

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 533 929**

21 Número de solicitud: 201331516

51 Int. Cl.:

A61K 36/73 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

15.10.2013

43 Fecha de publicación de la solicitud:

15.04.2015

71 Solicitantes:

**FUNDACIÓN UNIVERSITARIA SAN PABLO - CEU
(100.0%)**

**C/ Isaac Peral, 58
28040 Madrid ES**

72 Inventor/es:

**GUTIÉRREZ MAÑERO, Francisco Javier;
HERRERA CASTILLÓN, Emilio;
RAMOS SOLANO, Beatriz;
GARCÍA-SECO DE LA HERRERA, Daniel y
AMUSQUÍVAR ARIAS, Encarnación**

74 Agente/Representante:

FUENTES PALANCAR, José Julian

54 Título: **Extracto de Rubus fruticosus "Loch Ness", como reductor de peso de tejido adiposo y estimulador de la sensibilidad insulínica con efecto hipoglucemiante**

57 Resumen:

Extracto de Rubus fruticosus "Loch Ness", preparado a partir de frutos liofilizados de zarzamora, caracterizado por una composición química de 20-30 mg eq Gálico/gramo de extracto fresco en fenoles, 2-4 mg eq catequina/gramo de extracto fresco en flavonoides y 40-55 mg eq cianidina-3-glucosido/gramo de extracto fresco en antocianos, y un poder antioxidante con un de EC50=0.05-0.2. Este extracto ha mostrado por experimentación en ratas, una capacidad reductora de peso de tejido adiposo y estimuladora de la sensibilidad insulínica con efecto hipoglucemiante, que le hace potencialmente utilizable en humanos y otros animales, de forma independiente o en cualquier formato galénico, en la prevención o tratamiento de la obesidad y la diabetes.

ES 2 533 929 A1

DESCRIPCION

Extracto de *Rubus fruticosus* "Loch Ness", como reductor de peso de tejido adiposo y estimulador de la sensibilidad insulínica con efecto hipoglucemiante.-

5 Se presenta de propia invención, un extracto de *Rubus fruticosus* sp. variedad "Loch Ness", como reductor de peso de tejido adiposo y estimulador de la sensibilidad insulínica con efecto hipoglucemiante. Este extracto ha sido preparado a partir de frutos liofilizados de zarzamora, y ha sido caracterizado desde el punto de vista de su composición química en su contenido total en fenoles, flavonoides y antocianos, así como en su poder antioxidante, habiéndose comprobado por experimentación en ratas dicha capacidad reductora de peso de tejido adiposo
10 y estimuladora de la sensibilidad insulínica, lo que le hace potencialmente utilizable en humanos y otros animales, de forma independiente o en cualquier formato galénico, en la prevención o tratamiento de la obesidad y la diabetes.

CAMPO TÉCNICO.-

15 La invención se encuadra en el campo técnico de los preparados dietéticos y formas galénicas a base de extractos de origen vegetal, en particular *Rubus fruticosus* sp., con fines nutricionales o farmacológicos, encontrando aplicación en la industria alimentaria y farmacéutica.

ESTADO DE LA TÉCNICA.-

20 Es ampliamente conocido que los extractos de origen vegetal ricos en flavonoides, antocianos y otros compuestos fenólicos, presentan un alto poder antioxidante beneficioso para la salud. Extractos procedentes de especies de arándano y cranberry se han citado frecuentemente como productos saludables por su capacidad antioxidante, prevención neurodegenerativa, evitar pérdida de masa ósea, prevención coronaria y efectos anticancerosos. También los extractos de bayas, tanto bayas salvajes como especies comerciales se han relacionado con la actividad hipoglucémica, inhibición de la adipogénesis, mejora de los factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares, capacidad antiinflamatoria y capacidad para inducir saciedad y contrarrestar el sobrepeso. Un artículo reciente de Lila, M.A. (Functional Foods in Health and Disease, 2011, 2:13-24 Page 13 of 24), discute el impacto de los bioflavonoides procedentes de bayas en biomarcadores del síndrome metabólico, asociados con las condiciones de diabetes, sobrepeso u obesidad y enfermedades cardiovasculares.
25
30

