

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 641 759**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/352** (2006.01)  
**A61K 31/353** (2006.01)  
**A61P 3/06** (2006.01)  
**A61P 3/04** (2006.01)  
**A23L 2/52** (2006.01)  
**A61K 36/82** (2006.01)  
**A23L 33/105** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.07.2005 PCT/JP2005/012394**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **12.01.2006 WO06004110**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.07.2005 E 05758209 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.09.2017 EP 1772148**

54 Título: **Inhibidores de lipasa**

30 Prioridad:

**05.07.2004 JP 2004198285**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**13.11.2017**

73 Titular/es:

**SUNTORY HOLDINGS LIMITED (100.0%)  
1-40, DOJIMAHAMA 2-CHOME KITA-KU, OSAKA-SHI  
OSAKA 530-8203, JP**

72 Inventor/es:

**NAKAI, MASAACKI;  
FUKUI, YUKO;  
ASAMI, SUMIO y  
HASHIMOTO, FUMIO**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

ES 2 641 759 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Inhibidores de lipasa

5 **Campo técnico**

La presente invención proporciona flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para su uso como inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o en la prevención o corrección de la obesidad, según se define adicionalmente en las reivindicaciones.

10

**Técnica anterior**

En los últimos años, la ingesta de alimentos ricos en grasa en el pueblo japonés ha aumentado con la creciente occidentalización de su estilo de vida. Según la Encuesta Nacional de Nutrición de 1999, la proporción de grasa:energía supera el nivel adecuado del 25 % a pesar de que la ingesta de energía disminuye año tras año y de que del 50 al 60 por ciento de la población de 60 años o más tiene niveles de triglicéridos o niveles de colesterol altos (Ministerio de Sanidad, Trabajo y Bienestar de Japón. An overview of the results of the 1999 National Nutrition Survey. Japanese Journal of Clinical Nutrition 2001; 98(5): 577-588).

15

20

La obesidad es una de las enfermedades más importantes de la sociedad moderna y está causada principalmente por el consumo excesivo de grasas. Se sabe que el consumo excesivo de grasas no solo induce obesidad, sino también afecciones asociadas con la obesidad, tales como diabetes, hiperlipidemia, hipertensión y arteriosclerosis. Un supresor del apetito, Mazindol®, es el único fármaco aprobado para esta obesidad en Japón, pero se ha notificado que tiene efectos secundarios adversos, tales como sequedad de boca, estreñimiento, malestar estomacal y náuseas/vómitos (Clinical Evaluation 1985; 13(2): 419-459; Clinical Evaluation 1985; 13(2): 461-515). Fuera de Japón, un fármaco disponible para mejorar la obesidad es Xenical®, que funciona suprimiendo absorción intestinal de grasas por la actividad inhibidora de lipasa, pero no siempre es seguro porque también se ha notificado que tiene efectos secundarios adversos, tales como heces grasas, aumento de la frecuencia de las heces, heces sueltas, diarrea y dolor abdominal (Lancet 1998; 352: 67-172).

25

30

Un medio eficaz para prevenir la obesidad es reducir la ingesta calórica mediante restricciones dietéticas, pero debe estar supervisado por un consejero experto en nutrición y es a menudo difícil seguirlo en la vida cotidiana. Por lo tanto, una manera segura y saludable de inhibir la absorción de grasas en la dieta por el cuerpo sería un enfoque práctico y útil para el tratamiento de la obesidad y las enfermedades relacionadas o la mejora de la salud.

35

En este contexto, se ha prestado atención al desarrollo de alimentos para un uso sanitario especificado con una seguridad y eficacia comprobadas para los seres humanos. Los alimentos para uso sanitario especificado comercializados hasta ahora como materiales alimenticios para controlar el aumento de los niveles de triglicéridos en suero después de comer incluyen los digeridos de globina que suprimen la absorción de grasa por la inhibición de la lipasa pancreática (J. Nutr. 1998; 128: 56-60; Journal of the Japanese Society of Nutrition and Food Science 1999; 52(2): 71-77; Journal of Health Food & Nutrition Food Studies 2002; 5(3): 131-144); diacilgliceroles que tienen características de digestión/absorción diferentes de las de los triacilgliceroles (J. Am. Coll. Nutr. 2000; 19(6): 789-796; Clin. Chim. Acta. 2001; 11(2): 109-117); y ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) purificado a partir de aceites de pescado, etc.

