(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 739 133**

(21) Número de solicitud: 201830740

(51) Int. Cl.:

A61K 36/53	(2006.01)
A61P 3/04	(2006.01)
A61P 3/10	(2006.01)
A61P 9/14	(2006.01)
A61P 9/10	(2006.01)

(12) PATENTE DE INVENCIÓN CON EXAMEN B2

(22) Fecha de presentación:

20.07.2018

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

29.01.2020

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

30.03.2020

Fecha de concesión:

01.06.2020

(45) Fecha de publicación de la concesión:

08.06.2020

(73) Titular/es:

FUNDACIÓN IMDEA ALIMENTACIÓN (25.0%)
Carretera de Cantoblanco, 8
28049 Madrid (Madrid) ES;
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID (25.0%);
IGENFARMA, S.L. (30.0%) y
FUNDACION PARA LA INVESTIGACION BIOMEDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA PAZ (20.0%)

(72) Inventor/es:

REGLERO RADA, Guillermo;
TORRES OLIVARES, Carlos Fernando;
RAMÍREZ DE MOLINA, Ana;
TABERNERO URBIETA, María;
DE MIGUEL DEL CAMPO, Enrique;
ÁLVAREZ GÓMEZ DE SEGURA, Ignacio;
LARGO ARAMBURU, Carlota;
SANTAMARÍA RAMIRO, Mónica;
POLO PAREDES, Gonzálo y
RUÍZ PÉREZ, Daniel

(74) Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

(54) Título: **COMPOSICIÓN PARA LA REDUCCIÓN DEL DECLIVE METABÓLICO ASOCIADO AL ENVEJECIMIENTO Y/O EL TRATAMIENTO DE TRASTORNOS RELACIONADOS AL METABOLISMO LIPÍDICO**

(57) Resumen:

Composición para la reducción del declive metabólico asociado al envejecimiento y/o el tratamiento de transtornos relacionados al metabolismo lipídico.
La presente invención se dirige a composiciones que comprenden extracto de Rosmarinus officinalis y de otras plantas, así como a suplementos nutricionales que comprenden dichas composiciones, así como al uso de dichas composiciones para la reducción del declive metabólico y de patologías que resultan de dicho declive.

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.
Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

ES 2 739 133 B2

DESCRIPCIÓN

COMPOSICIÓN PARA LA REDUCCIÓN DEL DECLIVE METABÓLICO ASOCIADO AL ENVEJECIMIENTO Y/O EL TRATAMIENTO DE TRANSTORNOS RELACIONADOS AL METABOLISMO LIPÍDICO

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se dirige a composiciones que comprenden extracto de *Rosmarinus officinali*s y de otras plantas, así como a suplementos nutricionales que comprenden dichas composiciones, y al uso de dichas composiciones para la reducción del declive metabólico y de patologías que resultan de dicho declive.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

En la dieta mediterránea, las frutas juegan un papel esencial como fuentes de compuestos bioactivos y nutrientes. Por ejemplo, las semillas de uva (*Vitis vinifera*) son una importante fuente natural de polifenoles y proantocianidinas oligoméricas. La mayor parte de investigaciones de polifenoles y proantocianidinas oligoméricas se centran en el estudio de la capacidad de contrarrestar el efecto negativo del estrés oxidativo. De manera similar los frutos de la granada (*Punica granatum*) han sido ampliamente estudiado por su elevado contenido en compuestos fitoquímicos, minerales y vitaminas. Destaca por su contenido en elagitaninos y punicalagina, compuestos antioxidantes con potencial efecto anticancerígeno (Vini R et al, Biofactors, 2015, 41(2):78-89),

El consumo de infusiones a base de hierbas muestra un patrón desigual en las áreas mediterráneas. Mientras que las áreas Europeas su consumo es limitado y reducido en comparación con otro tipo de bebidas, en las áreas mediterráneas correspondientes al norte de África el consumo de infusiones está ampliamente extendido, formando parte de la tradición islámica. Entre las infusiones más consumidas se encuentra el té (*Camellia sinensis*) y la flor de hibisco o agua de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*): Ambas infusiones contienen cantidades elevadas de compuestos antioxidantes, siendo característico del té la presencia de polifenoles tales como catequinas, mientras que las infusiones de hibisco se caracterizan por su intenso color rojo producido por su contenido en antocianinas. Ambas plantas han sido estudiadas por sus efectos beneficiosos en salud, como anticancerígenos (Conde VR et al, Anticancer agents med chem, 2015, 15 (1), 26-36) o antihipertensivos (Serba C, J Hypertens, 2015, 33(6) 119-27). La curcumina es el pigmento amarillo obtenido de las semillas de cúrcuma (*Curcuma longa*), especia popular de la cocina hindú presente en la elaboración del

curry. La cúrcuma es una planta herbácea perenne con rizomas muy ramificados de intenso color amarillo y profundo aroma. La distribución geográfica de estas plantas abarca desde la polinesia al sudeste asiático y es utilizada en la producción de especias. El consumo de cúrcuma está ampliamente instaurado en Asia, alcanzando la ingesta media en India unos 200 mg/día. Se ha descrito que extractos de cúrcuma con altas concentraciones de curcumina de alta disponibilidad tienen la capacidad de reducir el dolor articular y mejorar la función motora en enfermos de osteoartritis (Belcaro G et al, Alt Med Rev, 2010, 15(4), 337-44). También se ha descrito el potencial del extracto de cúrcuma en la mejora de la capacidad visual (Allegri P et al, Clinical Ophthalmology, 2010, 4, 1201—1206).

Entre las especies tradicionalmente empleadas en la dieta mediterránea destaca también el uso del romero (*Rosmarinus officinalis*). Entre las propiedades de esta planta destaca el potente efecto antioxidante, que ha sido atribuido a algunos de sus componentes, como el carnosol, los ácidos carnósico y el rosmarinico, y flavonoides.

Por ello, diferentes dietas aportan compuestos con alto potencial en la promoción de la salud. Sin embargo, diversas circunstancias, como el estilo de vida, los hábitos alimentarios o las preferencias culinarias, hacen que parte de la población no se beneficie de los potenciales efectos saludables de plantas y especias. Por otro lado, el contenido de estos compuestos es normalmente reducido, lo que hace que las dosis obtenidas dentro de una dieta equilibrada no lleguen al mínimo eficaz. Es por tanto recomendable en determinados estados y/o patologías la administración de suplementos o fármacos. En este sentido, el reto en los tratamientos preventivos y terapéuticos es conseguir una alta eficacia en la intervención sobre los mecanismos moleculares a los que van dirigidos, con la mayor seguridad y aceptación para el paciente. En los últimos años los consumidores han incrementado su aceptación y demanda de productos naturales, extractos o fracciones de materias primas de origen vegetal o animal. La seguridad y aceptabilidad es aún mayor cuando dichos extractos o fracciones se obtienen mediante tecnologías físicas limpias.

Por otro lado, siempre es deseable que una composición sea capaz de prevenir o tratar diferentes aspectos de un perfil patológico, especialmente en el caso de pacientes que sufren diferentes enfermedades o patologías que requieren de tratamiento en su conjunto, como ocurre por ejemplo en casos de pacientes que sufren síndrome metabólico o durante el declive metabólico asociado al envejecimiento (Schaab et al, PloS One, 2012, 7(4): e34787).

Por ello, la presente invención tiene por objetivo el proporcionar una composición natural eficaz y segura en el tratamiento de enfermedades o trastornos metabólicos, que sea en especial capaz de paliar diferentes tipos de dichas enfermedades o trastornos metabólicos simultáneamente a través de diferentes mecanismos.

COMPENDIO DE LA INVENCIÓN

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que composiciones que comprenden extracto de *Rosmarinus officinalis*, y extractos adicionales de determinadas plantas logran dicho objetivo. En particular, se ha observado inesperadamente que dichas composiciones actúan a nivel global, en diferentes tejidos y sistémicamente de manera simultánea.

Por ello, en un primer aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende extracto de *Rosmarinus officinalis*, y al menos un extracto adicional seleccionado de entre: extracto de semilla de *Vitis vinífera*, extracto de rizoma de *Cúrcuma longa*, extracto de hoja de *Camellina sinensis*, extracto de cáliz de *Hibiscus sabdariffa*, y extracto de fruto de *Punica granatum*.

En un segundo aspecto, la invención se refiere a la composición del primer aspecto para su uso en la prevención o el tratamiento de una o más enfermedades o trastornos metabólicos.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Efecto de la composición de la invención en la diferenciación de adipocitos y expresión de PPARɣ y C/EBPα.

Figura 2. Expresión génica de A) Adam 10; Vegfb y Ucp1 en tejido adiposo blanco y B) Srrt, Vegfb y Lepr en tejido adiposo pardo. (CC): control; (CT) tratado.

Figura 3. Peso medio de los hígados tras la intervención. Los asteriscos indican diferencia significativa. La franja indica el intervalo de valores obtenido en el grupo de animales sanos.

Figura 4. Incremento de la expresión génica de genes implicados en procesos de proliferación celular en hígado de animales tratados con la composición de la invención.

Figura 5. Modulación de la expresión génica de genes implicados en homeostasis metabólica de lípidos y carbohidratos en hígado de animales tratados con el compuesto de la invención.

Figura 6: Evolución del peso medio de los animales según el grupo experimental. Los asteriscos indican diferencias significativas ($p<0.05$) respecto al grupo control de dieta grasa.

Figura 7: Determinaciones antropométricas. Ganancia total de peso corporal y peso de los depósitos grasos en área retroperitoneal y epididimal en animales control y tratados con el compuesto de la invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Los autores de la presente invención han observado que, sorprendentemente, se puede utilizar una nueva composición que comprende extractos obtenidos a partir de la planta *Rosmarinus officinali*s y de otras determinadas plantas para la reducción de los procesos relacionados con el declive metabólico, en especial aquel asociado al envejecimiento. Concretamente, las composiciones presentan un potente efecto a nivel global en la ganancia de peso, tanto preventivo como paliativo. Además a nivel sistémico es eficaz en la reducción de lípidos circulantes y glucosa así como una mejora en la capacidad antioxidante del plasma y una sorprendente reducción en las concentraciones de leptina circulante. Los extractos de otras plantas se seleccionan preferiblemente de entre: extracto de semilla de *Vitis vinífera*, extracto de rizoma de *Cúrcuma longa*, extracto de hoja de *Camellina sinensis*, extracto de cáliz de *Hibiscus sabdariffa*, y extracto de fruto de *Punica granatum*.

En una realización preferida, los extractos de dichas otras determinadas plantas se seleccionan preferiblemente de entre: extracto de semilla de *Vitis vinífera* y extracto de rizoma de *Cúrcuma longa*. Más preferiblemente, la composición comprende extracto de *Rosmarinus officinalis*, extracto de semilla de *Vitis vinífera* y extracto de rizoma de *Cúrcuma longa*.

En otra realización preferida, los extractos de dichas otras determinadas plantas se seleccionan preferiblemente de entre: extracto de hoja de *Camellina sinensis*, extracto de cáliz de *Hibiscus sabdariffa*, y extracto de fruto de *Punica granatum*. Más preferiblemente, la composición comprende extracto de *Rosmarinus officinalis*, extracto de hoja de *Camellina sinensis*, extracto de cáliz de *Hibiscus sabdariffa*, y extracto de fruto de *Punica granatum*.

Adicionalmente se observa un inesperado efecto en órganos diana de la regulación metabólica que son el tejido adiposo (blanco y pardo) y el hígado. Sorprendentemente, las composiciones de la invención demuestran un efecto positivo promoviendo la expresión de marcadores de vascularización tanto de tejido adiposo blanco como

pardo, un parámetro de gran relevancia en la prevención de enfermedades metabólicas. La importancia biológica de este parámetro es crítica, especialmente cuando la demanda energética es inferior a la energía obtenida por la dieta, como puede suceder durante el envejecimiento (por un descenso en la tasa metabólica) o estados obesogénicos (por un aumento de ingesta energética). Como consecuencia del exceso energético el cuerpo promueve el incremento del volumen del tejido adiposo. Cuando este incremento se mantiene en el tiempo la vascularización existente es insuficiente para la correcta oxigenación de los adipocitos. La hipoxia localizada genera procesos inflamatorios y muerte celular que termina desencadenando resistencia a insulina. Por lo tanto, la correcta vascularización del tejido adiposo se propone como una nueva vía terapéutica en el mantenimiento de la homeostasis metabólica.

Además de esto, las composiciones de la invención proporcionan dos importantes efectos en el hígado. Por un lado, un beneficioso efecto en la regeneración tisular hepática, manteniendo el tamaño del órgano dentro de los niveles considerados como normales. La importancia biológica de este parámetro es clave en procesos de envejecimiento, cuando la renovación celular se ve disminuida. Por otro lado, a nivel hepático un efeto de modulación metabólica beneficiosa, tanto a nivel de metabolismo lipídico como en la homeostasis del glucógeno. La importancia biológica de este parámetro es elevada y está relacionada con una mejor tolerancia al estrés metabólico y a la homeostasis energética.

Tal como se usa en la presente invención, los términos *Rosmarinus officinalis* y romero son intercambiables. La composición de la invención comprende un extracto de romero obtenido a partir de las inflorescencias y partes superiores, tal como las hojas, del arbusto. El extracto de romero se puede obtener por métodos clásicos convencionales conocidos en el campo de la técnica. Entre los distintos métodos de extracción de romero, se utilizan la extracción con solventes, la extracción por prensado o la extracción con fluidos supercríticos.

Algunos de los compuestos mayoritarios y que se encuentran presentes en los extractos obtenidos a partir de *Rosmarinus officinalis* son por ejemplo, aunque sin limitarse, rosmanol, rosmadial, epirosmanol, isorosmanol, carnosol, rosmaridifenol, rosmariquinona, ácido carnósico, ácido rosmarínico, metil carnosato, flavonoides como genkwanina, escutellareina y otros compuestos como verbenona, alcanfor, borneol y 1,8-cineol. El carnosol, que junto con el ácido carnósico y el rosmarinico es uno de los

más potentes antioxidantes de estos compuestos, es el componente generalmente el componente mayoritario alcanzando el 90% de los extractos.

Preferiblemente, el extracto comprende entre 15 y 35%, entre 20 y 30%, o entre 24 y 26%, en peso de diterpenos fenólicos (preferiblemente incluyendo más del 10% ácido carnósico) respecto del peso total del extracto, preferiblemente respecto del peso total en seco del extracto. En el contexto de la presente invención, el peso en seco de un extracto es el peso de dicho extracto cuando comprende menos del 5%, preferiblemente menos del 1%, en peso, o entre 5 y 0,5%, preferiblemente entre 1 y 0,1%, en peso de la suma de solventes que se hayan empleado en la extracción del extracto y agua.

En el caso de la extracción con solventes, el material (el arbusto o parte del mismo) preferiblemente es molido, macerado o picado antes de someterlo a la extracción con el solvente, para permitir así mayor área de contacto entre el sólido y el solvente. Se realiza preferiblemente a temperatura y presión ambientales. El proceso puede ejecutarse en batch (por lotes) o en forma continua (tal como la percolación, lixiviación y extracción tipo soxhlet). Los solventes más comúnmente empleados son etanol, metanol, isopropanol, hexano, ciclohexano, tolueno, xileno, ligroína, éter etílico, éter isopropílico, acetato de etilo, acetona, cloroformo, etc. El siguiente paso es separar el solvente del extracto mediante evaporación, destilación al vacío, destilación molecular o mediante extracción por fluidos supercríticos.