Dentro de este campo de los extractos de origen vegetal con cualidades beneficiosas para la salud, otros dos artículos recientes de investigadores de prestigio, Sharma, Kumar (Journal of Diabetology, June 2011; 2:4) y Kaume, Howard, Devareddy (J. Agric. Food Chem. 2012, 60, 5716–5727), reflejan bien el estado de la técnica más próximo al objeto de la presente invención, en el sentido de que los frutos de la zarzamora (*Rubus fruticosus* sp.), por sus altos niveles en los referidos compuestos fenólicos, han sido relacionados, entre otras funciones, con la actividad hipoglucemiante, y la capacidad para inducir saciedad y contrarrestar el sobrepeso. De hecho, el artículo de Sharma y Kumar, versa sobre el efecto antidiabético de extractos de frutos de *Rubus ellipticus* en ratones con diabetes inducida mediante aloxano, si bien es de destacar la inexistencia de estudios en ratones sanos y animales normales. En cualquier caso, como se reconoce en el artículo de Kaume, Howard y Devareddy, los efectos antiobesidad, antidiabético, antimicrobiano y antiinflamatorio de los compuestos fenólicos de las zarzamosas necesitan mayor investigación, siendo necesarios estudios que diluciden los efectos fisiológicos in vivo de concentraciones efectivas de los mismos.
35
40

45 Pues bien, siguiendo esta línea de investigación, el equipo inventor ha conseguido preparar un extracto de *Rubus fruticosus* sp. variedad "Loch Ness", perfectamente caracterizado en su composición y poder antioxidante, con una capacidad constatada experimentalmente de reducir el peso de tejido adiposo y estimular la sensibilidad insulínica con efecto hipoglucemiante en

animales sanos, alimentados con una dieta normal, que le hace potencialmente útil en la elaboración de preparados alimenticios y fármacos destinados a la prevención y tratamiento de la obesidad y la diabetes.

5 Una búsqueda de patentes en la base de datos internacional Worldwide, a través del sistema esp@cenet de la Oficina Europea de Patentes, revela la existencia de varias patentes sobre la preparación y/o utilización de extractos de especies del género *Rubus* con fines de complemento alimentario o farmacológico, si bien sólo se han encontrado tres documentos que reivindicuen el uso de preparados a base de extractos de zarzamora con el fin de reducir el peso de tejido adiposo, en la prevención de la obesidad, no así con el fin de inducir un aumento de la sensibilidad insulínica, en prevención de la diabetes.

10 Dichas tres patentes relativas son la patente japonesa con número de publicación JP2010254590-A, sobre un inhibidor de la lipasa pancreática que incluye un extracto de una planta que pertenece al género *Rubus* (por ejemplo, zarzamora) como un ingrediente activo, que contribuye a la prevención y reducción de la obesidad; la patente coreana KR20080086641-A, sobre una composición a base de un extracto de *Rubus crataegifolius* para la inhibición de la obesidad y la prevención o el tratamiento de la hiperlipidemia; y la patente también coreana KR100466580-B1, sobre una composición que contiene el extracto de *Rubus coreanus* como ingrediente activo para prevenir y tratar la obesidad mediante la inhibición de la enzima de descomposición de los hidratos de carbono y lípidos. Sin embargo, estos preparados son de otras especies e incluso de otros órganos de plantas diferentes, que el extracto de *Rubus fruticosus* sp. var. "Loch Ness" con función antiobesidad y antidiabético reivindicado, que se confirma de invención.

COMPENDIO DE LA INVENCION.-

25 El nuevo extracto de frutos de *Rubus fruticosus* sp. var. "Loch Ness", reductor de peso de tejido adiposo y estimulador de la sensibilidad insulínica con efecto hipoglucemiante, ha sido preparado en metanol al 80% a partir de frutos liofilizados de mora, y ha sido caracterizado en su composición química, determinada con ácido gálico o cianidina-3-glucósido como controles, y referida a mg por gramo de extracto fresco, por 20-30 mg eq Gálico / gramo de extracto fresco en fenoles, 2-4 mg eq catequina / gramo de extracto fresco en flavonoides y 40-55 mg eq cianidina-3-glucosido / gramo de extracto fresco en antocianos, y un poder antioxidante determinado con ensayos DPPH de $EC_{50}=0.05-0.2$ (capacidad del extracto para reducir la cantidad del radical libre DPPH a la mitad).

35 Una vez caracterizado el extracto de *Rubus fruticosus* "Loch Ness" se realizaron diversas pruebas en ratas para poner de manifiesto su función reductora de peso de tejido adiposo y estimuladora de la sensibilidad insulínica con efecto hipoglucemiante.