40

45

También se ha prestado atención recientemente a materiales derivados de plantas que tienen actividad inhibidora de lipasa y, especialmente, se han notificado diversos polifenoles que tienen actividad inhibidora de lipasa, tales como taninos derivados de corteza vegetal (publicación de patente japonesa Sho 60-11912); taninos y flavonoides y glucósidos contenidos en una leguminosa *Cassia nomame* (patente japonesa abierta a inspección pública Hei 8-259557); productos alimenticios para inhibir la absorción de lípidos que contienen galato de epigallocatequina y galato de epicatequina conocidos como los ingredientes principales en el té verde (patente japonesa abierta a inspección pública Hei 3-228664); inhibidores de lipasa que comprenden extractos acuosos de pimiento verde, hongo shimeji, calabaza, setas maitake, algas hijiki, té verde, té oolong, etc. (patente japonesa abierta a inspección pública Hei 3-219872); flavonas y flavonoles (patente japonesa abierta a inspección pública Hei 7-61927); ácidos hidroxibenzoicos (ácido gálico) (patente japonesa abierta a inspección pública Hei 1-102022); compuestos triterpénicos y derivados de los mismos (patente japonesa abierta a inspección pública Hei 9-40689); agentes antiobesidad que contienen procianidina de tamarindo como principio activo (patente japonesa abierta a inspección pública Hei 9-291039); así como los efectos inhibidores de la lipasa de los extractos de semilla de uva (Nutrición 2003; 19(10): 876-879); efectos inhibidores de la lipasa y efectos antiobesidad en ratas de polifenoles derivados de Salacia (J. Nutr. 2002; 132: 1819-1824); y efectos antiobesidad de los extractos de té oolong en ratones (Int. J. Obes. 1999; 23: 98-105).

50

55

60

Sin embargo, los inhibidores de lipasa derivados de plantas descritos hasta ahora como se muestra anteriormente no son suficientemente eficaces. Incluso si un extracto de una planta fuera eficaz, por ejemplo, sería difícil mantener de forma estable la actividad inhibidora de lipasa a menos que se especifique la cantidad del principio activo contenido en e porque es de origen natural. Además, los inhibidores derivados de plantas insípidas tienen la

65

desventaja de que afectan al sabor cuando se usan como alimentos o bebidas. Por ejemplo, hay varios informes que muestran el efecto del té oolong en la mejora de los perfiles lipídicos, demostrando una disminución significativa de los niveles de triglicéridos en sangre después de beber 1330 ml de té oolong disponible comercialmente a diario durante 6 semanas (Journal of the Japanese Society of Nutrition and Food Science 1991; 44(4): 251-259) o una pérdida de peso de 1 kg o más en el 67 % de los pacientes, que consiste en 102 varones y mujeres con obesidad simple que tomaron té oolong de forma continua (2 g x 4/día) por vía oral durante 6 semanas y un efecto de mejora significativa después de la ingestión de té oolong en sujetos con niveles altos de triglicéridos en sangre

(Journal of the Japanese Society of Clinical Nutrition 1998; 20(1): 83-90). Por lo tanto, se han observado efectos beneficiosos por beber grandes cantidades de té oolong, pero es difícil hacerlo continuamente en la vida cotidiana. Si se proporcionara simplemente té oolong concentrado, no sería adecuado como medio práctico debido al fuerte amargor/astringencia y al elevado contenido de cafeína.

En Shimada et al. (Diabetes Res Clin Pract 2004; 65(3): 227-234), se describen experimentos con el objetivo de investigar si la ingesta de té oolong influye en los niveles en plasma de adiponectina, el tamaño de partícula de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), el colesterol total, el colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL), el colesterol LDL, los niveles de triglicéridos en suero y de glucosa en plasma en pacientes con enfermedad coronaria (CAD).

Murase et al. (Int J Obes Relat Metab Disord 2002; 26(11): 1459-1464) se refiere a una investigación de los efectos de la alimentación a largo plazo con catequinas del té sobre el desarrollo de la obesidad en ratones C57BL/6J.