Un segundo método es la extracción por prensado, en donde el material vegetal es sometido a presión, bien sea en prensas tipo batch o en forma continua, utilizándose por ejemplo los siguientes equipos: tornillo sin fin de alta o de baja presión, extractor expeller, extractor centrífugo, extractor decanter o rodillos de prensa.

En cuanto a la extracción en condiciones supercríticas, el punto crítico corresponde a las condiciones de temperatura y presión, para un gas o un vapor, por encima de las cuales la sustancia ya no puede ser “licuada” por incremento de presión. Adicionalmente las propiedades de la fase líquida y/o vapor son las mismas, es decir no hay diferenciación visible ni medible entre gas y líquido. En una realización particularmente preferida de la invención, el extracto de romero de las composiciones de la invención se obtiene mediante extracción con fluidos supercríticos, preferiblemente empleando dióxido de carbono (CO_2) supercrítico. El dióxido de carbono (CO_2) en estas condiciones presenta baja viscosidad, baja tensión superficial, alto coeficiente de difusión, que conlleva a un alto contacto con la superficie del material y puede penetrar a pequeños poros y rendijas del mismo lo que asegura una

buena eficiencia en la extracción en un corto tiempo. En la parte final del proceso hay una eliminación total del solvente y se realiza a una temperatura baja, se disminuye la pérdida de sustancias volátiles y se evita la formación de sabores y olores extraños. En una realización más preferida de la invención, la obtención del extracto de romero de dichas composiciones se realiza con dióxido de carbono supercrítico, y empleando co-disolventes tal como un alcohol, por ejemplo el etanol, preferiblemente en cantidades de alcohol de 10% o menos con respecto al peso total de la suma del CO_2 y el alcohol. En una realización aún más preferida, la extracción se realiza con dióxido de carbono a una temperatura del dióxido de carbono superior a 30 ºC, o comprendida entre 30 ºC y 70 ºC, o más preferiblemente de 31,10 ºC o superior, o comprendida entre 31,10 ºC y 70 ºC; y a una presión de dióxido de carbono de 73,86 bar o superior, preferiblemente comprendida entre 200 y 300 bar. En otras palabras, el extracto de *Rosmarinus officinalis* es un extracto CO_2 supercritico o CO_2 supercrítico-alcohólico.
En una realización, la extracción se lleva a cabo con un equipo de lixiviación de lecho fijo utilizando alcohol isopropílico como solvente, para posteriormente separar el solvente del extracto mediante destilación al vacío o mediante extracción por fluidos supercríticos. Para ello, se necesita disponer de las hojas de romero molidas y secadas previamente a la extracción. El extracto resultante, verde y altamente viscoso, se suele someter a concentración por destilación molecular.
De manera alternativa, los extractos pueden obtenerse a partir de fuentes comerciales, tales como el producto Rosemary Antoioxidant extract 25 (type No. 027.020) de FLAVEX Naturextrakte GmbH.

Tal como se usa en la presente memoria, los términos “uva” y “*Vitis vinifera*” así como “semilla” y “pepita” se utilizan de manera intercambiable. Los extractos de semilla de uva son conocidos en el estado de la técnica. Generalmente están constituidos por una mezcla de polifenoles, más concretamente de flavonoides (monómeros) y sus respectivas proantocianidinas (dímero o superior). En una realización, los flavonoides son la (+) catequina, (-) epicatequina y sus galatos, mientras que las proantocianidinas son los derivados poliméricos de estos (dímero o superior).
Ejemplos de derivados poliméricos de la (-) epicatequina son los dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros, hexámeros, heptámeros, y preferiblemente los dímeros, trímeros, tetrámeros.
En una realización el extracto de semilla de uva comprende entre 20 y 35%, o entre 25 y 30%, en peso de flavonoides más proantocianidinas respecto del peso total del

extracto, preferiblemente respecto del peso total en seco del extracto. En otra realización el extracto de semilla de uva comprende entre 20 y 35%, o entre 25 y 30%, en peso de proantocianidinas respecto del peso total del extracto, preferiblemente respecto del peso total en seco del extracto.

En una realización el extracto de semilla de uva comprende entre el 0,1 y 10% en peso de la suma de los pentámeros, hexámeros y heptámeros de la (-) epicatequina, y de sus respectivas sales gálicas, respecto del peso de la suma de todos los flavonoides y proantocianidinas presentes en el extracto; aún más preferiblemente esta cantidad está comprendida entre el 3 y el 7%, y particularmente preferidamente entre el 4 y el 6%.

En una realización particular preferida, las cantidades en peso de los diferentes componentes son las que siguen, siempre con respecto al peso total de flavonoides y proantocianidinas presentes en el extracto:

5-25%, preferiblemente 15%: (+)-catequina más (-)-epicatequina;

60-90%, preferiblemente 80%: suma de galato, dímeros, trímeros, tetrámeros de (-)-epicatequina y galatos de los mismos;

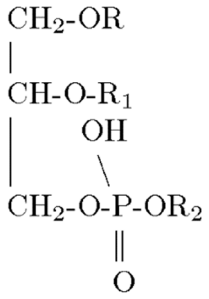
1-20%, preferiblemente: 5% suma de pentámeros, hexámeros y heptámeros de (-)-epicatequina y galatos de los mismos;

con la condición de que la suma de los porcentajes de los componentes sume 100%.

Los extractos de semillas de *Vitis vinifera* se pueden preparar extrayendo y purificando las semillas frescas o secas. La extracción se puede realizar con diferentes disolventes polares tales como agua, acetona, acetato de etilo, alcoholes (tales como metanol, etanol, butanol) o mezclas de los mismos. En el contexto de la presente invención, el término disolvente “polar” se refiere a un disolvente con un momento dipolo de más de 1.70 D, mientras que si el valor es inferior al indicado se trata de un disolvente “apolar”. El documento GB 1541469 A describe la extracción de las semillas de uva empleando una mezcla de acetona y agua. El documento EP 0348781 A2 de manera similar se refiere a la extracción en agua y disolvente orgánico tal como alcoholes o acetona, y describe además etapas adicionales de enriquecimiento del extracto por filtración. En otras palabras, el extracto de semillas de *Vitis vinífera* es un extracto de disolvente polar.

En una realización preferida, el extracto de semilla de uva forma un complejo con al menos un fosfolípido. Tales complejos pueden prepararse según los procedimientos descritos en el documento ES 2056943 T3, cuyo contenido se incorpora en la presente en su totalidad.

En una realización, los complejos se forman por reacción del extracto de *Vitis vinifera* con fosfolípidos (de origen vegetal, animal o sintético), que responden con la fórmula general:



en la que R y R_1, idénticos o diferentes, representan un grupo –C(=O)alquilo, que se obtiene por reacción del alcohol en donde R y R_1 son H, con ácidos grasos naturales tales como los ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico; mientras que OR_2 representa un grupo aminoalcohol alifático, y preferiblemente es $-(CH_2)_2-N^+-(CH_3)_3$; $-(CH_2)_2-NH_2$, ó $-(CH_2)-(C(COOH)H)-NH_2$, tal como se describe en ES 2056943 T3.

Los fosfolípidos preferidos son la lecitina de soja o de huevo, los fosfolípidos de cerebro y piel de buey o de tocino y las fosfatidilcolinas, fosfatidilserinas y fosfatidiletanolaminas, cuyos ésteres derivan de los ácidos grasos antes citados.

En estos complejos, la relación molar de fosfolípido a moléculas de flavonoide y proantocianidina combinadas está en general comprendida entre 0,5 y 3, preferiblemente es 1.

Los complejos se preparan por adición de los fosfolípidos sobre el extracto que comprende los flavonoides y proantocianidinas en un disolvente inerte, preferiblemente apolar tal como el dioxano. Los complejos se separan después del disolvente por ejemplo por evaporación. La cabeza polar del fosfolípido se adhiere a los flavonoides y proantocianidinas, mientras parte soluble en grasa (cuerpo y cola) envuelven el material adherido a la colina. El resultado es que se produce una pequeña microesfera o célula, con la cual los componentes valiosos del extracto herbario son protegidos de la destrucción por las secreciones digestivas y las bacterias intestinales.

En una realización el complejo que comprende el extracto de semilla de uva comprende entre 20 y 35%, o entre 25 y 30%, en peso de flavonoides más proantocianidinas respecto del peso total del complejo, preferiblemente respecto del peso total en seco del complejo. En otra realización el complejo que comprende el extracto de semilla de uva comprende entre 20 y 35%, o entre 25 y 30%, en peso de

proantocianidinas respecto del peso total del complejo, preferiblemente respecto del peso total en seco del complejo.

Los extractos de semilla de uva también pueden obtenerse a partir de fuentes comerciales, tal como el producto Leucoselect Phytosome de Indena S.p.A.

Tal como se usa en la presente memoria, los términos “cúrcuma”, “curcumina” y “*Cúrcuma longa*” así como “raíz” y “rizoma” se utilizan de manera intercambiable.

El extracto de raíz de *Cúrcuma longa* puede prepararse por procedimientos conocidos en la técnica. Preferiblemente, la raíz incluye los rizomas primarios y los varios rizomas secundarios cilíndricos múltiples que crecen hacia abajo desde los rizomas primarios. La raíz incluye los compuestos curcuminoides. En una realización, los compuestos curcuminoides son la curcumina, la desmetoxicurcumina y la bisdesmetoxicurcumina.

La raíz se trata preferiblemente de una manera tal que proporcione los curcuminoides en una condición uniforme y fácilmente accesible. Tales tratamientos incluyen hervir, curar y subsiguiente secado de la raíz, tras lo cual se procede a la separación de los curcominoides. La separación incluye cualquier procedimiento de separación tal como una precipitación, una extracción, una filtración o una destilación.

En una realización preferida, la etapa de separación es una extracción realizada añadiendo uno o más disolventes orgánicos al material que contiene curcuminoide. La adición de cualquier disolvente adecuado al material que contiene curcuminoide sirve para llevar a cabo una extracción. Ejemplo de disolventes adecuados son los hidrocarburos aromáticos, hidrocarburos alifáticos tales como éter de petróleo, heptano, pentano, hexano; hidrocarburos clorados tales como dicloruro de etileno, diclorometano, tricloroetileno; cetonas tales como la acetona; ésteres tales como acetato de etilo; alcoholes tales como alcohol metílico, alcohol etílico, alcohol isopropílico y n-butanol, o mezclas de estos con agua; o cualquier mezcla de los mismos. En una realización, el disolvente es polar. En otra realización el disolvente es apolar.

En otra realización la extracción es una extracción súpercrítica utilizando dióxido de carbono como disolvente, tal y como se ha descrito más arriba para el extracto de *Rosmarinus officinali*s.

En una realización, el extracto obtenido es una forma líquida, una forma semi-líquida o una forma sólida.

En una realización, el extracto comprende entre 15 y 25%, o entre 18 y 22%, en peso de curcuminoides respecto del peso total del extracto, preferiblemente respecto del peso total en seco del extracto.

En una realización, la proporción de los tres curcuminoides arriba mencionados en el extracto es: curcumina 50-70%, demetoxi-curcumina 10-30% y bis-demetoxi-curcumina 10-30%; en peso respecto del peso combinado de los tres curcuminoides, con la condición de que el porcentaje sume el 100%.

En una realización preferida, el extracto de raíz de *Curcuma longa* forma un complejo con fosfolípidos. Tales complejos pueden prepararse según los procedimientos descritos en el documento US 2009/0131373 A1, cuyo contenido se incorpora en la presente en su totalidad.

En una realización, los complejos se forman por reacción del extracto de raíz de *Curcuma longa* con fosfolípidos (de origen vegetal o sintético). Preferiblemente, el fosfolípido es la lecitina de soja, tal como fosfatidil colina, fosfatidil serina y fosfatidil etanolamina.

Preferiblemente, los complejos se preparan adicionando el fosfolípido al extracto, preferiblemente hydroalcohólico, más preferiblemente etanólico, que comprende los curcuminoides, en un disolvente prótico, preferiblemente en un disolvente alcohólico. Preferiblemente, la adición se lleva a cabo bajo reflujo y agitación. La suspensión que resulta de la adición se concentra bajo presión reducida, y el residuo resultante se seca.

La relación molar de fosfolípidos a curcuminoide se encuentra en el rango de de 10:1 a 1:10, preferiblemente de 5:1 a 1:2, y más preferiblemente es de 2:1.

Preferiblemente, el complejo comprende entre 15 y 25%, o entre 18 y 22%, en peso de curcuminoides respecto del peso total del complejo, preferiblemente respecto del peso total en seco del complejo.

Tal como se usa en la presente memoria, los términos “té”, “té verde” y “Camellina sinensis” así como “infusión” y “extracto de hoja u “hojas” se utilizan de manera intercambiable. Los extractos de hoja de té verde son conocidos en el estado de la técnica. Generalmente están constituidos por una mezcla de polifenoles, en especial flavonoides y proantocianidinas polifenólicos, más concretamente de catequinas y sus respectivos derivados como el galato de epigalocatequina. En una realización, los flavonoides son la (+) catequina, (-) epicatequina y sus galatos, mientras que las proantocianidinas son los derivados poliméricos de estos (dímero o superior). Ejemplos de derivados poliméricos de la (-) epicatequina son los dímeros, trímeros,

tetrámeros, pentámeros, hexámeros, heptámeros, y preferiblemente los dímeros, trímeros, tetrámeros. En una realización el extracto de hoja de té comprende entre 40 y 65%, o entre 35 y 60%, en peso de polifenoles respecto del peso total del extracto, preferiblemente respecto del peso total en seco del extracto. En una realización el extracto de hoja de té verde comprende entre el 0,1 y 15% en peso de la suma de los pentámeros, hexámeros y heptámeros de la (-) epicatequina, y de sus respectivas sales gálicas, respecto del peso de la suma de todos los flavonoides y proantocianidinas presentes en el extracto; aún más preferiblemente esta cantidad está comprendida entre el 3 y el 7%, y particularmente preferidamente entre el 4 y el 6%. Los extractos de hojas de Camellia sinensis se pueden preparar por extracción de las hojas mediante diferentes disolventes polares tales como agua, acetona, acetato de etilo, alcoholes (tales como metanol, etanol, butanol) o mezclas de los mismos, y más preferiblemente con agua, es decir que el extracto de hoja de *Camellina sinensis* es preferiblemente un extracto acuoso. Más concretamente, las hojas, preferiblemente secadas, se muelen y someten a la extracción para obtener un extracto. El disolvente se elimina del extracto y el residuo resultante se seca, preferiblemente por liofilización, preferiblemente hasta obtener un polvo. Por ello, en una realización, el extracto está preferiblemente en forma de polvo.