40 Estas pruebas consistieron en la suplementación con el extracto en la dieta habitual de ratas adultas machos y hembras por un periodo de 80 días, lo que dio lugar a una reducción del peso corporal y de depósitos grasos, así como un incremento en sangre de los niveles de ácidos grasos libres y glicerol, que son productos de la lipólisis del tejido adiposo., poniendo ello de manifiesto que el suplemento dietético con *Rubus fruticosus* "Loch Ness" podría ser utilizado para la prevención del desarrollo de la obesidad en el humano adulto.

45 En el mismo experimento se observó que en los animales alimentados con dieta conteniendo el suplemento de *Rubus fruticosus* "Loch Ness" se produce una reducción de los niveles tanto de glucosa como de insulina en plasma y del valor del "homeostasis model assesment of insulin resistance" (HOMA-IR), poniendo ello de manifiesto que dicho extracto induce hipoglucemia a través del incremento de la sensibilidad insulínica, lo cual justifica su utilización para prevenir la diabetes e incluso para en tratamiento terapéutico de la diabetes.

La finalidad que se persigue, por tanto, con esta invención y que constituye la ventaja técnica aportada con la misma, es disponer de un extracto de *Rubus* que pueda ser utilizado como suplemento funcional en diferentes formas para reducir los depósitos de tejido adiposo y prevenir o tratar el sobrepeso, y para estimular la sensibilidad insulínica y prevenir o tratar la sobreproducción pancreática de insulina y la glucemia, tanto en sujetos sanos, para la prevención de la obesidad, la diabetes y del síndrome metabólico, como en sujetos que sufran estas enfermedades, para su tratamiento.

En consecuencia, con la presente solicitud de patente se reivindica el uso de extractos de *Rubus fruticosus* sp. variedad "Loch Ness", o cualquier molécula derivada del extracto, de forma individual o en combinación con otras moléculas o compuestos, formando parte de cualquier preparado dietético o forma galénica, con los fines indicados, en cualquier situación fisiológica o patológica de aumento de los depósitos grasos o de resistencia insulínica, incluyendo el embarazo, la obesidad, la diabetes o el síndrome metabólico.

PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA.-

El extracto de *Rubus fruticosus* sp. en cuestión se preparó a partir de moras frescas de la variedad "Loch Ness". Primero se liofilizaron las moras y a continuación se extrajo con metanol 80%, se centrifugó y se evaporó la fracción orgánica al vacío. El extracto con un 20% de agua se caracterizó.

Para la caracterización del extracto se realizaron las siguientes determinaciones:

El contenido fenólico total del extracto se determina por el método colorimétrico de Singleton V.L., Rossi J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdicphosphotungstic acid reagent. *Am J Enol Vitic* 16,144-158, que se basa en la oxidación en medio básico de los grupos hidroxilos de los fenoles por el reactivo de Folin-Ciocalteu. Los resultados se expresan como mg de ácido gálico /g de extracto. De esta forma, los extractos obtenidos siguiendo los procesos que a continuación se detallan presentan un contenido fenólico total mínimo de 20 mg/g.

El contenido en flavonoides totales del extracto se determina por el método colorimétrico de cloruro de aluminio de Zishen et al. (1999) Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64:555-559. doi: 10.1016/S0308-8146(98)00102-2 con modificaciones. Se expresa como mg equivalentes de catequina por gramo de extracto fresco.

El contenido de antocianos totales se determinó por el método diferencial de pH descrito por Giusti y Wrolstad (2001), Giusti MM, Wrolstad RE (2001) Anthocyanins Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. In: Wrolstad RE, Acree TE, An H, Decker EA, Penner MH, Reid DS, Schwartz SJ, Shoemaker CF, Sporns P, Wiley J (ed) *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York, pp F121-F129. doi: 10.1002/0471142913.faf0102s00, que evalúa la diferente absorbancia de los antocianos a distintos pH. Los resultados se expresan como mg de cianidina-3-glucósido por gramo de extracto fresco.

El potencial antioxidante se determinó por el método de Brand-Williams et al (1995), Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol* 28:25-30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5, que determina la capacidad de un extracto para prevenir la oxidación de la muestra por el radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). Se expresa como EC50; es decir, la cantidad de extracto de zarzamora necesaria para reducir la cantidad de radicales libres (DPPH) a la mitad. Cuanto menor sea el valor del EC50, mayor es el potencial antioxidante del extracto.