Wang et al. (Biochem Pharmacol 2003; 66(10): 2039-2047) informa que el resto galoílico de las catequinas del té verde es la característica estructural crucial en la inactivación de la actividad de cetoacil reductasa de ácido graso sintasa (FAS).

Hamdaoui et al. (J Trace Elem Med Biol 2003; 17(3): 159-164) se refiere a una evaluación de la biodisponibilidad del hierro y de las ganancias de peso en ratas deficientes en hierro alimentadas con la comida tunecina "ragout con semillas de frijol" con o sin carne y con decocción de té verde o negro.

#### Documentos de patente

1. Publicación de patente japonesa Sho 60-11912
2. Patente japonesa abierta a inspección pública Hei 8-259557
3. Patente japonesa abierta a inspección pública Hei 3-228664
4. Patente japonesa abierta a inspección pública Hei 3-219872
5. Patente japonesa abierta a inspección pública Hei 7-61927
6. Patente japonesa abierta a inspección pública Hei 1-102022
7. Patente japonesa abierta a inspección pública Hei 9-40689
8. Patente japonesa abierta a inspección pública Hei 9-291039

#### Documentos no de patente

1. Ministerio de sanidad, Trabajo y Bienestar de Japón. An overview of the results of the 1999 National Nutrition Survey.
2. Japanese Journal of Clinical Nutrition 2001; 98(5): 577-588.
3. Clinical Evaluation 1985; 13(2): 419-459. Clinical Evaluation 1985; 13(2): 461-515.
4. Lancet 1998; 352: 67-172.
5. J. Nutr. 1998; 128: 56-60.
6. Journal of the Japanese Society of Nutrition and Food Science 1999; 52(2): 71-77.
7. Journal of Health Food & Nutrition Food Studies 2002; 5(3): 131-144.
8. J. Am. Coll. Nutr. 2000; 19(6): 789-796.
9. Clin. Chim. Acta. 2001; 11(2): 109-117.
10. Nutrition 2003; 19(10): 876-879.
11. J. Nutr. 2002; 132: 1819-1824.
12. Int. J. Obes. 1999; 23: 98-105.
13. Journal of the Japanese Society of Nutrition and Food Science 1991; 44(4): 251-259.
14. Journal of the Japanese Society of Clinical Nutrition 1998; 20(1): 83-90.
15. Chem. Pharm. Bull 1987; 35(2): 611-616.
16. Chem. Pharm. Bull 1989; 37(12): 3255-3563.
17. Diabetes Res Clin Pract 2004; 65(3): 227-234.
18. Int J Obes Relat Metab Disord 2002; 26(11): 1459-1464.
19. Biochem Pharmacol 2003; 66(10): 2039-2047.
20. J Trace Elem Med Biol 2003; 17(3): 159-164.

**Divulgación del problema de la invención a resolver por la invención**

La presente invención se centra en ingredientes contenidos en té muy sabrosos y proporciona un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para uso como inhibidor de lipasa, según se define adicionalmente en las reivindicaciones. En el presente documento también se divulgan otros inhibidores de lipasa que contienen al menos uno de los monómeros o acilatos de flavan-3-ol derivados de té.

En el presente documento también se divulgan alimentos y bebidas altamente sabrosos que contienen dichos inhibidores de la lipasa para reducir los triglicéridos en sangre y para mejorar la salud.

En el presente documento también se divulgan composiciones farmacéuticas que contienen dichos inhibidores de lipasa para inhibir la absorción de grasas de la dieta para prevenir un aumento de triglicéridos en sangre.

**Medios para resolver problemas**

Como medio para resolver los problemas anteriores, los inventores han descubierto ingredientes derivados del té que inhiben la lipasa pancreática esencial para la absorción de la grasa, y se evaluó la actividad inhibidora de lipasa de varios polifenoles presentes en el mismo, y se comprobó que los monómeros o acilatos de flavan-3-ol tienen una fuerte actividad inhibidora de lipasa.

La presente invención se refiere a los siguientes puntos:

1. Un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para su uso como inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o en la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de un alimento o bebida y, además, en el que el flavan-3-ol se ha añadido al alimento o bebida.