Tal como se usa en la presente memoria, los términos “hibisco”, “hibiscum”, “flor de jamaica” y “Hibiscus sabdariffa” así como “infusión”, “agua” y “extracto” así como “cáliz” y “flor” se utilizan de manera intercambiable. Los extractos de cáliz de hibisco son conocidos en el estado de la técnica. Generalmente están constituidos por una mezcla de compuestos fenólicos y ácidos orgánicos, más concretamente de ácidos fenólicos como el ácido protocatecuico y las antocianinas como delfinidin-3-O-sambubiosido, delfinidin-3-O-glucósido (mirtillin) y cianidin-3-O-sambubiosido. En cuanto a los ácidos orgánicos es característica la presencia de ácido hidroxicitrico y ácido hibiscus. En una realización el extracto de flor de jamaica comprende entre 4 y 6,5%, o entre 4,5 y 6%, en peso de antocianinas respecto del peso total del extracto, preferiblemente respecto del peso total en seco del extracto. En una realización el extracto de flor de jamaica comprende entre el 0,01 y 5% en peso de la suma de los pentámeros, hexámeros y heptámeros de la (-) epicatequina, y de sus respectivas sales gálicas, respecto del peso de la suma de todos los flavonoides y proantocianidinas presentes en el extracto; aún más preferiblemente esta cantidad está comprendida entre el 0, 1 y el 1%, y particularmente preferidamente entre el 0,3 y el 0,6%. Los extractos de cálices de *Hibiscus sabdariffa* se pueden preparar

extrayendo y purificando los cálices, preferiblemente secos, mediante diferentes disolventes polares tales como agua, acetona, acetato de etilo, alcohol (tal como metanol, etanol, butanol, preferiblemente etanol) o mezclas de los mismos, y preferiblemente agua, alcohol o una combinación de los mismos, y aún más preferiblemente una combinación de agua y alcohol, preferiblemente el alcohol es etanol. En una realización preferida, el extracto de cálices de flores de Hibiscus se obtiene mediante una extracción sólido líquido empleando una mezcla de etanol y agua, preferiblemente de 1:10 a 10:1 y más preferiblemente de 1:1. Posteriormente puede reducirse o eliminarse el disolvente del extracto. Por ello, en una realización preferida, el extracto de cáliz de *Hibiscus sabdariffa* es un extracto acuoso-alcohólico.

Tal como se usa en la presente memoria, los términos “granada” y “Punica granatum” así como “fruto” y “fruta” se utilizan de manera intercambiable. Los extractos de fruto de granada son conocidos en el estado de la técnica. Generalmente están constituidos por una mezcla de compuestos fenólicos entre los que destacan las antocianinas (mono- y di-glicósidos de cianidina, pelargonidina y delfinidina) y taninos hidrolizables (galotaninos, elagitaninos, y los galagilésteres). Específicamente esta fruta es rica en punicalagina y punicalina. Estas moléculas contienen monómeros de ácido elágico esterificado entre sí mismo y con otros compuestos fenólicos. En una realización el extracto de granada comprende 30 y 55%, o entre 35 y 50%, en peso de ácido elágico respecto del peso total del extracto, preferiblemente respecto del peso total en seco del extracto. En una realización el extracto de granada comprende entre el 1,5 y el 5% en peso de la suma de los compuestos fenólicos y de sus respectivas sales gálicas, respecto del peso de la suma de todos los flavonoides y proantocianidinas presentes en el extracto; aún más preferiblemente esta cantidad está comprendida entre el 2,0 y el 4,0%, y particularmente preferiblemente entre el 2,5 y el 3,5%. Los extractos de frutos de granada se pueden preparar extrayendo los frutos mediante diferentes disolventes polares tales como agua, acetona, acetato de etilo, alcoholes (tales como metanol, etanol, butanol, preferiblemente etanol) o mezclas de los mismos, y preferiblemente agua, alcohol o una combinación de los mismos. Posteriormente puede reducirse o eliminarse el disolvente del extracto, y preferiblemente secarse el extracto por ejemplo a través de liofilización, preferiblemente hasta obtener un polvo. Por ello, en una realización preferida, el extracto de fruto de *Punica granatum* es un extracto acuoso, alcohólico, o acuoso-alcohólico, preferiblemente en forma de polvo.

Los componentes de las composiciones de la invención están presentes en una cantidad terapéuticamente eficaz para que se consiga el efecto perseguido, es decir, la prevención o tratamiento de una enfermedad o trastorno metabólico.

Tal como se usa en el presente documento, el término “tratamiento” o derivaciones del mismo incluyen la erradicación, eliminación, reversión, alivio, modificación o control de la enfermedad o trastorno.

Tal como se usa en el presente documento, el término “prevención” o derivaciones del mismo se refieren a evitar o minimizar la aparición de la enfermedad o trastorno.

Las composiciones de la presente invención pueden formularse para administración oral, tópica, mucosa (por ejemplo, nasal, pulmonar, sublingual, vaginal, bucal o rectal), parenteral (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, inyección en bolo, intramuscular o intra-arterial), o transdérmica a un paciente.

Las composiciones de la presente invención incluyen preferiblemente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Farmacéuticamente aceptable significa que el excipiente se tolera fisiológicamente, significando normalmente que no es tóxico cuando se usa para el tratamiento de una enfermedad o un en seres humanos o animales.

El término “excipiente” se refiere a componentes de un compuesto de fármaco distinto del principio activo. Incluyen preferiblemente un “portador, adyuvante y/o vehículo”. Los portadores son formas a las que se incorporan sustancias para mejorar la administración y la eficacia de los fármacos. Los portadores de fármaco se usan en sistemas de administración de fármacos tales como la tecnología de liberación controlada para prolongar las acciones del fármaco *in vivo*, disminuir el metabolismo de los fármacos y reducir la toxicidad de los fármacos. También se usan portadores en diseños para aumentar la eficacia de la administración de fármacos a los sitios diana de acciones farmacológicas. Adyuvante es una sustancia añadida a una formulación de producto terminado que afecta a la acción del principio activo de manera predecible. Vehículo es un excipiente o una sustancia, preferiblemente sin acción terapéutica, usada como medio para proporcionar volumen para la administración de medicamentos. Tales portadores, adyuvantes o vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluyendo los de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tal como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares, excipientes, disgregantes, agentes humectantes o diluyentes.

La composición de la invención se administrará preferiblemente por vía oral. Las formas de dosificación orales pueden ser sólidas o líquidas. Las formas sólidas incluyen por ejemplo cápsulas, por ejemplo cápsulas de liberación sostenida, comprimidos, por ejemplo comprimidos de liberación sostenida, comprimidos masticables, comprimidos sublinguales, comprimidos efervescentes, píldoras, suspensiones, polvos, gránulos y geles. Las formas líquidas incluyen por ejemplo gotas, jarabes o disoluciones.

En una realización particularmente preferida de la presente invención, las composiciones de la invención están en forma de cápsula.

En dichas formas de dosificación orales, los compuestos activos pueden mezclarse con excipientes convencionales conocidos en la técnica tales como aglutinantes, por ejemplo jarabe, goma arábiga, gelatina, sorbitol, goma tragacanto o polivinilpirrolidona; cargas, por ejemplo lactosa, sacarosa, almidón, fosfato de calcio, sorbitol o glicina; lubricantes de preparación de comprimidos, por ejemplo estearato de magnesio; disgregantes, por ejemplo almidón, polivinilpirrolidona, glicolato sódico de almidón o celulosa microcristalina; o agentes humectantes farmacéuticamente aceptables tales como laurilsulfato de sodio. En el caso de cápsulas, comprimidos, comprimidos efervescentes y píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes tamponantes. Las cápsulas de gelatina blanda pueden prepararse para que contengan una mezcla de la composición de la invención y aceite vegetal. Las cápsulas de gelatina dura pueden contener gránulos de la composición de la invención en combinación con un vehículo sólido, pulverulento tal como lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón de patata, almidón de maíz, amilopectina, derivados de celulosa y gelatina. Los comprimidos y píldoras pueden prepararse con recubrimientos entéricos. Una revisión de las distintas formas de administración de principios activos, de los excipientes a utilizar y de sus procedimientos de fabricación puede encontrarse en el Tratado de Farmacia Galénica, C. Faulí i Trillo, Luzán 5, S.A. de Ediciones, 1993.

En una realización preferida, la forma de administración son cápsulas de gelatina blanda, que comprenden, además de la composición de la invención, agua, gelatina, glicerina y aceite vegetal. En una realización preferida, el aceite vegetal es aceite de oliva virgen.

En una realización particular, la composición de la invención se administra en forma de un suplemento nutricional. Por “suplemento nutricional”, tal como se usa en la presente memoria, debe entenderse todo aquel aporte adicional dietético que se consume por vía oral y que contiene uno o más nutrientes destinados a complementar la

alimentación. Generalmente los suplementos nutricionales se distribuyen en forma de diferentes presentaciones, como comprimidos, cápsulas, cápsulas blandas, líquidos (jarabes o bebidas) y polvos. Dicho suplemento nutricional puede contener los excipientes convencionales, tales como los descritos más arriba, y puede ser preparado por métodos convencionales.

Las composiciones de la presente invención comprenden diferentes componentes, los cuales, cuando están presentes, lo están preferiblemente en las siguientes cantidades en peso respecto del peso total de la composición: 1 a 40%, preferiblemente 2,5 a 30% extracto de *Rosmarinus officinalis*; 5 a 15%, preferiblemente 6 a 10% extracto de semilla de *Vitis vinifera*; 5 a 15%, preferiblemente 6 a 10% extracto de rizoma de *Curcuma longa*; 5 a 18%, preferiblemente 7 a 12% extracto de hoja de té verde; 5 a 15%, preferiblemente 7 a 11% extracto de cáliz de hibiscus; 3 a 12%, preferiblemente 5 a 7% extracto de fruto de granada. Preferiblemente, estos porcentajes se refieren al peso en seco de cada extracto, o a un extracto que comprende agua o disolvente en una cantidad de máximo 10%, o máximo 5% o máximo 1% con respecto al peso del extracto. En otra realización, estos porcentajes se refieren al peso en seco de cada extracto, o a un extracto que comprende agua o disolvente en una cantidad de entre 1 y 10%, o entre 1 y 5%, o entre 5 y 10% con respecto al peso del extracto.

En una realización particular, la cantidad total del extracto de *Rosmarinus officinalis* empleada en la composición de la invención está entre 20-500 mg, la cantidad total del extracto de semilla de uva está entre 25-200 mg, la cantidad total del extracto de rizoma de cúrcuma está entre 25-200 mg, la cantidad de extracto de hoja de té verde está entre 85-110 mg, la cantidad de extracto de cáliz de hibiscus está entre 75-90 mg, y/o la cantidad de extracto de fruto de granada está entre 55-75 mg.

En una realización particular, las formulaciones farmacéuticas, preferiblemente cápsulas, que comprenden la composición de la invención contienen 25-1000 mg de una composición según la presente invención. Preferiblemente, otros ingredientes empleados en dichas cápsulas son agua, gelatina, glicerina y/o aceite vegetal.

La dosis exacta de la composición a utilizar dependerá de la gravedad de la enfermedad o trastorno, y debe decidirse a criterio de las circunstancias del paciente. En una realización preferida, dicha dosis recomendada es de 1 a 3 cápsulas diarias.

En una realización particular, la composición de la invención comprende, además de extracto de *Rosmarinus officinalis*, extracto de semilla de uva y extracto de rizoma de cúrcuma, al menos uno de los ingredientes seleccionados del grupo: vitamina A, vitamina E, vitamina D3, vitamina B9, vitamina B6, vitamina B12, vitamina C, vitamina

B1, vitamina B2, vitamina B3, vitamina B5, vitamina B7, vitamina K, calcio, hierro, zinc, magnesio, fósforo, cobre, yodo, selenio, lecitina (preferiblemente de soja o girasol, más preferiblemente de soja), aceite de pescado, extracto de *Garcinia cambogia*, extracto de *Irvingia gabonensis*, Softisan, cera de abeja. En otra realización, la composición comprende adicionalmente ácido docosahexanoico y/o isoflavonas.

En una realización más particular, la composición de la invención comprende, además de extracto de *Rosmarinus officinalis*, extracto de semilla de uva y extracto de rizoma de cúrcuma, al menos uno de o todos los ingredientes seleccionados del grupo:

aceite de pescado (preferiblemente de atún), vitamina E, vitamina B12, vitamina B6, vitamina D3, Softisan, cera de abeja, lecitina (preferiblemente de soja o girasol, más preferiblemente de soja).

Tal como se utiliza en la presente memoria, "aceite de pescado" se refiere a aceite obtenido de cualquier especie de pescado, y preferiblemente de salmón, atún, caballa, arenque, lubina, lubina, halibut, bagre, sardina, tiburón, camarón, almeja, o cualquier combinación de ellos, y aún más preferiblemente de atún.

Tal como se utiliza en la presente memoria, "Softisan" se refiere a esteres de glicerina y: de ácidos grasos naturales, tales como el ácido caprílico o cáprico; de ácido isoesteárico; y/o de ácido adípico.

Tal como se utiliza en la presente memoria, "cera de abeja" se refiere a una mezcla de monoésteres saturados e insaturados, hidrocarburos, ácidos grasos libres, alcoholes grasos libres y otras sustancias menores producidas por la abeja obrera.

El extracto de Irvingia gabonensis es preferiblemente un extracto obtenido con disolvente orgánico, preferiblemente apolar, tal como el hexano. Más preferiblemente, es un extracto obtenido a partir de las hojas, preferiblemente molidas, a través de una extracción tipo Soxhlet empleando un disolvente de dicho tipo.

El extracto de *Garcinia cambogia* es preferiblemente un extracto acuoso-alcohólico, acuoso o alcohólico. En particular, se añade agua, alcohol (preferiblemente metanol) o una mezcla de estos a las cáscaras de la fruta, y posteriormente se añade hidróxido sódico o potásico. La mezcla así obtenida se filtra para eliminar sólidos, y se seca para obtener el extracto.

En la siguiente tabla se indican las cantidades preferidas de cada uno de dichos ingredientes, que han de considerarse individualmente y de manera combinada:

Vitamina A	500-800 mg
Vitamina E	5-100 mg
Vitamina D3	1-10 µg
Vitamina B9	100-300 µg
Vitamina B6	0,5-3 mg
Vitamina B12	1-5 µg
Vitamina C	40-80 mg
Vitamina B1	1-2 mg
Vitamina B2	0,5-1,5 mg
Vitamina B3	10-20 mg
Vitamina B5	2-8 mg
Vitamina B7	20-40 µg
Calcio	600-800 mg
Hierro	6-12 mg
Zinc	10-20 mg
Magnesio	100-400 mg
Fósforo	100-200 mg
Cobre	200-600 µg
Yodo	25-75 µg
Selenio	25-75 µg
Aceite de Pescado	200-500 mg
Extracto de *Garcinia cambogia*	20-150 mg
Extracto de *Irvingia gabonensis*	30-75 mg
Softisan	5-20 mg
Cera de abeja	1-10 mg
Lecitina	1-50 mg

En una realización particular, la composición de la invención comprende además de extracto de *Rosmarinus officinalis*, extracto de hoja de *Camellina sinensis*, extracto de cáliz de *Hibiscus sabdariffa*, y extracto de fruto de *Punica granatum*, al menos uno de los ingredientes seleccionados del grupo: vitamina A, vitamina E, vitamina D3, vitamina B9, vitamina B6, vitamina B12, vitamina C, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B3, vitamina B5, vitamina B7, vitamina K, calcio, hierro, zinc, magnesio, fósforo, cobre, yodo, selenio, lecitina (preferiblemente de soja o girasol, más preferiblemente de girasol), aceite de pescado, extracto de *Garcinia cambogia*, extracto de *Irvingia*

gabonensis, Softisan, cera de abeja. En otra realización, la composición comprende adicionalmente ácido docosahexanoico y/o isoflavonas.