Composición del extracto indicando un rango de cada principio activo:

Fenoles: 20-30 mg eq Gálico /g extracto peso fresco

Flavonoides:	4-20 mg eq catequina /g extracto peso fresco
Poder Antioxidante:	0.05-0.2 EC50
Antocianos:	55-300 mg cianidina-3-glucósido /g extracto peso fresco

RESULTADOS EXPERIMENTALES.-

5 Como se ha dicho, el extracto de *Rubus fruticosus* sp. variedad "Loch Ness", es capaz de disminuir los depósitos de tejido adiposo y estimular la sensibilidad a insulina disminuyendo la glucemia. Esto se ha verificado en la práctica a través de dos grupos de experimentos.

1º. Experimento en ratas "pequeñas"

10 En el primer experimento se utilizaron ratas machos y hembras, que fueron alojadas en jaulas distintas desde el destete. Desde esa fecha, fueron alimentadas ad libitum con una dieta de cafetería (de alto contenido calórico y rica en ácidos grasos saturados), suplementada o no con extracto de *Rubus*. El tratamiento se realizó a lo largo de 90 días, al cabo de los cuales todos los animales fueron estudiados. Todos los animales mostraron un aumento de los distintos depósitos grasos con relación a ratas de la misma edad que habían sido alimentadas con la

15 dieta estándar y habitual del animalario. Sin embargo, se observó que en el caso de las ratas hembras, aunque no de una forma tan manifiesta en el de los machos, los animales que habían recibido el suplemento del extracto de *Rubus* presentaban menores depósitos de tejido adiposo inguinal, perirrenal, mesentérico y lumbar. Estos resultados fueron acompañados de un descenso en la actividad de lipoproteína lipasa en tejido adiposo inguinal y lumbar en esos

20 animales, lo cual pone de manifiesto una disminuida capacidad para hidrolizar y captar triacilglicéridos circulantes para su depósito. De cualquier forma, dado que estas diferencias no se detectaron en los machos, y podría ocurrir que tampoco se observaran en humanos, se consideró que la potencial ingestión de un suplemento en la dieta no tenía que llevarse a cabo en condiciones de alimentación hipercalórica o con un exagerado contenido en grasa saturada.

25 Ello llevó a realizar un segundo experimento en ratas adultas sometidas a condiciones dietéticas que podrían ser consideradas más "fisiológicas".

2º. Experimento en ratas adultas.-

30 Hasta el momento se han realizado experiencias consistentes en la suplementación con extractos de *Rubus* a la dieta habitual de ratas machos y hembras de laboratorio (Sprague Dawley) adultas y, que fueron comparadas con ratas alimentadas con la misma dieta pero sin dicho suplemento. Todos los grupos se alimentaron ad libitum con su respectiva dieta. Todos los animales se estudiaron a los 80 días de haber sido alimentados con su respectiva dieta.

35 Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que las ratas que fueron alimentadas con la dieta suplementada con el extracto de *Rubus* presentaban un menor peso corporal, menor peso del hígado y menor peso de los tejidos adiposos lumbar e inguinal. Cabe también indicar que estos efectos se presentaban más manifiestos en los machos que en las hembras.

40 También, al tiempo del estudio (80 días de tratamiento), tanto los machos como las hembras que habían sido alimentados con la dieta suplementada con el extracto de *Rubus* presentaban en plasma unos valores de ácidos grasos libres no esterificados (NEFA) y de glicerol significativamente más altos que los de los animales que no recibieron dicho suplemento. Puesto que tanto los NEFA como el glicerol son los productos de la lipólisis del tejido adiposo, estos resultados ponen de manifiesto que el tratamiento con extracto de *Rubus* sp. ha inducido una activación de la lipólisis del tejido adiposo, y la consecuente hidrólisis de parte de los triacilglicéridos en él acumulados.

45 En condiciones normales, el destino de los productos de la lipólisis del tejido adiposo que circulan en sangre es el hígado, donde pueden ser reesterificados para la síntesis de

triacilglicéridos. De acuerdo con esta interpretación, mientras que los niveles de triacilglicéridos en plasma no aparecían distintos entre los dos grupos, sí que se observó un incremento de dichos triacilglicéridos en el hígado de los animales que habían recibido el suplemento con Rubus. Y este efecto era significativo tanto en machos como en hembras.