2. Uso de un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para la fabricación de un inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o para la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de un alimento o bebida y, además, en el que el flavan-3-ol se ha añadido al alimento o bebida.

3. El flavan-3-ol para su uso según el punto 1 o el uso del punto 2, en el que el flavan-3-ol se ha añadido al alimento o bebida en una cantidad correspondiente a una ingesta del flavan-3-ol de 0,1 mg a 10 g por comida.

4. El flavan-3-ol para su uso de acuerdo con el punto 1 o 3 o el uso del punto 2 o 3, en el que el alimento o bebida se selecciona de bebidas de té, refrescos y alimentos saludables.

5. Un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para su uso como inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o en la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de una bebida enriquecida con el flavan-3-ol.

6. Uso de un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para la fabricación de un inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o para la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de una bebida enriquecida con el flavan-3-ol.

7. Un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para su uso como inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o en la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de un té enriquecido con el flavan-3-ol.

8. Uso de un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para la fabricación de un inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o para la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de un té enriquecido con el flavan-3-ol.

9. Un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para su uso como inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o en la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de una composición farmacéutica o en forma de un alimento o bebida, en el que la composición farmacéutica se selecciona de comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos, caramelos y caramelos duros, y, adicionalmente, en el que el alimento o bebida se selecciona de entre té de cebada, café, una bebida isotónica, agua potable, refrescos, cócteles, cerveza, whisky, alcoholes destilados, vino, sake, condimentos, aderezos, arroz aromatizado, alimentos procesados, alimentos preparados, alimentos de retorta, chocolates, crema fresca, pasteles, productos lácteos, alimentos saludables y suplementos.

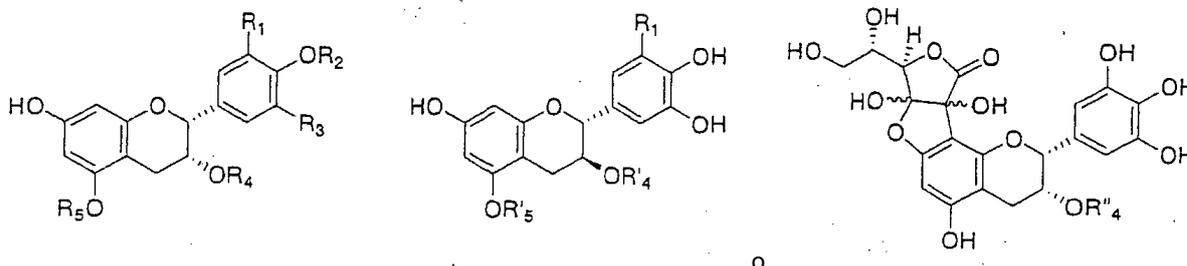
10. Uso de un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para la fabricación de un inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o para la prevención o

corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de una composición farmacéutica o en forma de un alimento o bebida, en el que la composición farmacéutica se selecciona de comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos, caramelos y caramelos duros, y, adicionalmente, en el que el alimento o bebida se selecciona de café, una bebida isotónica, agua potable, refrescos, cócteles, cerveza, whisky, alcoholes destilados, vino, sake, condimentos, aderezos, arroz aromatizado, alimentos procesados, alimentos preparados, alimentos de retorta, chocolates, crema fresca, pasteles, productos lácteos, alimentos saludables y suplementos.

11. El flavan-3-ol para su uso de acuerdo con el punto 9 o el uso del punto 10, en el que el flavan-3-ol se debe administrar en una cantidad de 0,1 mg a 10 g por dosis o comida.