En una realización más particular, la composición de la invención comprende, además de extracto de *Rosmarinus officinalis*, extracto de hoja de *Camellina sinensis*, extracto de cáliz de *Hibiscus sabdariffa*, y extracto de fruto de *Punica granatum*, al menos uno de o todos los ingredientes seleccionados del grupo: extracto de *Garcinia cambogia*, extracto de *Irvingia gabonensis*, vitamina E, vitamina B6, vitamina B12, Softisan, cera de abeja lecitina (preferiblemente de soja o girasol, más preferiblemente de girasol).

En la siguiente tabla se indican las cantidades preferidas de cada uno de dichos ingredientes, que han de considerarse individualmente y de manera combinada:

Vitamina A	500-800 mg
Vitamina E	5-100 mg
Vitamina D3	1-10 µg
Vitamina B9	100-300 µg
Vitamina B6	0,5-3 mg
Vitamina B12	1-5 µg
Vitamina C	40-80 mg
Vitamina B1	1-2 mg
Vitamina B2	0,5-1,5 mg
Vitamina B3	10-20 mg
Vitamina B5	2-8 mg
Vitamina B7	20-40 µg
Calcio	600-800 mg
Hierro	6-12 mg
Zinc	10-20 mg
Magnesio	100-400 mg
Fósforo	100-200 mg
Cobre	200-600 µg
Yodo	25-75 µg
Selenio	25-75 µg
Aceite de Pescado	200-500 mg
Extracto de *Garcinia cambogia*	20-150 mg
Extracto de *Irvingia*	30-75 mg

gabonensis	
Softisan	5-20 mg
Cera de abeja	1-10 mg
Lecitina	1-50 mg

Usos terapéuticos

La presente invención se dirige a las composiciones de la invención para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad o trastorno metabólico. En el contexto de la presente invención, una enfermedad o trastorno metabólico se refiere a una alteración en el normal funcionamiento energético que resulta en un estado patológico. Preferiblemente, la enfermedad o trastorno metabólico es una enfermedad o trastorno relacionado con los niveles lipídicos de un sujeto, en particular caracterizado por altos niveles de los mismos.

En una realización particular, la enfermedad o trastorno metabólico es una enfermedad o trastorno relacionado con los niveles de triglicéridos de un sujeto, en particular caracterizado por altos niveles de los mismos.

En una realización particular, la enfermedad o trastorno metabólico es una enfermedad o trastorno relacionado con los niveles de colesterol de un sujeto, en particular caracterizado por altos niveles de los mismos.

En una realización particular, la enfermedad o trastorno metabólico es una enfermedad o trastorno relacionado con los niveles de ácidos grasos libres de un sujeto, en particular caracterizado por altos niveles de los mismos.

Ejemplos de tales enfermedades son: dislipidemias o dislipoproteinemias, tales como hiperlipidemia, hiperlipoproteinemia, hipercolesterolemia, hipergliceridemia, hipertrigliceridemia. Estas pueden ser primarias (no asociadas a otras enfermedades), normalmente de origen genético y transmisión familiar, o secundarias, es decir vinculadas a otras entidades patológicas, tales como el síndrome metabólico o la obesidad.

Preferiblemente, la enfermedad o trastorno metabólico es la obesidad. Se entiende por obesidad el significado dado en la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE)-10 de la Organización Mundial de la Salud. Por ello, la presente invención se dirige en una realización preferida a las composiciones de la invención para su uso en la prevención o el tratamiento de la obesidad.

La obesidad y las enfermedades y trastornos de los niveles lipídicos pueden a su vez jugar un papel importante en la aparición y progresión del denominado síndrome metabólico. El síndrome metabólico es un conjunto de factores fisiológicos, bioquímicos, clínicos y metabólicos que incluyen la resistencia a la insulina, exceso de grasa abdominal, dislipidemia aterogénica, disfunción endotelial, hipertensión arterial, estado de hipercoagulabilidad y estrés crónico. El síndrome metabólico según el contexto de la presente invención tendrá en cualquier caso el significado dado en la CIE-10 de la Organización Mundial de la Salud. Por ello, la presente invención se dirige en una realización preferida a las composiciones de la invención para su uso en la prevención o el tratamiento del síndrome metabólico.

La obesidad y por tanto el síndrome metabólico se caracterizan por un incremento en el estrés oxidativo de las grasas acumuladas. Este estrés oxidativo incrementa la proliferación de preadipociotos y su posterior diferenciación, modulado por factores de transcripción sensibles a los radicales libres. Por lo tanto, se produce un ciclo retroalimentativo en el incremento de tejido adiposo que incrementa el estrés oxidativo, que a su vez promueve la síntesis de lípidos tales como los triglicéridos y la diferenciación de adipocitos por lo que se promueve y amplifica la base de la obesidad, y consecuentemente del síndrome metabólico.

En el tejido adiposo se observa además hipoxia y resultante inflamación y apoptosis cuando la proliferación del tejido es mayor de lo normal y la vascularización del tejido no es suficiente para mantenerlo adecuadamente oxigenado. Como se mencionó anteriormente, los presentes inventores han observado que las composiciones de la presente invención es capaz de inducir la expresión de marcadores de vascularización en tejido adiposo. Por ello, la presente invención se dirige también a las composiciones de la invención para su uso en la prevención o el tratamiento de la hipoxia, inflamación y/o apoptosis del tejido adiposo, más particularmente asociados a las enfermedades o trastornos anteriormente mencionados (enfermedad o trastorno relacionado con los niveles lipídicos, obesidad, síndrome metabólico). En una realización particular, el tejido adiposo es tejido adiposo blanco. En otra realización particular, el tejido adiposo es tejido adiposo pardo.

La obesidad y las enfermedades y trastornos de los niveles lipídicos pueden a su vez generar enfermedades o trastornos cardiovasculares. Por tanto, la presente invención también se dirige al tratamiento de tales enfermedades o trastornos cardiovasculares. Ejemplos de enfermedades o trastornos cardiovasculares son: enfermedades

cardíacas isquémicas, tales como la angina de pecho, el infarto de miocardio, la trombosis o embolia derivada de trombosis, el síndrome de Dressler; enfermedades cardíacas pulmonares y de la circulación pulmonar, tales como el tromboembolismo pulmonar; la miocardiopatía; enfermedades cerebrovasculares, tales como el infarto cerebral; las enfermedades de arterias, arteriolas y capilares, tales como la aterosclerosis; enfermedades de vena, vasos linfáticos y nodos linfáticos, tales como las trombosis y tromboflebitis, o las varices. En particular, la enfermedad o trastorno cardiovascular es la aterosclerosis. El significado de estas denominaciones patológicas será el recogido en la CIE-10 de la Organización Mundial de la Salud.

En una realización particular, las composiciones de la presente invención se emplean para la prevención de una de las anteriores mencionadas enfermedades o trastornos en un sujeto el cual posee una predisposición genética a dicha enfermedad o trastorno, tal como en los casos de transmisión familiar.

En otra realización particular, las composiciones de la presente invención se emplean para la prevención de la enfermedad o trastorno en un sujeto el cual posee una predisposición no-genética a dicha enfermedad o trastorno. Ejemplos de predisposiciones no genéticas son la cirugía de revascularización cardiaca, la angioplastia coronaria transluminal percutánea, los cánceres en donde se sobre-expresan genes asociados a una mayor actividad lipídica (por ejemplo cánceres de próstata, de mama, de colon o pulmonar en los que se sobre-expresa el gen FASN), el hipotiroidismo, las enfermedades de los riñones, los tratamientos con betabloqueante, los tratamientos con anticonceptivo, los tratamientos con diuréticos, los tratamientos con esteroides (en especial los glucocorticoides), o los tratamientos con modulardores de los receptores estrogénicos (en especial el tamoxifeno), o el abuso de sustancias tales como el alcohol o las dietas altas en grasas y azucares libres.

Como se mencionó anteriormente, los inventores también han observado que las composiciones de la invención tienen un efecto directo sobre los niveles de glucosa, reduciéndolos, así como un efecto indirecto a través de la prevención de la hipoxia, inflamación y/o apoptosis del tejido adiposo que daría lugar a la resistencia a la insulina. Por ello, en otra realización, la presente invención se dirige también a las composiciones de la presente invención para su uso en la prevención o tratamiento de una enfermedad o trastorno metabólico relacionado con los niveles de glucosa de un sujeto, en particular caracterizado por altos niveles de los mismos. La presente

invención se dirige igualmente a las composiciones de la presente invención para su uso en la prevención o tratamiento de la insulinoresistencia.

Preferiblemente, la presente invención se dirige a las composiciones de la presente invención para su uso en la prevención o tratamiento de la diabetes, y más preferiblemente de la diabetes de tipo II. Diabetes se refiere a diabetes mellitus tal y como se define en la CIE-10 de la Organización Mundial de la Salud e incluye las siguientes enfermedades derivadas de la diabetes: coma diabético, cetoacidosis diabética, nefropatía diabética, retinopatía diabética, neuropatía diabética, angiopatía diabética, artropatía diabética.

Se ha observado que las composiciones de la presente invención son particularmente activas en el hígado. Por un lado, en consonancia con lo descrito arriba, las composiciones de la invención son capaces de regular el metabolismo lipídico y del glucógeno en el hígado, por lo que son particularmente adecuadas para usarse en la prevención o el tratamiento de una enfermedad o trastorno metabólicos hepáticos caracterizados por un excesivo nivel de lípidos (en especial ácidos grasos libres o triglicéridos) o glucosa. Por otro lado, además de ser activas en la regulación del metabolismo lipídico y del glucógeno en el hígado, las composiciones de la presente invención inducen la expresión de genes implicados en procesos de proliferación y homeostasis hepáticas.

Por ello, en una realización preferida, la enfermedad o trastorno metabólico hepático es el hígado graso (también conocido como esteatosis hepática). En el contexto de la presente invención se entiende por hígado graso el significado dado en la CIE-10 de la Organización Mundial de la Salud. En una realización particular, el hígado graso es alcohólico. En una realización diferente, es no-alcohólico.

En algunos casos, la esteatosis hepática deriva en esteatohepatitis, y en los peores casos en fibrosis del hígado y/o cirrosis. Por ello, la presente invención también se dirige al uso de las composiciones de la invención para tratar estas enfermedades.

Por otro lado, los presentes inventores también han descubierto que las composiciones de la presente invención son capaces de paliar la pérdida de capacidad regenerativa del hígado y la resultante pérdida de volumen de este último. Esto ocurre en casos tales como el envejecimiento. La pérdida de volumen hepático conlleva una reducción en la perfusión hepática, crucial en el metabolismo de primer paso, y puede dar lugar por ejemplo a complicaciones tales como una inapropiada función biliar incluyendo un flujo biliar y secreción de ácido biliar reducidos. Por ello, la presente

invención también se dirige a las composiciones de la invención para su uso en la prevención o tratamiento de la pérdida de capacidad regenerativa o volumen de hígado.

En una realización particularmente preferida de la invención, la prevención o tratamiento de cualquiera de las enfermedades o trastornos arriba mencionados se logra a través de la vascularización del tejido adiposo, en particular en el tejido adiposo blanco y/o pardo. Más concretamente, se logra a través de la inducción de la expresión del gen Vegfb.

En una realización particularmente preferida, la invención se refiere a las composiciones de la invención para su uso en la prevención o el tratamiento de más de una de las enfermedades o trastornos metabólicos de los descritos más arriba. En el contexto de la presente invención, la aparición de más de una de dichas enfermedades o trastornos metabólicos se considera un declive metabólico.

El caso del envejecimiento merece particular atención. Los avances científicos han logrado incrementar la esperanza de vida humana en el último siglo. En la Unión Europea se estima que la esperanza de vida media en el año 2060 sea de 84,8 años para los hombres y de 89,1 para las mujeres. Este hecho unido al descenso de la natalidad hace que la presión demográfica se incremente, por lo que los mecanismos para incrementar el número de “años saludables” sea de vital importancia tanto a nivel individual como poblacional (Comisión Europea The 2015 Ageing Report: Economic and budgetary projections for the 28 EU Member States (2013-2060)). Se entiende como “años saludables” el número de años que una persona de determinada edad vivirá sin problemas de salud moderados o severos o sin desarrollar una discapacidad (EUROSTAT. Europe in figures, Luxembourg. Office for Official Publications of the European Communities; 2008). Desde un punto de vista biológico el envejecimiento o senescencia es el conjunto de modificaciones morfológicas y fisiológicas que aparecen como consecuencia de la acción del tiempo sobre los seres vivos, que supone una disminución de la capacidad de adaptación en cada uno de los órganos, aparatos y sistemas, así como de la capacidad de respuesta a los agentes lesivos que inciden en el individuo. El envejecimiento se caracteriza en gran medida por un declive metabólico que conlleva una pérdida de las funciones hepática, renal, coronaria y/o cardíaca. Estas alteraciones se caracterizan por la aparición de enfermedades o trastornos metabólicos tales como los descritos más arriba. Normalmente, el declive

metabólico por envejecimiento es multifactorial, es decir que conlleva la aparición de más de uno de dichas enfermedades o trastornos metabólicos.

Por ello, en una realización particularmente preferida, la invención se refiere a las composiciones de la invención para su uso en el tratamiento de una o más enfermedades o trastornos metabólicos de los descritos más arriba, en donde dichas enfermedades o trastornos metabólicos están relacionados con el envejecimiento.

De manera alternativa, la presente invención se refiere a las composiciones de la invención para su uso en el tratamiento de una o más enfermedades o trastornos metabólicos de los descritos más arriba, en sujetos humanos de 50 o más años de edad, de 60 o más años de edad, de 70 o más años de edad, o de 80 o más años de edad.

En una realización, el declive metabólico por envejecimiento lo causa una reducción fisiológica en la producción de hormonas sexuales asociada a la edad. Con el fin de determinar si se ha producido la reducción del declive metabólico asociado al envejecimiento, se procedería a medir la expresión de alguno/s de los marcadores mencionados más abajo en la parte experimental. En una realización preferida, se medirían marcadores plasmáticos de riesgo metabólico. Por tanto, un experto en la materia sabría que si se detecta una disminución de lípidos circulantes, glucosa y leptina acompañado de un aumento de la capacidad antioxidante del plasma, significaría un efecto protector sistémico metabólico y por tanto, un efecto positivo de las composiciones de la invención. A nivel global, la capacidad de mantener los índices de peso corporal en límites establecidos por la normalidad se considera beneficioso, de la misma forma que la capacidad para mantener los acúmulos grasos corporales de forma controlada sin exceder los límites relacionados con riesgos metabólicos. De manera complementaría si se observa un efecto protector en tejidos claves en la homeostasis energética, tales como tejido adiposo blanco y pardo e hígado, significaría un efecto protector metabólico y por tanto, un efecto positivo de las composiciones de la invención.