- 5 Como complemento a los cambios en los niveles de ácidos grasos del plasma descritos arriba, al hacer un estudio del perfil de distintos ácidos grasos, se observó que en las ratas hembras que habían recibido el suplemento de Rubus, más que en los machos, se presenta un incremento de los niveles de determinados ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga. Concretamente, los ácidos araquidónico (22:4 n-6), gammalinolénico (18:3 n-6) y
- 10 docosahexaenoico (22:6 n-3). Dado que estos ácidos grasos no eran más abundantes en la dieta que estaba suplementada con el extracto de Rubus que en la control, pero se conoce que tienden a acumularse en el tejido adiposo, estos resultados pueden interpretarse como un reflejo de la mayor actividad lipolítica que tiene lugar en los animales que recibieron dicho suplemento.
- 15 Un resultado especialmente relevante observado tanto en los machos como en las hembras que habían sido alimentados con la dieta suplementada con el extracto de Rubus es una manifiesta hipoglucemia, puesta de manifiesto por un descenso significativo de los niveles de glucosa en plasma. A pesar de ello, los niveles de insulina en plasma eran mucho más bajos en esas ratas que presentaban hipoglucemia que en las controles, de forma que lejos de
- 20 poderse interpretar estos resultados como la respuesta a una mayor salida de insulina de las células beta-pancreáticas, la interpretación debe realizarse considerando la existencia de un incremento importante de la sensibilidad de esta hormona. De hecho, cuando se calcularon los valores de HOMA como índice de resistencia insulínica, se pudo comprobar que tanto en machos como en hembras este parámetro era mucho más bajo en las ratas que habían
- 25 recibido el suplemento de Rubus que en sus controles. Se considera que este hallazgo es verdaderamente importante, ya que muestra un evidente efecto beneficioso para aquellos sujetos que padezcan una reducida respuesta a esta hormona, como es precisamente aquellos pacientes con diabetes del tipo 2, los pacientes con Síndrome Metabólico y los obesos, que a su vez constituyen los más frecuentes en nuestras poblaciones y en la población mundial.
- 30 Cabe también hacer notar que una situación fisiológica en la que frecuentemente se desarrolla una resistencia insulínica es en la gestación, siendo dicha resistencia responsable de la alta incidencia de diabetes gestacional que se desarrolla en las mujeres embarazadas. Además, esta patología es responsable no sólo de alteraciones metabólicas en la madre sino en su descendencia, incrementando el riesgo de macrosomía en los recién nacidos, con los
- 35 trastornos que ello lleva consigo tanto a corto como a largo plazo, de desarrollo de diabetes permanente en la madre y/o en su descendencia, así como de la predisposición de su descendencia cuando adultos de patologías derivadas de los efectos epigenéticos que se derivan de las potenciales hiperglucemias que hayan podido sufrir durante la vida intrauterina (hipertensión, obesidad, enfermedad cardiovascular, etc.).

40

REIVINDICACIONES

- 5 1. Extracto de *Rubus fruticosus* "Loch Ness", preparado en metanol al 80% a partir de frutos liofilizados de mora, caracterizado por una composición química, determinada con ácido gálico, catequina o cianidina-3-glucósido como controles, y referida a mg por g de extracto fresco, de 20-30 mg eq Gálico / gramo de extracto fresco en fenoles, 2-4 mg eq catequina / gramo de extracto fresco en flavonoides y 40-55 mg cianidina-3-glucosido / gramo de extracto fresco en antocianos, y un poder antioxidante con un de $EC_{50}=0.05-0.2$ (capacidad del extracto para reducir la cantidad del radical libre DPPH a la mitad).
- 10 2. Extracto de *Rubus fruticosus* "Loch Ness", según primera reivindicación, caracterizado por su capacidad reductora de peso de tejido adiposo en el organismo, al inducir una activación de la lipólisis del tejido adiposo y la consecuente hidrólisis de parte de los triacilglicéridos en él acumulados con liberación a la circulación sanguínea de ácidos grasos y glicerol.
- 15 3. Extracto de *Rubus fruticosus* "Loch Ness", según primera reivindicación, caracterizado por su capacidad estimuladora de la sensibilidad insulínica con efecto hipoglucemiante, al reducir los niveles tanto de glucosa como de insulina en plasma, y del índice de resistencia insulínica HOMA-IR ("homeostasis model assesment of insulin resistance").
- 20 4. Uso del extracto de *Rubus fruticosus* "Loch Ness", según primera y segunda reivindicación, para su aplicación en cualquier organismo humano o animal, a fin de reducir los depósitos de tejido adiposo y prevenir o tratar el sobrepeso.
- 25 5. Uso del extracto de *Rubus fruticosus* "Loch Ness", según primera y tercera reivindicación, para su aplicación en cualquier organismo humano o animal, a fin de estimular la sensibilidad insulínica y prevenir o tratar una deficiente disponibilidad de insulina o una situación de hiperglucemia.
6. Uso del extracto de *Rubus fruticosus* "Loch Ness", según las anteriores reivindicaciones, o cualquier molécula derivada del extracto, de forma individual o en combinación con otras moléculas o compuestos, formando parte de cualquier preparado dietético o forma galénica, con los fines indicados, en cualquier situación fisiológica o patológica de aumento de los depósitos grasos, hiperglucemia o de resistencia insulínica, incluyendo el embarazo, la obesidad, la diabetes o el síndrome metabólico.