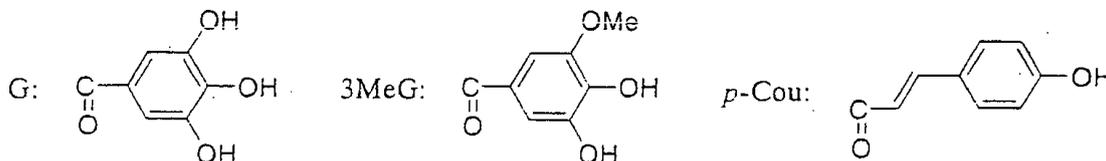
Se proporciona 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina para su uso como inhibidor de la lipasa de acuerdo con la presente invención. En el presente documento también se divulgan inhibidores de lipasa que se caracterizan por que contienen al menos uno de los monómeros de flavan-3-ol representados por la fórmula:

[Fórmula 1]



en la que R<sub>1</sub> y R<sub>3</sub> representan independientemente H u OH, R<sub>2</sub> representa H, R<sub>4</sub> representa H, G, 3MeG o p-cou, R<sub>5</sub> representa H o G, R<sub>4</sub>' y R<sub>5</sub>' representan independientemente H o G, R<sub>4</sub>'' representa H o G, y G, 3MeG y p-cou representan, respectivamente, los grupos de las fórmulas:

[Fórmula 2]



o acrilatos de los mismos.

Los ejemplos de monómeros de flavan-3-ol o acrilatos e los mismos que se divulgan en el presente documento se seleccionan del grupo que consiste en 3-O-galato de (-)-epiafzelequina (compuesto 1), 3-O-galato de (-)-epicatequina (compuesto 3), 3-O-(3'-O-metil-galato de (-)-epicatequina (compuesto 4), 3-O-galato de (-)-epigallocatequina (compuesto 6), 3-O-p-coumaroato de (-)-epigallocatequina (compuesto 8), 3-O-galato de (-)-catequina (compuesto 10), 3-O-galato de (-)-catequina (compuesto 12), 3,5-di-O-galato de galocatequina (compuesto 13), 8-C-ascorbil(-)-epigallocatequina (compuesto 14) y 3-O-galato de 8-C-ascorbil(-)-epigallocatequina (compuesto 15). El compuesto 3,5-di-O-galato de (-) - epigallocatequina (compuesto 7), que se proporciona para su uso de acuerdo con la presente invención, es especialmente ventajoso en términos de una elevada actividad inhibidora de lipasa.

El flavan-3-ol que se va a usar de acuerdo con la invención, es decir, el 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, así como otros monómeros de flavan-3-ol o acilatos de los mismos que se divulgan en el presente documento están disponibles comercialmente o se pueden obtener mediante extracción de materiales naturales, tales como té verde, té negro y té oolong disponible comercialmente. Por ejemplo, la purificación de ingredientes de flavan-3-ol a partir de hojas de té oolong se informa en Chem. Pharm. Bull. 1987; 35(2): 611-616 o Chem. Pharm. Bull. 1989; 37(12): 3255-3563 y se ha identificado la presencia de varias catequinas y acilatos de los mismos. Se puede obtener el 3,5-di-O-galato de galocatequina como se describe en el Ejemplo 2 siguiente.

#### Inhibidores de lipasa

El flavan-3-ol que se va a usar de acuerdo con la presente invención se puede usar solo como un inhibidor de lipasa sin incluir otros componentes o puede usarse como inhibidor de lipasa en combinación con disolventes o vehículos sólidos. Los disolventes o vehículos son, preferentemente, aquellos que pueden usarse de manera segura como alimentos o medicamentos en términos de usos para alimentos y bebidas y/o medicamentos como se describe a

continuación.

5 El inhibidor de lipasa de la presente invención tiene diversos usos, tales como fines experimentales y de investigación o usos como principios activos de alimentos y medicamentos para prevenir la acumulación de triglicéridos, como se define en las reivindicaciones.

#### Método para analizar la actividad inhibidora de lipasa

10 El inhibidor de lipasa de la presente invención tiene un fuerte efecto inhibidor contra las lipasas, especialmente la lipasa pancreática. La actividad inhibidora puede analizarse mediante el método descrito específicamente en el Ejemplo 1.

#### Alimentos y bebidas que contienen inhibidores de lipasa

15 El flavan-3-ol que se va a utilizar como inhibidor de lipasa de acuerdo con la presente invención se puede añadir como principio activo para inhibir la lipasa a los alimentos y bebidas para evitar un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre asociados con la ingesta de grasas dietéticas y/o reducir el aumento de los triglicéridos en sangre. Ejemplos preferentes de alimentos y bebidas incluyen los consumidos diariamente, tales como té verde, té de cebada, té oolong, té negro, café, bebida isotónica, agua potable, condimentos y aderezos. Sin embargo, los  
20 alimentos y bebidas pueden ser los que se consumen habitualmente, tales como refrescos, cócteles, cerveza, whisky, alcoholes destilados, vino, sake, condimentos, aderezos, arroz aromatizado, alimentos procesados, alimentos preparados, alimentos de retorta, chocolates, crema fresca, pasteles, productos lácteos, alimentos saludables y suplementos.