En otro aspecto relacionado, la invención se dirige al uso de las composiciones de la invención para la preparación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de una enfermedad o trastorno metabólico. En realizaciones más concretas, la enfermedad o trastorno metabólico será cualquiera de los mencionados más arriba.

En otro aspecto relacionado, la invención se dirige a un método de tratamiento que comprende administrar, a un sujeto que lo necesita, las composiciones de la invención, para prevenir o tratar una enfermedad o trastorno metabólico. En realizaciones más

concretas, la enfermedad o trastorno metabólico será cualquiera de los mencionados más arriba.

Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar la invención y no deben ser considerados como limitativos del alcance de la misma.

EJEMPLOS

EJEMPLO A

Se llevaron a cabo una serie de ensayos para conocer el efecto biológico de la siguiente composición según la invención en forma de cápsula:

Ingredientes activos	mg/cápsula	Activo
Aceite de atún (Tuna oil 5/25 TG)	240	12 mg EPA, 60 mg DHA
Rosemary Antioxidant extract, 25% Diterpene Phenols,Type No.027.020	156,25	39 mg fenoles diterpeno
Extracto semilla uva Leucoselect ® Phytosome ® (INDENA) 25-30% proanthocyanidins	50	12,5 – 15 mg proantocianidinas
Extracto rizoma de cúrcuma Meriva ® Phytosome (INDENA) 18-22,0% curcuminoids	50	9 – 11 mg curcuminoides
Vitamina E Dl alfa tocoferol acetato 67%	37,31	25 mg Vit.E
Vitamina B12 (Cianocobalamina 0,1% Maltodextrina) (Riqueza 0,1%)	2,5	2,5 µg Vit.B12
Vitamina B6 (Piridoxina Hidrocloruro) (Riqueza 81,9%)	1,71	1,4 mg Vit.B6
Vitamina D3 (1000000 IU oleosa vitamina D3/g)	0,2	5 µg Vit.D
Softisan	12	
Cera amarilla de abejas Clover	6	
Lecitina de soja VEROLEC 56 non gmo ip	10	
Peso total	**565,97 mg**	

EJEMPLO A1

Efecto de la administración de la composición de extractos de romero, semilla de uva, y rizoma de cúrcuma en el plasma de animales sometidos a estrés metabólico

Para el análisis del efecto protector de la composición se diseñó un modelo animal de estrés metabólico crónico. Para ello se suprimió la producción de testosterona endógena mediante castración y se administró dieta alta en grasa. Durante las cinco semanas tras el proceso quirúrgico se sometió a todos los animales a dieta alta en grasa (18% en peso seco). Después se dividieron los animales en grupo control (n=8) y grupo tratado (n=8) al que se le suministró durante las siguientes cinco semanas la composición al 5%. Tras el periodo de intervención, el peso medio de los animales tratados con la composición fue 7% más bajo que el del grupo control (426 ± 24 g frente a 456 ± 34 g) aunque esta diferencia no alcanzó significación estadística (p=0.059).

En los plasmas recogidos al inicio (t0) y fin del estudio (sacrificio) se evaluaron los niveles de lípidos circulantes y glucosa. Todos estos resultados se pueden observar en la tabla 2.

		Control	Tratamiento	p
Colesterol total	Concentración final (mg/dL)	98.5 ± 17	89.5 ± 9.1	ns
	$\Delta_{i\rightarrow f}$	14 ± 12.7	-6.9 ± 11.6	<0.05
Colesterol HDL	Concentración final (mg/dL)	18.4 ± 3.3	22.5 ± 2.1	ns
	$\Delta_{i\rightarrow f}$	1.4 ± 3	6.3 ± 5.1	ns
Colesterol LDL	Concentración final (mg/dL)	9.0 ± 1.2	9.8 ± 2.6	ns
	$\Delta_{i\rightarrow f}$	-0.4 ± 1.6	-3.9 ± 5.0	(p=0.09)
Trigicéridos	Concentración final (mg/dL)	88 ± 21	47 ± 14	<0.05
	$\Delta_{i\rightarrow f}$	11.6 ± 17.9	-59.1 ± 20.0	<0.05
Ácidos grasos libres	Concentración final (mM eq.ac Palmitico)	0.47 ± 0.3	0.15 ± 0.1	<0.05
Glucosa	Concentración final (mg/dL)	154.7 ± 7.6	141.9 ± 17.7	(p=0.09)
	$\Delta_{i\rightarrow f}$	36.5 ± 4.7	16.7 ± 20.3	<0.05

Tabla 2: Perfil lipídico y glucosa circulante al final del estudio y diferencia entre el inicio. Valor p menor a 0.05 indica diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y tratado. La no diferencia se representa mediante ns (no significativo). $\Delta_{i\rightarrow f}$ indica la diferencia observada entre el valor inicial y final de la intervención.

Los resultados en plasma indican una clara acción reguladora del metabolismo por parte de la composición. Tanto las concentraciones finales de ácidos grasos libres como de triglicéridos son significativamente menores en el grupo de animales tratados que en el control (un 68% en el caso de los ácidos grasos libres y un 46% en los triglicéridos). Además, comparando las variaciones de las medidas tomadas al inicio y al final del estudio se observó un descenso significativo en las concentraciones de colesterol total y una reducción significativa en el incremento de la glucosa circulante. Se observó una tendencia en la reducción de los niveles de colesterol LDL (p=0.09). Los niveles de HDL en cambio fueron incrementados, pero este incremento no fue significativo.

También se analizaron las concentraciones de insulina, leptina y citoquinas proinflamatorias (IL1β, Il6, TNFα y PAI1) y la capacidad antioxidante del plasma. Todos estos resultados se resumen en la tabla 3.

		Control	Tratamiento	p
Capacidad antioxidante (FRAP)	Concentración final (μM eq Trolox)	0.24 ± 0.02	0.42 ± 0.01	<0.05
	$\Delta_{i\rightarrow f}$	0.04 ± 0.03	0.09 ± 0.01	<0.05
Leptina	Concentración final (pg/mL)	1267 ± 517	794 ± 339	<0.05
	$\Delta_{i\rightarrow f}$	488 ± 491	88 ± 275	ns
Insulina	Concentración final (pg/mL)	405 ± 139	382 ± 245	ns
	$\Delta_{i\rightarrow f}$	128 ± 201	34 ± 195	ns
IL6	Concentración final (pg/mL)	10 ± 5.5	14 ± 11	ns
	$\Delta_{i\rightarrow f}$	-8.8 ± 14.6	-16 ± 17	ns
IL1beta	Concentración final (pg/mL)	2.1 ± 1.0	2.2 ± 1.3	ns
	$\Delta_{i\rightarrow f}$	-0.5 ± 1.2	-2.7 ± 3.2	ns
TNFalfa	Concentración final (pg/mL)	1.7 ± 0.4	1.5 ± 0.4	ns
	$\Delta_{i\rightarrow f}$	-0.3 ± 0.7	-0.4 ± 1.1	ns

Tabla 3: Marcadores metabólicos, de inflamación y estrés oxidativo al final del estudio y variación de los mismos desde el principio y final de la intervención. Valor p menor a 0.05 indica diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y tratado. La no diferencia

se representa mediante ns (no significativo). $\Delta_{i \to f}$ indica la diferencia observada entre el valor inicial y final de la intervención.

Los resultados muestran un claro efecto en el aumento de la capacidad antioxidante del plasma. Los animales tratados con la combinación de romero, semilla de uva y rizoma de cúrcuma presentaron mayor capacidad antioxidante tanto al final del estudio como a nivel de variación inicio-fin. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de hormonas implicadas en el metabolismo energético, tales como la insulina y la leptina. Tras la intervención, mientras que los niveles de insulina fueron similares en ambos grupos, los animales tratados con la composición presentaron niveles significativamente más bajos de leptina. La leptina es una hormona de 167 aminoácidos que participa en la regulación del apetito y la energía y cuyas concentraciones circulantes se ven aumentadas en individuos obesos.

No se observaron diferencias significativas en las concentraciones de citoquinas circulantes (IL1beta, IL6 y TNFalfa).

En resumen estos resultados muestran que la combinación de extractos de romero, semilla de uva y rizoma de cúrcuma es capaz de mejorar los marcadores metabólicos circulantes y aumentar la capacidad antioxidante del plasma sin afectar los niveles del citoquinas circulantes.

EJEMPLO A2

Efecto de la administración de la composición de extractos de romero, semilla de uva y rizoma de cúrcuma en tejido adiposo blanco y pardo. Estudios *in vitro* e *in vivo*.

Con el objetivo de evaluar el efecto del compuesto en la diferenciación de pre-adipocitos se realizó un estudio con la línea celular fibroblástica (3T3 L1) derivada de ratón en estado embrionario. Estas células inician la diferenciación de pre-adipocitos a adipocitos maduros cuando alcanzan confluencia e inhibición de crecimiento por contacto. Una vez alcanzada la confluencia el medio de crecimiento fue sustituido por el denominado “medio de inducción”: 10% suero fetal bovino, 0,25 µM de Dexametasona, 0,5 mM de IBMX (1-methyl-3-(2-methylpropyl)-7H-purine-2,6-dione) y 10 µg/ml de insulina. Tras 48 horas en presencia del medio de inducción, éste fue sustituido por “medio de diferenciación” (DMEM, 10% FBS, 5 µ□g/ml de insulina) durante los seis días siguientes. El compuesto fue añadido en un rango de concentraciones entre 50 µg/ml y 150 µg/ml. Mediante PCR cuantitativa se analizaron

los niveles de expresión de PPARɣ y C/EBPα (ambos marcadores de adipocitos diferenciados).

Como muestra la figura 1, se evaluó el efecto de la composición estudiado en la progresión de la diferenciación de adipocitos.

Como se observa en las imágenes de la figura 1 el tamaño de las gotas lipídicas y la presencia de adipocitos maduros fue menor en aquellas células tratadas con la composición. La eficacia de esta composición se observó a partir de una concentración de 150 mg/ml o mayor. El análisis de los niveles de expresión de PPARɣ y C/EBPα (ambos marcadores de adipocitos diferenciados) mediante PCR cuantitativa indica un efecto reductor relacionado con la dosis en la expresión de C/EBPα.

Con el fin de evaluar los efectos de la composición en tejido adiposo blanco y pardo se evaluó la expresión génica de muestras obtenidas en un modelo animal de estrés metabólico, consistente en la administración de dieta alta en grasa en animales castrados. Durante las cinco semanas tras el proceso quirúrgico se sometió a todos los animales a dieta alta en grasa (18% en peso seco). Después se dividieron los animales en grupo control (n=8) y grupo tratado (n=8) al que se le suministró durante las siguientes cinco semanas la composición al 5%. Al finalizar el estudio se pesaron los depósitos adiposos del área retroperitoneal y no se observaron diferencias entre los animales control y tratados. El tejido adiposo pardo fue recogido del área interescapular al final de la intervención. No se vieron diferencias significativas en el peso medio del tejido adiposo pardo.

Como se muestra en la Figura 2, en estas muestras se determinaron los niveles de expresión génica de diferentes genes implicados en la regulación metabólica.

En tejido adiposo blanco se observó que el tratamiento aumentaba significativamente la expresión génica de ADAM10 que corresponde al domino 10 de una familia de metalopeptidasa que son proteínas de membrana con capacidad para la adhesión más un dominio proteasa. El gen que codifica ADAM tiene capacidad para escindir gran número de proteínas incluido TNFα y E-caderina. En adipocitos de ratón se ha descrito que ADAM10 es la principal proteasa para la escisión del receptor de membrana del Leptina, para dar lugar a su versión soluble. Este proceso se ve altamente incrementado en casos de lipotoxicidad y apoptosis, pudiendo desencadenar un bloqueo de la leptina circulante circulante (Schaab et al, 2012 PloS One. 4:e34787).

Tanto en tejido adiposo blanco como pardo se observó un aumento de la expresión génica del factor de crecimiento vascular Vegfb en el grupo de animales tratado,

indicando una potencial mayor vascularización del tejido adiposo. Aunque en tejido adiposo blanco la diferencia no llega a ser estadísticamente significativa (p=0.07), el aumento en la expresión génica de Vegfb en tejido adiposo puede tener una importante función biológica. Este gen codifica factor de crecimiento de endotelio vascular, que regula la formación de nuevos vasos y están involucrados en la fisiología celular endotelial. Estudios en animales han demostrado que la sobrexpresión de Vegfb protege frente a dietas hipercalóricas y el desarrollo de obesidad y resistencia a insulina (Elias et al, 2012, Diabetes 61(7), 1801-1813). En dietas hipercalóricas el rápido incremento de volumen del tejido adiposo hace que la vascularización sea insuficiente para la correcta oxigenación. La hipoxia localizada genera procesos inflamatorios y muerte celular que termina desencadenando resistencia a insulina. La correcta vascularización del tejido adiposo se propone como una nueva vía terapéutica en las enfermedades metabólicas asociadas a obesidad. También se ha propuesto que la sobrexpresión de Vegfb en tejido adiposo podría estar relacionada con el pardeamiento de la grasa blanca, promoviendo la termogénesis, además de un efecto antinflamatorio por la actividad quimiotáctica para macrófagos M2 antinflamatorios (Elias, Franckhauser and Bosch 2013 Adipocyte. 2,109).

En el caso del tejido adiposo pardo el incremento de la expresión génica de Vegfb fue estadísticamente significativa. Se ha descrito que Vegfb juega un papel importante en la captación de lípidos circulantes, que en el caso del tejido adiposo pardo se destinarían en parte a termogénesis (Hashimoto et al, 2016, Biochem. Biophys. Res. Commun. 478(4), 1746-1750). Además, la vascularización es clave en el mantenimiento del tejido adiposo pardo y se ha descrito que la disfunción vascular es una causa de la pérdida del tejido adiposo pardo y su conversión en blanco.

En tejido adiposo blanco se observó un descenso no significativo de la expresión génica de UCP1, miembro de la familia de transportadores de aniones mitocondriales que juega un papel fundamental en la disipación energética a partir de la fosforilación de ATP y se expresa únicamente en tejido adiposo pardo. El grupo control presenta mayores niveles de expresión esta proteína, lo que podría ser debido a un aumento de pardeamiento de tejido adiposo blanco. Se ha descrito que factores presentes en el modelo animal utilizado aumentan la expresión de Ucp1, tales como el castramiento (Hashimoto et al, 2016, Biochem Biophys Res Commun. 4, 1746) o la dieta alta en grasa (García-Ruiz et al, 2015 Int. J. Obes. 39(11), 1619-1629). Por otro lado, la expresión génica de UCP1 no implica directamente un aumento en la termogénesis y

bioenergética del adipocito (Keipert and Jastroch 2014, Biochim. Biophys. Acta BBA 1837(7), 1075-1082).

En tejido adiposo pardo se observó un incremento significativo de la expresión génica del gen Serrate, que codifica para la molécula homóloga efectora de RNA, también conocida como proteína de resistencia a arsénico 2. Este gen juega un papel en el silenciamiento génico mediado por microRNAs.