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201331516

②② Fecha de presentación de la solicitud: 15.10.2013

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	PIOVEZAN, M., GARCIA-SECO, D., MICKE, G. A., GUTIERREZ-MAÑERO, J., RAMOS-SOLANO, B. Method development for determination of (+)-catechin and (-)-epicatechin by micellar electrokinetic chromatography: Annual characterization of field grown blackberries. Electrophoresis, agosto 2013, vol. 34, nº 15, páginas 2251-2258. ISSN 0173-0835. Doi:10.1002/elps.201300065.	1
Y		2-5
Y	ALI, L., SVENSSON, B., ALSANIUS, B. W., OLSSON, M. E. Late season harvest and storage of <i>Rubus</i> berries – Major antioxidant and sugar levels. Scientia Horticulturae, 2011; vol. 129, nº 3, páginas 376-381. ISSN 0304-4238. Doi: 10.1016/j.scienta.2011.03.047.	1
Y	KAUME, L., GIRBERT, W. C., BROWNMILLER, C., HOWARD, L. R., DEVAREDDY, L. Cyanidin 3-O-β-D-glucoside-rich blackberries modulate hepatic gene expression, and anti-obesity effects in ovariectomized rats. Journal of Functional Foods, 2012, Vol. 4, nº 2, páginas 480-488. ISSN: 1756-4646. Doi: 10.1016/j.jff.2012.02.008.	1,2,4,6
Y	STEFANUT, M. N., CATA, A., POP, R., TANASIE, C., BOC, D., IENASCU, I., ORDODI, V. Anti-hyperglycemic effect of bilberry, blackberry and mulberry ultrasonic extracts on diabetic rats. Plant Foods for Human Nutrition, 2013, Vol. 68, nº 4, páginas 378-384. ISSN: 0921-9668. Doi: 10.1007/s11130-013-0380-y. Publicado online: 15.09.2013.	3,5,6
A	KAUME, L., HOWARD, L. R., DEVAREDDY, L. The Blackberry Fruit: A Review on Its Composition and Chemistry, Metabolism and Bioavailability, and Health Benefits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, Vol. 60, nº 23, páginas 5716-5727. Doi: 10.1021/jf203318p.	1-6
A	VRHOVSEK, U., et al. Concentration and Mean Degree of Polymerization of <i>Rubus</i> Ellagitannins Evaluated by Optimized Acid Methanolysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006; Vol. 54, nº 12, páginas 4468-4475. ISSN 0021-8561. Doi: 10.1021/jf060404w.	1

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:

Fecha de realización del informe

01.09.2014

Examinador

A. Sukhwani

Página

1/6



- ②¹ N.º solicitud: 201331516
 ②² Fecha de presentación de la solicitud: 15.10.2013
 ③² Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤¹ Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤ ⁶ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	KR 20100073844 A (JK BERRYNERY CO LTD) 01.07.2010 & Resumen de base de datos EPODOC. Recuperado de EPOQUE; Número de acceso KR-20080132624-A.	1-6
A	LILA, M. A. Impact of bioflavonoids from berryfruits on biomarkers of Metabolic Syndrome. Functional Foods in Health and Disease, 2011; Vol. 2, páginas 13-24. ISSN: 2160-3855. Recuperado de Internet: <URL: http://www.functionalfoodscenter.net/files/42783544.pdf >	1-6

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:

Fecha de realización del informe 01.09.2014	Examinador A. Sukhwani	Página 2/6
---	----------------------------------	----------------------

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K36/73 (2006.01)

A61P3/04 (2006.01)

A61P3/10 (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, X-FULL, NPL, INTERNET

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 01.09.2014

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1 - 6	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1 - 6	NO

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.