25 El inhibidor de lipasa de la presente invención se puede añadir a alimentos y bebidas en una cantidad correspondiente a una ingesta de flavan-3-ol de 0,1 mg a 10 g por comida. Sin embargo, no existe un límite superior sustancial sobre la cantidad de flavan-3-ol que se va a usar de acuerdo con la presente invención que se puede añadir a alimentos y bebidas porque deriva de alimentos y, por lo tanto, es muy seguro.

#### 30 Medicamentos que contienen inhibidores de lipasa

El flavan-3-ol que se va a usar como inhibidor de lipasa de acuerdo con la presente invención también se puede usar como principio activo de fármacos para inhibir la absorción de grasas de la dieta y prevenir y/o reducir un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre, como se define en las reivindicaciones. Tales fármacos se administran por  
35 vía oral y se seleccionan de entre comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos, caramelos y caramelos duros. La cantidad del compuesto de la presente invención es de 0,1 mg a 10 g por dosis.

Los medicamentos de la presente invención se toman de forma segura incluso durante un período prolongado debido a la elevada seguridad de los ingredientes inhibidores de la lipasa. Por lo tanto, se pueden tomar incluso  
40 sobre una base diaria para prevenir o corregir la obesidad como una enfermedad relacionada con el estilo de vida.

#### **Efecto de la invención**

45 La presente invención puede proporcionar alimentos y bebidas muy sabrosos que contienen un inhibidor de lipasa que incluye el flavan-3-ol que se utilizará de acuerdo con la presente invención, que deriva de hojas de té, para reducir los triglicéridos y para mejorar la salud sin comprometer el sabor. Las bebidas enriquecidas con este principio activo derivado del té son muy significativas porque el inhibidor debe tomarse, deseablemente, con las comidas con el fin de inhibir la absorción de las grasas de la dieta. Especialmente, la presente invención hizo posible el desarrollo  
50 de té capaces de reducir los triglicéridos enriqueciéndolos con el ingrediente que se va a usar de acuerdo con la invención.

#### **Breve explicación de los dibujos**

La figura 1 muestra las fórmulas estructurales químicas de los compuestos evaluados para determinar la actividad  
55 inhibidora de lipasa en el Ejemplo 3.

#### **Ejemplos**

##### **Ejemplo 1: Ensayo de la actividad inhibidora de lipasa**

60 Se realizó un ensayo de actividad de lipasa usando el éster oleato de 4-metilumbeliferona fluorescente (4-MUO) como sustrato para medir la fluorescencia de la 4-metilumbeliferona producida por la reacción.

65 El tampón utilizado para el ensayo fue Tris-HCl 13 mM (pH 8,0) que contenía NaCl 150 mM, CaCl<sub>2</sub>·1,36 mM. El ensayo enzimático se realizó usando una solución 0,1 M del sustrato 4-MUO (Sigma) en DMSO diluido 1:1000 en dicho tampón y una solución de lipasa pancreática porcina (Sigma) preparada a 400 U/ml también en dicho tampón.

Se inició una reacción enzimática añadiendo 25 µl de solución de lipasa/tampón después de añadir 50 µl de la solución de 4-MUO/tampón y se añadieron 25 µl de agua destilada (o una solución acuosa de cada muestra) y se mezclaron en una microplaca de 96 pocillos a 25 °C. Después de realizar la reacción durante 30 minutos, se detuvo la reacción añadiendo 100 µl de un tampón citrato 0,1 M (pH 4,2) y se midió la fluorescencia de 4-metilumbeliferona producida por la reacción (excitación 355 nm, emisión 460 nm) usando un lector de placas de fluorescencia (Fluoroskan Asent CF de Labsystems).