En este mismo tejido, los niveles de expresión génica del receptor de leptina (Lepr) fueron más altos en el grupo tratado que en el control, aunque las diferencias no fueron significativas. En tejidos periféricos la expresión de Lepr se relaciona con un incremento en el metabolismo basal, influencia la función reproductiva, la regulación de las células β-pancreáticas y secreción de insulina. Es pro-angiogénica y afecta la inmunidad innata y adaptativa. En el tejido adiposo blanco los niveles de expresión de Lepr también se vieron aumentados por el tratamiento (sin ser significativos; datos no mostrados).

EJEMPLO A3

Efecto de la administración de la composición de extracto de romero, semilla de uva, y rizoma de cúrcuma en hígado

Para el análisis del efecto protector de la composición frente al estrés metabólico hepático se diseñó un modelo animal de daño metabólico mediante la administración de dieta alta en grasa y la supresión de la producción de testosterona endógena mediante castración. Durante las cinco semanas tras el proceso quirúrgico se sometió a todos los animales a dieta alta en grasa (18% en peso seco). Después se dividieron los animales en grupo control (n=8) y grupo tratado (n=8) al que se le suministró durante las siguientes cinco semanas la composición al 5%. Se mantuvo un grupo de animales control, sin dieta grasa ni castramiento, como referencia a los valores de normalidad. Trascurrido el tiempo de intervención se sacrificaron los animales y se obtuvo el hígado entero que fue pesado y procesado.

Como indica la figura 3 el compuesto fue capaz de revertir el efecto de la intervención (castramiento). Mientras que el grupo de animales control presentó un hígado menor a la normalidad, los animales tratados con el compuesto presentaron pesos comprendidos en la franja de la normalidad. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p<0.001$) y se mantuvo al corregir el peso del hígado con el peso total de los animales.

Los análisis de expresión génica de tejido hepático revelaron que varios genes implicados en procesos de proliferación y homeostasis hepáticas también fueron regulados por el tratamiento. Como muestra la figura 4, la expresión génica de Serrate y Adam 10 aumentaron tras el tratamiento. Serrate es un mediador de la producción de microRNAs durante la proliferación celular. Por otro lado, Adam10 es un gen que codifica una proteína implicada en la homeostasis hepática y la regulación de la ruta de señalización Notch (desarrollo de órganos e integridad tisular). La expresión de trasportadores biliares es dependiente de Adam10 (Müller M et al, 2016, Oncotarget. 7(14), 17431-41).

Además, como se muestra en la figura 5 la expresión génica de varios genes implicados en el metabolismo lipídico y del glucógeno se modificó tras el tratamiento indicando una mejora en la respuesta hepática a una dieta alta engrasas. Los datos de expresión génica a nivel hepático corroboran los niveles de lípidos y glucosa plasmáticos expuestos en el ejemplo 1. La expresión génica de genes implicados en el metabolismo lipídico fue significativamente menor en el grupo de animales tratados comparado con los controles. Por ejemplo, Srebf1 es un factor de transcripción implicado en la captación de LDL y la biosíntesis de esteroles. La insulina induce su expresión, lo cual se asocia con un aumento de niveles plasmáticos y hepáticos de triglicéridos. Tras el tratamiento con la composición, la expresión génica de Srrbf1 se redujo.

De manera similar, también se observó una reducción en la expresión génica de Lpl, gen que codifica para la lipasa de lipoproteínas. Esta enzima hidroliza los triglicéridos, quilomicrones y VLDLs para producir ácidos grasos y monoacilglicerol, proceso necesario para incorporar lípidos circulantes en diferentes tejidos. Esta enzima está regulada de manera específica en diferentes tejidos a diferentes niveles ya que interviene en importantes procesos de regulación energética.

También se redujo la expresión génica de Fasn que codifica una enzima implicada en la síntesis de ácidos grasos saturados de cadena larga. Se ha descrito que la dieta alta en grasa promueve la expresión de este gen, mientras que la testosterona lo reduce, por lo que el modelo animal empleado tendría los niveles de expresión de este gen incrementados. Como se muestra en la figura 5 el tratamiento con el compuesto redujo significativamente la expresión de Fasn, ejerciendo una protección frente al desarrollo de esteatosis.

Tras el tratamiento se incrementó significativamente la de expresión de CD36 lo cual está relacionada con homeostasis del glucógeno (Garbacz et al, 2016, Mol Cell Biol.).

En dietas altas en grasa CD36 es sub-expresado, lo que induce esteatosis y resistencia a insulina. Se ha propuesto como una diana potencial frente al para el control del síndrome metabólico.

EJEMPLO B4

Efecto de la administración de la composición de extractos de romero, fruto de granada, cáliz de hibiscus y hoja de té verde en la prevención y tratamiento del síndrome metabólico.

Se llevaron a cabo una serie de ensayos para conocer el efecto biológico de la siguiente composición según la invención en forma de cápsula:

Ingredientes activos	mg/cápsula	Activo
Extracto de *Garcinia cambogia* (60%)	112,5	67,5 mg ácido hidroxicítrico
Té Verde (Camelina sinensis L.) Hoja polvo (50% Polifenoles)	92,5	46,25 mg Polifenoles
Extracto de Hibiscus sabdariffa L. (5% antocianos)	82,5	4,125 mg antocianos
Granada (Punica Granatum L.) fruto polvo (40% Ácido Elágico)	62,5	25 mg Ácido Elágico
Extracto de Irvingia gabonensis (Ratio 4.1)	57,5	
Rosemary extract (2% Rosmarinic acid HPLC)	25	0.5 mg ácido rosmarínico
Vitamina E Dl alfa tocoferol acetato 67%	10	6,7 mg Vit.E
Vitamina B12 (Cianocobalamina 0,1% Maltodextrina) (Riqueza 0,1%)	1,25	1,25 µg Vit.B12
Vitamina B6 (Piridoxina Hidrocloruro) (Riqueza 81,9%)	0,85	0,7 mg Vit.B6
Softisan	18	
Cera amarilla de abejas Clover	9	
Lecitina de girasol refinado	45	
Peso total	**916,60 mg**	

Para el análisis del efecto protector de la composición frente al desarrollo de obesidad y síndrome metabólico se diseñó un estudio basado en la administración de dieta alta en grasa. Para ello, Tras la adaptación a las condiciones experimentales 40 animales (ratones macho C57BL6 sanos de 6 semanas y 17-20 gramos de peso) fueron pesados y posteriormente distribuidos aleatoriamente en los grupos experimentales

- Control dieta normal: 10 semanas con dieta A04
- Control dieta grasa: 10 semanas con dieta grasa (TD03307)
- Tratamiento preventivo: 10 semanas con dieta grasa (TD03307) + 15% composición
- Tratamiento paliativo: 5 semanas con dieta grasa (TD03307) + 5 semanas con dieta grasa + 15% composición

Durante la intervención se controló la ganancia de peso de los animales y la ingesta de alimento. Trascurrido el tiempo de intervención se sacrificaron los animales y se obtuvo una muestra de sangre, así como el hígado entero y los depósitos de tejido adiposos correspondientes a las áreas epididimal y retroperitoneal que fueron pesados y procesados.

Como muestra la figura 6, se observaron diferencias en el peso de los animales a lo largo del estudio, siendo estas diferencias significativas respecto al control con dieta alta en grasa ($p<0.05$; indicadas con un asterisco). El grupo de animales que inició el consumo del compuesto junto con la dieta grasa (color azul) desde el principio del estudio mantuvo los niveles de peso corporal de similares al grupo de dieta normal y significativamente inferiores al grupo de animales con dieta grasa. Por otro lado, los animales que inicialmente consumieron dieta grasa (color naranja) aumentaron su peso de manera similar al grupo control de dieta grasa. Sin embargo, tras las primeras 5 semanas de estudio, al incorporar en su dieta el compuesto, redujeron su peso rápidamente, alcanzando valores similares al grupo control normal y significativamente más bajos que el grupo de animales de dieta grasa. Al finalizar el estudio se evaluó la ganancia total de peso por cada animal, mediante el cálculo realizado con las mediciones del final del estudio menos el peso con el que cada animal comenzó la intervención. Como muestra la figura 7, se observaron diferencias en la ganancia total de peso de los animales desde el principio al final del estudio. Se observa que los grupos a los que se les administro la composición aumentaron su peso de manera similar a los observados en el grupo de animales que consumieron dieta normal. La

ganancia de peso fue un 50% inferior a la observada en el grupo control de dieta grasa, a pesar que el contenido calórico de las dietas fuera similar (5400 kcal/kg) muy superior al de la dieta normal (2900 kcal/kg). Los datos de ingesta muestran fluctuaciones en las ingestas a lo largo del estudio, pero a nivel global no se observaron diferencias significativas entre los grupos.

En la figura 7 se muestra el peso de los tejidos adiposos blancos recogidos en las áreas retroperitoneal y epididimal. En ambos depósitos se observa que el compuesto de la invención es capaz de contrarrestar el efecto deletéreo de la dieta grasa, y mantiene el volumen de los depósitos grasos similares a los observados en el grupo de animales controles sanos. El efecto es ligeramente más marcado en el grupo de animales que desde el inicio del estudio consumió el compuesto de la invención, lo que podría indicar la eficacia del producto en el control de los depósitos grasos y su movilización como fuentes de energía.

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende extracto de *Rosmarinus officinalis*, extracto de semilla de *Vitis vinífera* y extracto de rizoma de *Cúrcuma longa*.
2. Composición que comprende extracto de *Rosmarinus officinalis*, extracto de hoja de *Camellina sinensis*, extracto de cáliz de *Hibiscus sabdariffa*, y extracto de fruto de *Punica granatum*.
3. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el extracto de *Rosmarinus officinalis* está presente en una cantidad del 1 al 40% en peso con respecto al peso total de la composición.
4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3, en donde el extracto de semilla de *Vitis vinífera* está presente en una cantidad del 5 al 15% en peso con respecto al peso total de la composición.
5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 o 4, en donde el extracto de rizoma de *Curcuma longa* está presente en una cantidad del 5 al 15% en peso con respecto al peso total de la composición.
6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3, en donde el extracto de hoja de *Camellina sinensis* está presente en una cantidad del 5 al 18% en peso con respecto al peso total de la composición.
7. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 2, 3 o 6, en donde el extracto de cáliz de *Hibiscus sabdariffa* está presente en una cantidad del 5 al 15% en peso con respecto al peso total de la composición.
8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 2, 3, 6 o 7, en donde el extracto de fruto de *Punica granatum* está presente en una cantidad del 3 al 12% en peso con respecto al peso total de la composición.
9. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición comprende además al menos uno de los ingredientes seleccionados del grupo que consiste en vitamina A, vitamina E, vitamina D3, vitamina B9, vitamina B6, vitamina B12, vitamina C, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B3, vitamina B5, vitamina B7, vitamina K, calcio, hierro, zinc, magnesio, fósforo, cobre, yodo, selenio, lecitina, aceite de pescado, extracto de *Garcinia cambogia*, extracto de *Irvingia gabonensis*, softisan y cera de abeja.
10. Composición tal y como se define en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso como medicamento.

11. Composición para su uso según la reivindicación 10, para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad o trastorno metabólico.
12. Composición para su uso según la reivindicación 11, en donde la enfermedad o trastorno metabólico es una enfermedad o trastorno relacionado con los niveles lipídicos de un sujeto.
13. Composición para su uso según la reivindicación 11, en donde la enfermedad o trastorno metabólico es la hiperlipidemia, hiperlipoproteinemia, hipercolesterolemia, hipergliceridemia, o la hipertrigliceridemia.
14. Composición para su uso según la reivindicación 11, en donde la enfermedad o trastorno metabólico es la obesidad.
15. Composición para su uso según la reivindicación 11, en donde la enfermedad o trastorno metabólico es el síndrome metabólico.
16. Composición para su uso según la reivindicación 11, en donde la enfermedad o trastorno metabólico es el hígado graso.
17. Composición para su uso según la reivindicación 10, para su uso en la prevención o tratamiento de la diabetes, el coma diabético, la cetoacidosis diabética, nefropatía diabética, retinopatía diabética, neuropatía diabética, angiopatía diabética o artropatía diabética.
18. Composición para su uso según la reivindicación 10, para su uso en la prevención o tratamiento de la angina de pecho, el infarto de miocardio, la trombosis o embolia derivada de trombosis, el síndrome de Dressler, el tromboembolismo pulmonar, la miocardiopatía, el infarto cerebral, la aterosclerosis, la tromboflebitis, o las varices.
19. Composición para su uso en la prevención o tratamiento de más de una enfermedad o trastorno tal y como se definen en las reivindicaciones 11 a 18.
20. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 19, en donde la composición se administra por vía oral.
21. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 20, en donde la composición está en forma de cápsula.
22. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 21, en donde la composición se administra a un sujeto humano de 50 o más años de edad.
23. Suplemento nutricional que comprende una composición tal y como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.

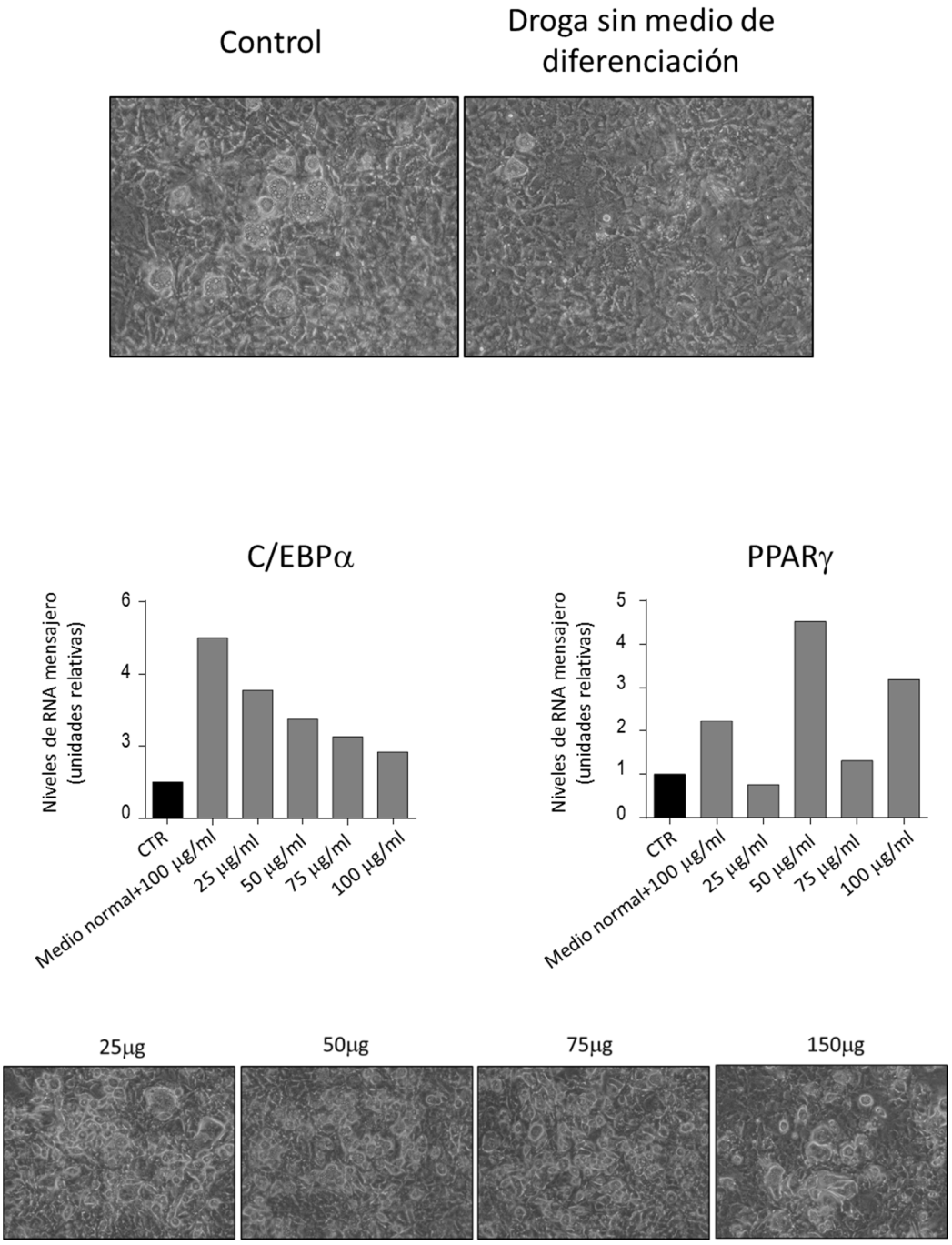

Control
Droga sin medio de diferenciación
C/EBPα
Niveles de RNA mensajero (unidades relativas)
0
3
4
6
CTR
Medio normal+100 µg/ml
25 µg/ml
50 µg/ml
75 µg/ml
100 µg/ml
PPARγ
Niveles de RNA mensajero (unidades relativas)
0
1
2
3
4
5
CTR
Medio normal+100 µg/ml
25 µg/ml
50 µg/ml
75 µg/ml
100 µg/ml
25µg
50µg
75µg
150µg