Consideraciones:

La invención tiene por objeto extracto de *Rubus fruticosus* Loch Ness preparado en metanol al 80% a partir de frutos liofilizados de mora con la composición química de ácido gálico, catequina o cianidina-3-glucósido como controles, con 20-30 mg eq Gálico / g de extracto fresco en fenoles, 2-4 mg eq catequina / g de extracto fresco en flavonoides y 40-55 mg cianidina-3-glucósido / g de extracto fresco en antocianos, y un poder antioxidante con un EC50=0.05-0.2 (reivindicación 1).

El extracto tiene capacidad reductora de peso de tejido adiposo al inducir activación de la lipólisis e hidrólisis de parte de los triglicéridos con liberación de ácidos grasos y glicerol (reiv. 2) y capacidad estimuladora de la sensibilidad insulínica con efecto hipoglucemiante (reiv. 3).

También es objeto de protección el uso del extracto *Rubus fruticosus* Loch Ness para reducir los depósitos de tejido adiposo y prevenir o tratar el sobrepeso (reiv. 4), estimular la sensibilidad insulínica (reiv. 5).

Por último, uso del extracto, solo o combinado, como parte de un preparado dietético o forma galénica en situaciones de aumento de depósitos grasos, hiperglucemia o de resistencia insulínica, incluyendo el embarazo, la obesidad, la diabetes o el síndrome metabólico (reiv. 6)

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	PIOVEZAN, M., GARCIA-SECO, D., MICKE, G. A., GUTIERREZ-MAÑERO, J., RAMOS-SOLANO, B. Method development for determination of (+)-catechin and (-)-epicatechin by micellar electrokinetic chromatography: Annual characterization of field grown blackberries. Electrophoresis, agosto 2013, vol. 34, nº 15, páginas 2251-2258.	Agosto 2013
D02	ALI, L., SVENSSON, B., ALSANIUS, B. W., OLSSON, M. E. Late season harvest and storage of <i>Rubus</i> berries – Major antioxidant and sugar levels. Scientia Horticulturae, 2011; vol. 129, nº 3, páginas 376-381.	2011
D03	KAUME, L., GIRBERT, W. C., BROWNMILLER, C., HOWARD, L. R., DEVAREDDY, L. Cyanidin 3-O-β-D-glucoside-rich blackberries modulate hepatic gene expression and anti-obesity effects in ovariectomized rats. Journal of Functional Foods, 2012, Vol. 4, nº 2, páginas 480-488.	2012
D04	STEFANUT, M. N., CATA, A., POP, R., TANASIE, C., BOC, D., IENASCU, I., ORDODI, V. Anti-hyperglycemic effect of bilberry, blackberry and mulberry ultrasonic extracts on diabetic rats. Plant Foods for Human Nutrition, 2013, Vol. 68, nº 4, páginas 378-384. Publicado online: 15.09.2013.	Septiembre 2013
D05	KAUME, L., HOWARD, L. R., DEVAREDDY, L. The Blackberry Fruit: A Review on Its Composition and Chemistry, Metabolism and Bioavailability, and Health Benefits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, Vol. 60, nº 23, páginas 5716-5727.	2012
D06	VRHOVSEK, U., et al. Concentration and Mean Degree of Polymerization of <i>Rubus</i> Ellagitannins Evaluated by Optimized Acid Methanolysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006; Vol. 54, nº 12, páginas 4468-4475.	2006
D07	KR 20100073844 A (JK BERRYNERY CO LTD)	01.07.2010
D08	LILA, M. A. Impact of bioflavonoids from berryfruits on biomarkers of metabolic syndrome. Functional Foods in Health and Disease, 2011; Vol. 2, páginas 13-24.	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

NOVEDAD

Los documentos citados **D01** a **D08** se refieren al los fenoles, flavonoides o antocianos de *Rubus* y su extracción o usos, mientras que **D01**, **D02** y **D06** divulgan la utilización de *Rubus fruticosus* Loch Ness. Así,

- **D01** se refiere a un método para determinar la cantidad de catequina y epicatequina de frutos de *Rubus fruticosus* var. Lochness con extracción metanólica, centrifugación hasta evaporación al vacío (página 2253), si bien no divulga las cantidades de ácido gálico, catequina, y cianidina-3-glucósido reivindicadas en la solicitud en estudio, por lo que no anticipa la invención.