La actividad inhibidora de cada muestra de ensayo (incluyendo el 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina que se va a utilizar de acuerdo con la presente invención, así como varios compuestos de referencia) se determinó como la  $CI_{50}$  (µM), es decir, la cantidad de la muestra que proporciona una inhibición del 50 % de la actividad del control (agua destilada).

#### Muestras de ensayo

- 15 Los compuestos (-)-Epicatequina (compuesto 2), 3-O-galato de (-)-epicatequina (compuesto 3), (-)-epigallocatequina (compuesto 5), 3-O-galato de (-)-epigallocatequina (compuesto 6), (-)-catequina (compuesto 9), 3-O-galato de (-)-catequina (compuesto 10), (+)-galocatequina (compuesto 11) y 3-O-galato de (-)-galocatequina (compuesto 12) se adquirieron en Wako Pure Chemical Industries, Ltd.
- 20 Los compuestos 3-O-galato de (-)-epiafzelequina (compuesto 1), 3-O-(3'-O-metil-galato de (-)-epicatequina (compuesto 4), 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina (compuesto 7) y 3-O-*p*-coumarato de (-)-epigallocatequina (compuesto 8) se aislaron de acuerdo con Chem. Pharm. Bull 35 (2), 611-616 (1987) y 8-C-ascorbil(-)-epigallocatequina (compuesto 14) y 3-O-galato de 8-C-ascorbil(-)-epigallocatequina (compuesto 15) se aislaron de acuerdo con el artículo Chem. Pharm. Bull 37 (12), 3255-3563 (1989). El 3,5-di-O-galato de galocatequina (compuesto 13) se purificó mediante el método del ejemplo 2.

#### **Ejemplo 2 (Referencia):**

- 30 Las hojas de *Camellia ptilophylla* (100 g) (materia seca) se extrajeron con 2000 ml de agua caliente (90 °C) durante 4 minutos y se liofilizaron. El material liofilizado se purificó del siguiente modo. Una solución acuosa al 1 % del polvo liofilizado se adsorbió en el cartucho Sep-Pak C18 (5 ml, Waters) y se lavó con agua, después de lo cual se liofilizó una fracción eluida con acetonitrilo. Esta fracción (250 mg) se aplicó sobre Develosil C30-UG-5 (20 mm x 250 mm, Nomura Chemical Co., Ltd.) y se eluyó con un gradiente lineal de 5-30 % de acetonitrilo en presencia de TFA al 0,05 % (5 ml/min, 180 min) y se fraccionó mientras se monitorizaba la absorbancia a 280 nm. La subfracción obtenida se aplicó después sobre YMC-Pak ODS (20 x 250 mm, YMC Co., Ltd.) y se purificó mediante elución con un gradiente lineal de 20-25 % de acetonitrilo en presencia de 0,1 % de TFA (6 ml/min, 60 min) para dar 3,5-di-O-galato de galocatequina (13).

#### **Ejemplo 3: Actividad inhibidora de lipasa de las catequinas**

- 40 Las actividades inhibidoras de la lipasa de las catequinas y las catequinas aciladas, incluyendo el 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina a utilizar de acuerdo con la invención, así como los compuestos de referencia, se muestran en la Tabla 1. Las fórmulas estructurales químicas de los compuestos sometidos a evaluación se muestran en la Figura 1.

45 [Tabla 1]

Tabla 1	
compuesto	$CI_{50}$ (µM)
Flavan-3-oles	
3-O-galato de (-)-epiafzelequina (1)	2,582
(-)-Epicatequina (2)	>20
3-O-galato de (-)-epicatequina (3)	0,452
3-O-(3'-O-metil-galato de (-)-epicatequina (4)	0,680
(-)-Epigallocatequina (5)	>20
3-O-galato de (-)-epigallocatequina (6)	0,349
3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina (7)	0,098
3-O- <i>p</i> -coumarato de (-)-epigallocatequina (8)	0,885
(+)-catequina (9)	>20
3-O-galato de (-)-catequina (10)	0,543
(+)-galocatequina (11)	>20
3-O-galato de (-)-galocatequina (12)	0,437
3,5-di-O-galato de (-)-galocatequina (13)	0,213
8-C-ascorbil(-)-epigallocatequina (14)	0,646
3-O-galato de 8-C-ascorbil(-)-epigallocatequina (15)	0,791