Figura 1

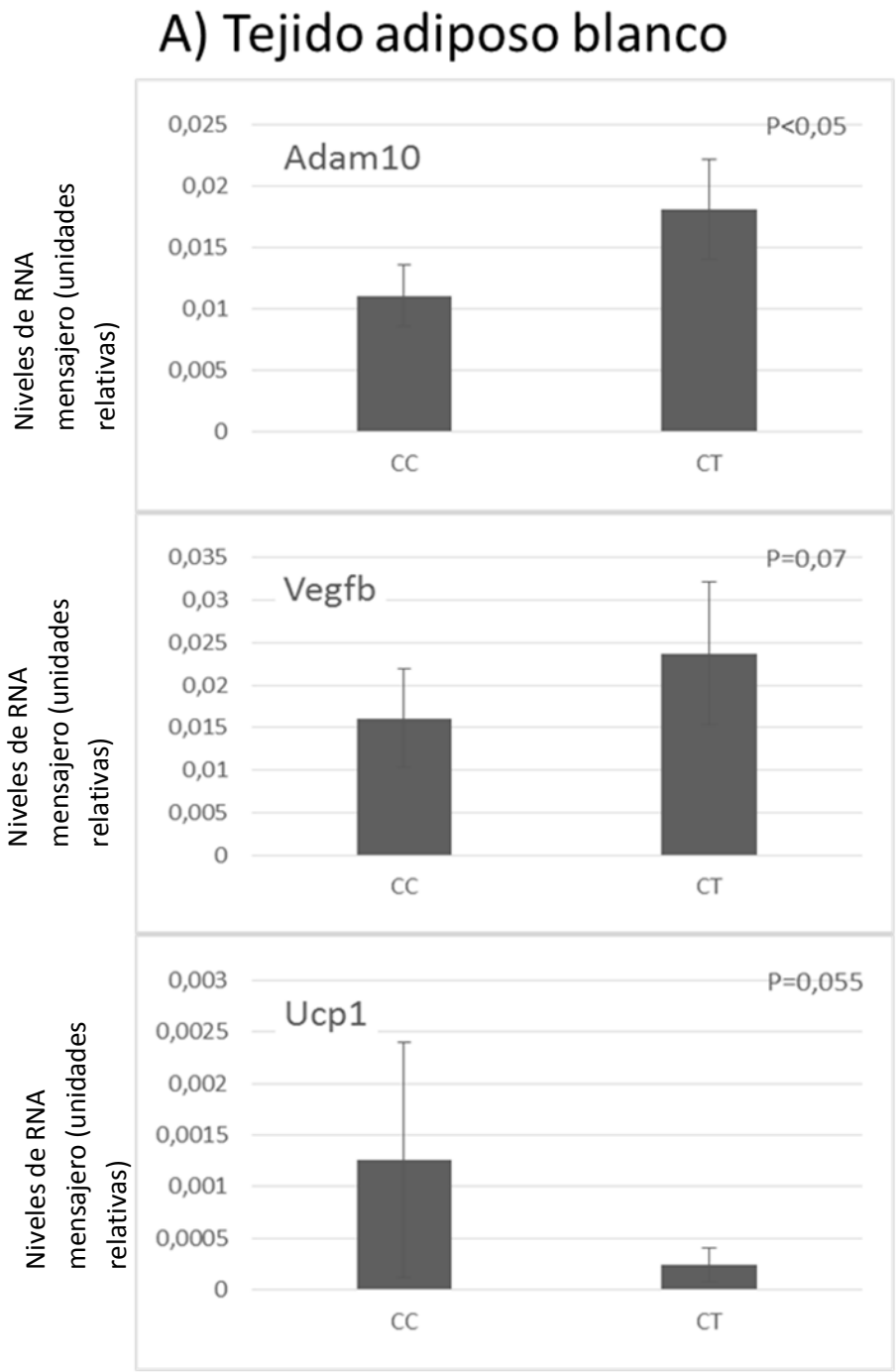

A) Tejido adiposo blanco
Niveles de RNA mensajero (unidades relativas)
Adam10
P<0,05
0,025
0,02
0,015
0,01
0,005
0
CC
CT
Niveles de RNA mensajero (unidades relativas)
Vegfb
P=0,07
0,035
0,03
0,025
0,02
0,015
0,01
0,005
0
CC
CT
Niveles de RNA mensajero (unidades relativas)
Ucp1
P=0,055
0,003
0,0025
0,002
0,0015
0,001
0,0005
0
CC
CT

Figura 2A

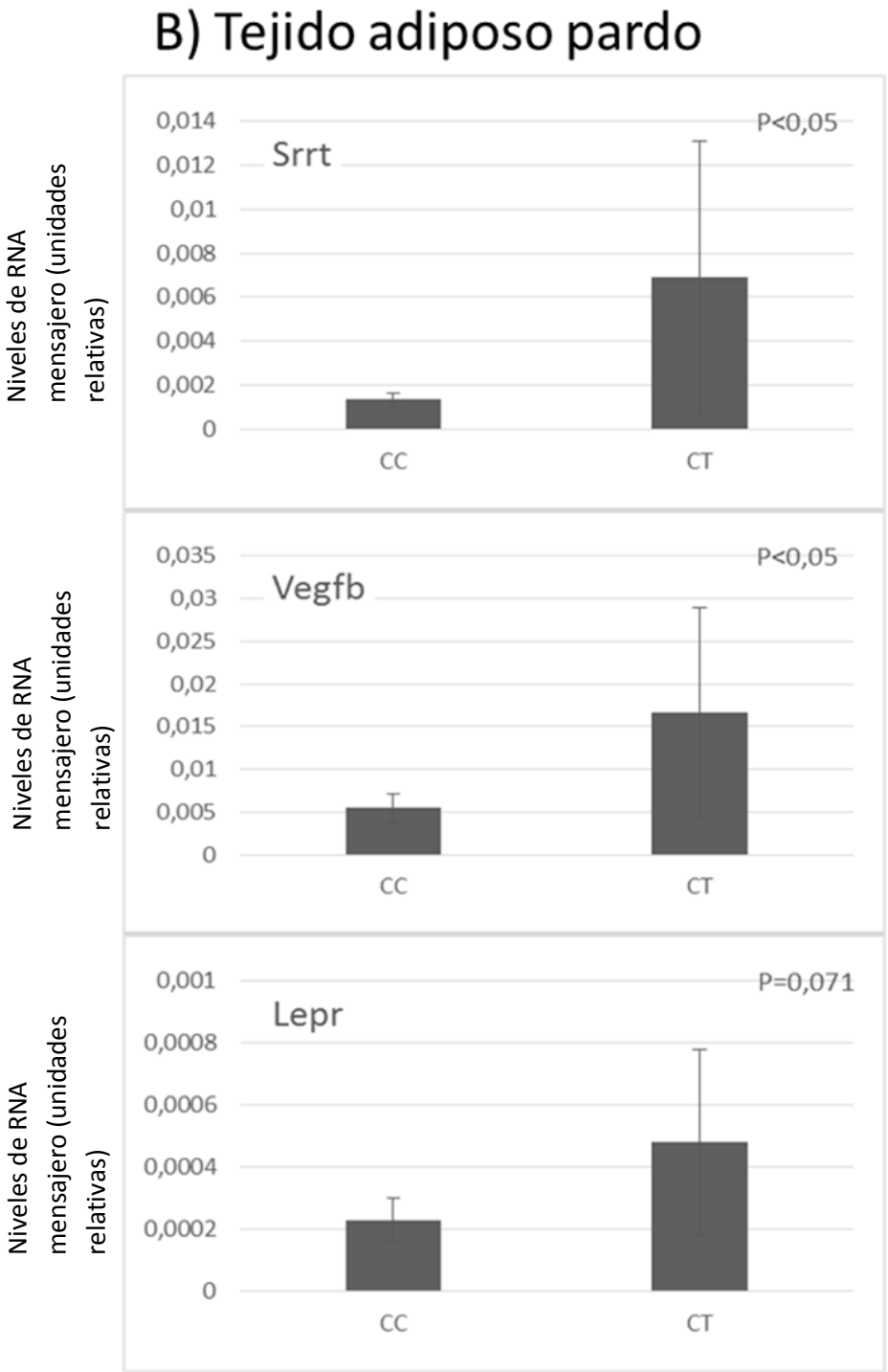

B) Tejido adiposo pardo
Niveles de RNA mensajero (unidades relativas)
Srrt
P<0,05
0,014
0,012
0,01
0,008
0,006
0,004
0,002
0
CC
CT
Niveles de RNA mensajero (unidades relativas)
Vegfb
P<0,05
0,035
0,03
0,025
0,02
0,015
0,01
0,005
0
CC
CT
Niveles de RNA mensajero (unidades relativas)
Lepr
P=0,071
0,001
0,0008
0,0006
0,0004
0,0002
0
CC
CT

Figura 2B

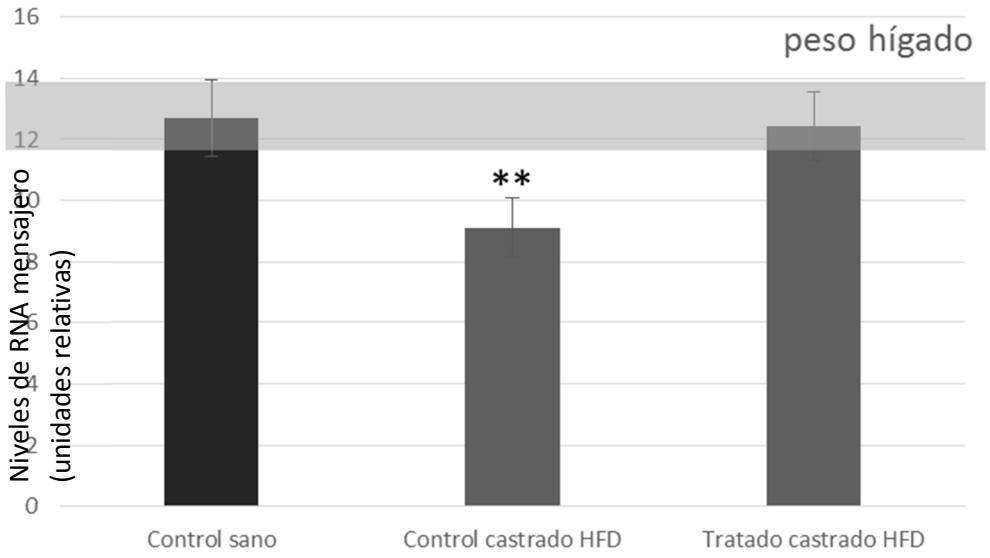
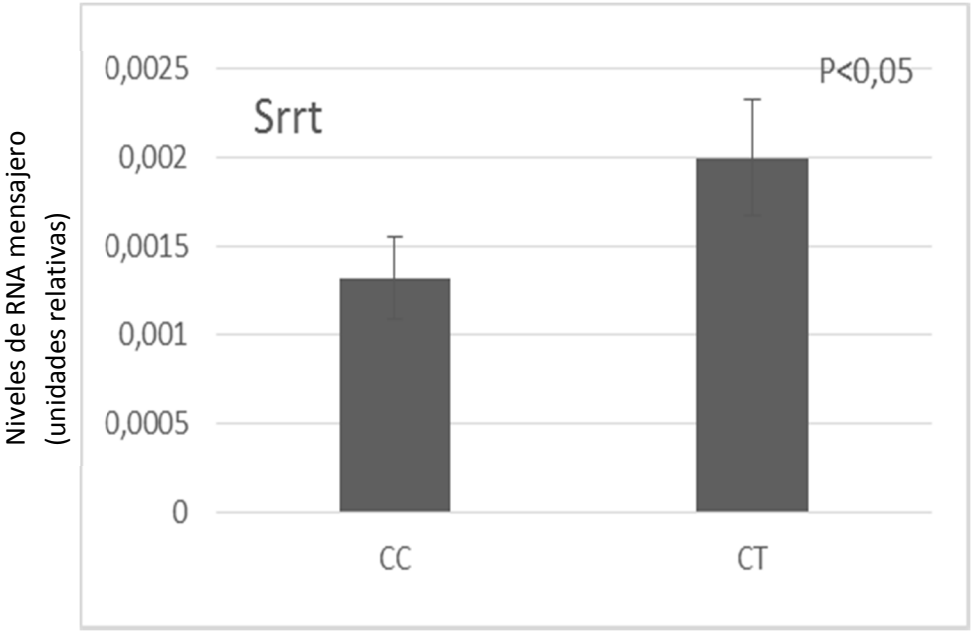

16
14
12
10
8
6
4
2
0
peso hígado
**
Niveles de RNA mensajero
(unidades relativas)
Control sano
Control castrado HFD
Tratado castrado HFD

Figura 3


Niveles de RNA mensajero
(unidades relativas)
0,0025
0,002
0,0015
0,001
0,0005
0
Srrt
P<0,05
CC
CT