- **D02** se refiere a la producción de fin de temporada de tardía de frambuesas (*Rubus idaeus*) y moras (*Rubus fruticosus* Loch Ness) durante el almacenamiento, y su contenido en fenoles, flavonoides e antocianinas, expresado en mg por gramo de extracto fresco. Las cantidades no son las mismas puesto que no divulga la preparación del extracto en metanol al 80% y concluye que el almacenamiento mejora el contenido antioxidante.

- **D06** divulga los compuestos fenólicos de ácido gálicos, elagitaninos de especies de *Rubus*, entre otras de *Rubus fruticosus* Loch Ness y la preparación de los extractos con metanol al 60% (página 4471), pero no divulga los otros componentes por lo que no anticipa la invención.

Los documentos **D03** a **D05**, **D08** se refieren en general al género *Rubus* y no hacen referencia a *Rubus fruticosus* Loch Ness mientras que **D07** se refiere al *Rubus coreanus*, por lo que tampoco anticipan la invención.

Por ello, a la vista de los documentos D01 a D08, se puede concluir que las reivindicaciones **1 - 6** son nuevas de acuerdo con el Artículo 6 LP 11/86.

ACTIVIDAD INVENTIVA

El extracto de *Rubus fruticosus* Loch Ness con una composición química determinada con ácido gálico, catequina o cianidina-3-glucósido referida a mg por g de extracto fresco, objeto de la invención resulta evidente para el experto en la materia a la vista de los documentos **D01** a **D04**. Así,

- **D01** se refiere al extracto metanólico de frutos de *Rubus fruticosus* Loch Ness sin especificar el porcentaje de metanol pero si divulgando la composición química de ácido gálico, catequina, y cianidna-3-glucósido. Para el experto la utilización de metanol, variando el porcentaje metanol:agua es evidente, por lo que afecta a la actividad inventiva de la reivindicación 1.

Pero, además, afecta a otras reivindicaciones, sobre todo, teniendo en cuenta los documentos citados **D02** a **D04**. En efecto,

- **D02** hace referencia a la extracción con etanol y/o metanol de frutos de la especie y variedad *Rubus fruticosus* Loch Ness, y a las cantidades de antocianinas por 100 g de extracto fresco (página 377), por lo que afecta a la actividad inventiva de la reivindicación 1.

- **D03** divulga la riqueza en antocianinas como la cianidina-3-glucósido en los frutos de *Rubus* y a su efecto anti-obesidad y pérdida de peso. El extracto se preparó con moras liofilizadas, extrayendo con metanol al 60% (páginas 481, 485, 487), por lo que afecta a las reivindicaciones 1, 2, 4, 6.

- **D04** se refiere al efecto anti-hiperglucémico de bayas, entre otras de *Rubus* (blackberries), con extractos preparados con 80% de etanol, si bien, algunos análisis se hicieron con metanol, siendo la antocianina, cianidina-3-glucósido, la de mayor cantidad (páginas 381, 382). Todos los extractos mostraron el efecto anti-hiperglucémico (página 383, Conclusions), por lo que afecta a la actividad inventiva de las reivindicaciones 3, 5, 6.

El resto de los documentos son del estado de la técnica que divulga la composición de los frutos de *Rubus* y su alto contenido de antocianos, ácido gálico y su posible utilización para la obesidad y diabetes (**D05**, páginas 5716, 5723), el extracto metanólico de *Rubus coreanus* previene la obesidad y la diabetes (**D07**, resumen) y la composición de frutos comestibles de *Rubus* para modular el síndrome metabólico y sus condiciones asociadas de diabetes y obesidad (**D08**).

Para el experto en la materia el extracto reivindicado no resuelve ningún problema técnico puesto que está divulgado en el estado de la técnica la preparación de extractos de frutos de *Rubus*, en particular de *Rubus fruticosus* Loch Ness (**D01**, **D02**, **D06**), con distintos porcentajes de metanol, o de etanol al 80%, y con un contenido de ácido gálico, catequina o cinadina-3-glucósido en dicho extracto y su utilización para reducir peso y para la hiperglucemia (**D03-D05**, **D07**, **D08**). En este sector de la técnica, es obvia la utilización de metanol o de etanol para la extracción, variando porcentajes hasta conseguir las cantidades óptimas de antioxidantes tanto fenólicos, como flavonoides y antocianos.

Por ello, a la vista de los documentos D01 a D04, se puede concluir que las reivindicaciones **1 - 6** carecen de actividad inventiva según el Artículo 8 LP 11/86.