Entre las catequinas principales (8 catequinas correspondientes a los compuestos 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11, 12) presentes en los tés, cuatro flavan-3-oles que tienen un resto galato unido a través de un enlace éster (compuestos 3, 6, 10, 12) mostraron actividad inhibidora de lipasa. Especialmente, la 3-O-galato de (-)-epigalocatequina (EGCG: 6) que se encuentra más abundantemente en las hojas de té mostró la mayor actividad entre estas catequinas. La 3,5-di-O-galato de (-)-epigalocatequina (7) que tiene una molécula de galato adicional unida a EGCG mostró una actividad aproximadamente 3,5 veces mayor que la de EGCG y la 3,5-di-O-galato de galocatequina (13 ) que tiene una molécula de galato adicional unida al 3-O-galato de (-)-galocatequina (GCG: 12) mostró una actividad aproximadamente dos veces mayor que la de GCG. Los compuestos que no tienen grupo galato en su molécula, tal como (+)-catequina, no mostraron actividad inhibidora de lipasa y la actividad aumentó con el número de grupos galato, lo que demuestra que se requiere la presencia de un grupo galato en la molécula para producir actividad.

## REIVINDICACIONES

1. Un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para su uso como inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o en la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de un alimento o bebida y, además, en el que el flavan-3-ol se ha añadido al alimento o bebida.
2. Uso de un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para la fabricación de un inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o para la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de un alimento o bebida y, además, en el que el flavan-3-ol se ha añadido al alimento o bebida.
3. El flavan-3-ol para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el flavan-3-ol se ha añadido al alimento o bebida en una cantidad correspondiente a una ingesta del flavan-3-ol de 0,1 mg a 10 g por comida.
4. El flavan-3-ol para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 3 o el uso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que el alimento o bebida se selecciona de bebidas de té, refrescos y alimentos saludables.
5. Un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para su uso como inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o en la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de una bebida enriquecida con el flavan-3-ol.
6. Uso de un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para la fabricación de un inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o para la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de una bebida enriquecida con el flavan-3-ol.
7. Un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para su uso como inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o en la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de un té enriquecido con el flavan-3-ol.
8. Uso de un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para la fabricación de un inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o para la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de un té enriquecido con el flavan-3-ol.
9. Un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para su uso como inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o en la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de una composición farmacéutica o en forma de un alimento o bebida, en el que la composición farmacéutica se selecciona de comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos, caramelos y caramelos duros, y, adicionalmente, en el que el alimento o bebida se selecciona de entre té de cebada, café, una bebida isotónica, agua potable, refrescos, cócteles, cerveza, whisky, alcoholes destilados, vino, sake, condimentos, aderezos, arroz aromatizado, alimentos procesados, alimentos preparados, alimentos de retorta, chocolates, crema fresca, pasteles, productos lácteos, alimentos saludables y suplementos.
10. Uso de un flavan-3-ol, a saber 3,5-di-O-galato de (-)-epigallocatequina, para la fabricación de un inhibidor de lipasa en la reducción de un aumento indeseable de los triglicéridos en sangre y/o para la prevención o corrección de la obesidad, en el que el flavan-3-ol se proporciona en forma de una composición farmacéutica o en forma de un alimento o bebida, en el que la composición farmacéutica se selecciona de comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos, caramelos y caramelos duros, y, adicionalmente, en el que el alimento o bebida se selecciona de café, una bebida isotónica, agua potable, refrescos, cócteles, cerveza, whisky, alcoholes destilados, vino, sake, condimentos, aderezos, arroz aromatizado, alimentos procesados, alimentos preparados, alimentos de retorta, chocolates, crema fresca, pasteles, productos lácteos, alimentos saludables y suplementos.
11. El flavan-3-ol para su uso de acuerdo con la reivindicación 9 o el uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el flavan-3-ol se debe administrar en una cantidad de 0,1 mg a 10 g por dosis o comida.

Figura 1 Fórmulas estructurales químicas de las muestras de ensayo evaluadas por la actividad inhibidora de lipasa

(A) Flavan-3-oles

