 30 carecen de novedad según el artículo 6.1 de la L.P.

En consecuencia, la materia correspondiente a las reivindicaciones 1-31 de la solicitud carecen de novedad y de actividad inventiva según los artículos 6.1 y 8.1 de la L.P.