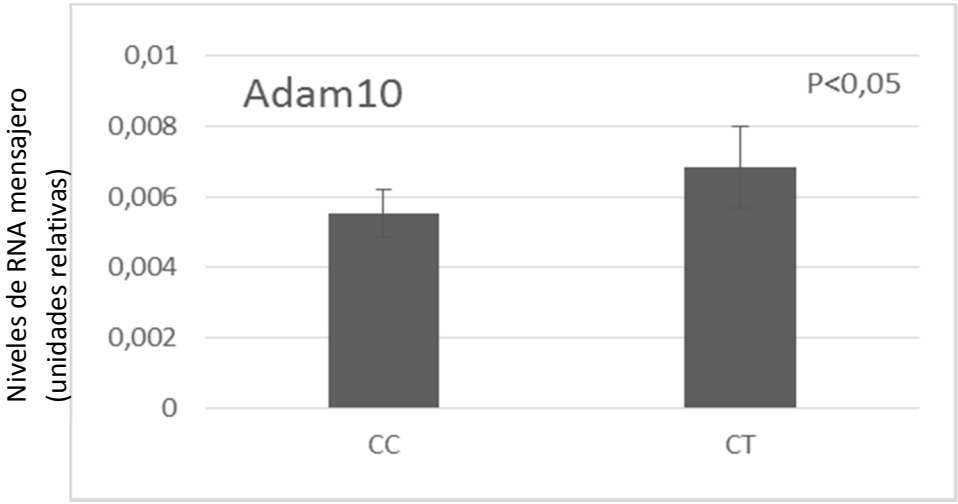

Niveles de RNA mensajero
(unidades relativas)
0,01
0,008
0,006
0,004
0,002
0
Adam10
P<0,05
CC
CT

Figura 4

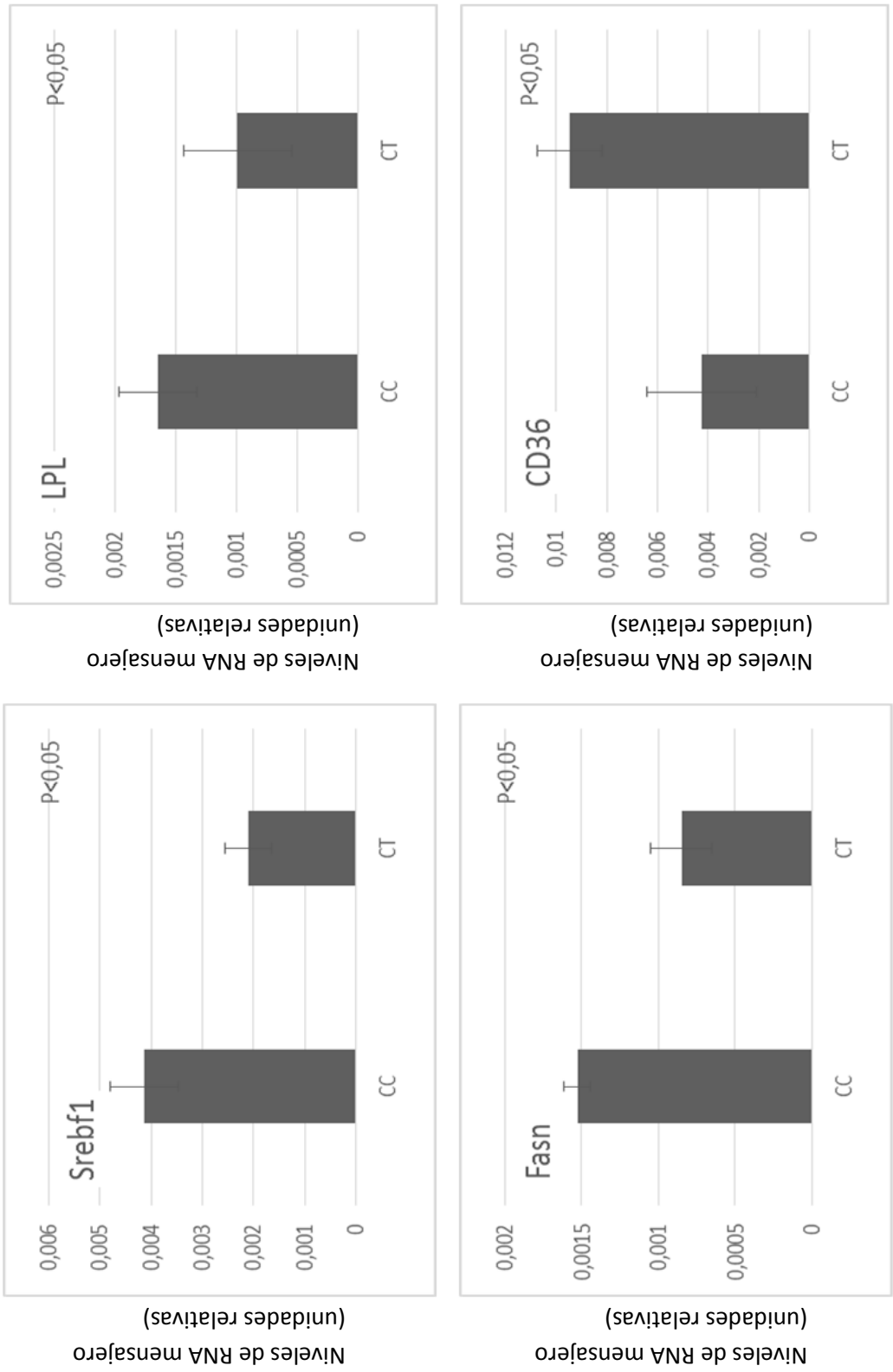

Niveles de RNA mensajero
(unidades relativas)
Srebf1
P<0,05
0,006
0,005
0,004
0,003
0,002
0,001
0
CC
CT
Niveles de RNA mensajero
(unidades relativas)
Fasn
P<0,05
0,002
0,0015
0,001
0,0005
0
CC
CT
Niveles de RNA mensajero
(unidades relativas)
CD36
P<0,05
0,012
0,01
0,008
0,006
0,004
0,002
0
CC
CT
Niveles de RNA mensajero
(unidades relativas)
LPL
P<0,05
0,0025
0,002
0,0015
0,001
0,0005
0
CC
CT

Figura 5

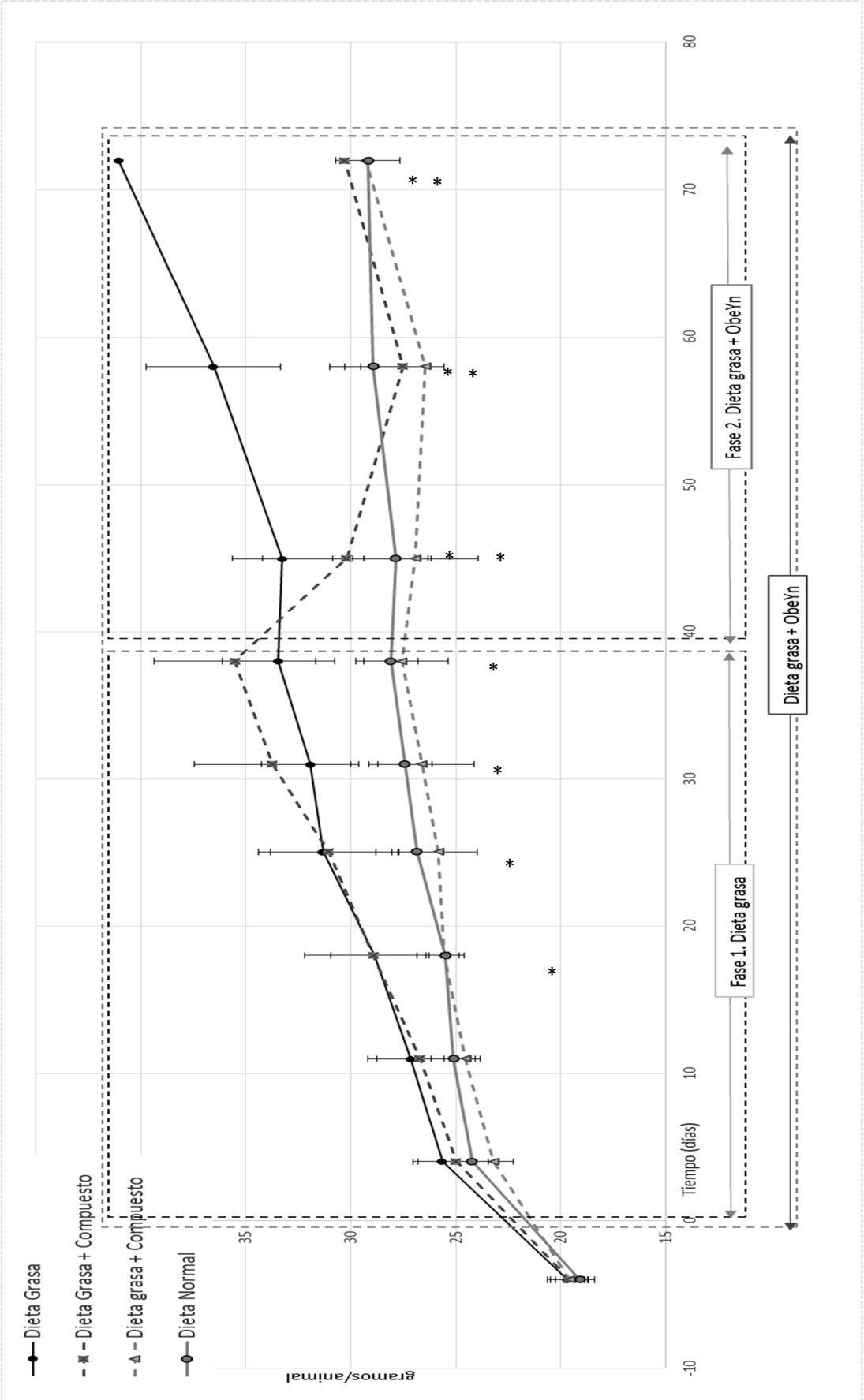
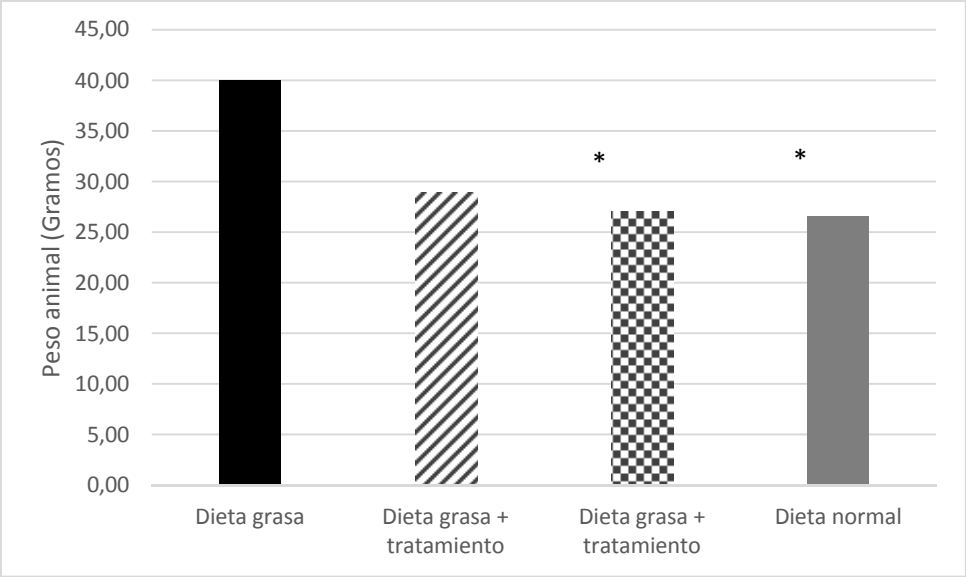

Dieta Grasa
Dieta Grasa + Compuesto
Dieta grasa + Compuesto
Dieta Normal
gramos/animal
35
30
25
20
15
-10
0
10
20
30
40
50
60
70
80
Tiempo (días)
Fase 1. Dieta grasa
Fase 2. Dieta grasa + ObeYn
Dieta grasa + ObeYn

Figura 6


45,00
40,00
35,00
30,00
25,00
20,00
15,00
10,00
5,00
0,00
Peso animal (Gramos)
*
*
Dieta grasa
Dieta grasa + tratamiento
Dieta grasa + tratamiento
Dieta normal

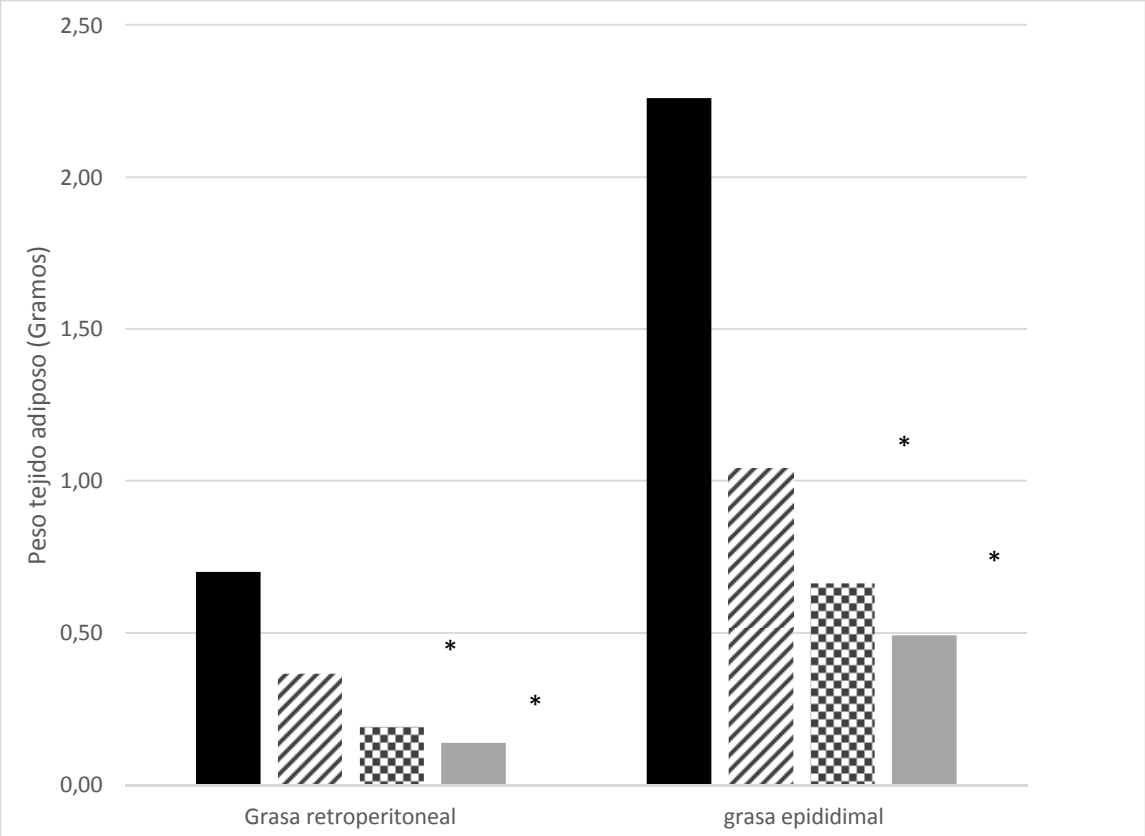

2,50
2,00
1,50
1,00
0,50
0,00
Peso tejido adiposo (Gramos)
*
*
*
*
Grasa retroperitoneal
grasa epididimal

Figura 7