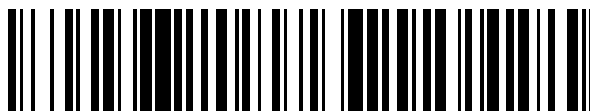


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 537 716**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/48** (2006.01)

**A61K 38/46** (2006.01)

**A61P 3/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2011 E 11778574 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2015 EP 2504026**

54 Título: **Composición que comprende en asociación por lo menos una enzima proteolítica y por lo menos una enzima lipolítica para su utilización para impedir la síntesis de los triglicéridos**

30 Prioridad:

**29.10.2010 FR 1058957**

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

**11.06.2015**

73 Titular/es:

**IMARKO RESEARCH S.A. (100.0%)  
23, Avenue De La Porte-Neuve  
2227 Luxembourg, LU**

72 Inventor/es:

**ROMBI, MAX**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

**ES 2 537 716 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Composición que comprende en asociación por lo menos una enzima proteolítica y por lo menos una enzima lipolítica para su utilización para impedir la síntesis de los triglicéridos.

La presente invención se refiere a una composición que comprende en asociación por lo menos una enzima proteolítica seleccionada de entre la subtilisina o la nagarsa, y por lo menos una enzima lipolítica seleccionada de entre una lipasa Cal A o Cal B de *candida anthartica*, *geotrichum candidum*, *candida rugosa*, o una mezcla de estas lipasas, para su utilización en la prevención o el tratamiento de la obesidad impidiendo la síntesis de los triglicéridos, degradando el 2-monoacilglicerol en el intestino.

La invención se refiere asimismo a un producto que comprende:

- por lo menos una enzima proteolítica, seleccionada de entre la subtilisina o la nagarsa, y
- por lo menos una lipasa, seleccionada de entre una lipasa Cal A o Cal B de *candida anthartica*, *geotrichum candidum*, una lipasa *candida rugosa*, o una mezcla de estas lipasas,

como producto de combinación para una utilización simultánea, separada o espaciada en el tiempo, en la prevención o el tratamiento de la obesidad, impidiendo la síntesis de los triglicéridos, degradando el 2-monoacilglicerol en el intestino y a una utilización no terapéutica de un producto que contiene:

- por lo menos una enzima proteolítica, seleccionada de entre la subtilisina o la nagarsa, y
- por lo menos una lipasa, seleccionada de entre una lipasa Cal A o Cal B de *candida anthartica*, *geotrichum candidum*, una lipasa *candida rugosa*, o una mezcla de estas lipasas,

como producto de combinación para una utilización simultánea, separada o espaciada en el tiempo, para prevenir o disminuir las sobrecargas ponderales, impidiendo la síntesis de los triglicéridos, degradando el 2-monoacilglicerol en el intestino.

Hoy es generalmente reconocido que el aumento de la frecuencia de sobrecarga ponderal y de la obesidad, de la diabetes de tipo II, de las enfermedades cardiovasculares y la falta de energía entre mucha gente en los países desarrollados se debe a una mala utilización de las calorías contenidas en los productos que consumimos que son en la mayoría de los casos muy ricas en cuerpos grasos. Esta deficiencia metabólica o síndrome metabólico afecta a cerca de 50 millones de americanos (cerca de uno de cada 4 adultos americanos) y aproximadamente a 30 millones de europeos. Aproximadamente el 7% de adultos entre 20 y 30 años de edad y el 40% de los adultos mayores de 40 años de edad presentan los criterios para desarrollar este síndrome.

El síndrome metabólico representa un conjunto de factores que ocurren simultáneamente y aumentan el riesgo de enfermedades cardiovasculares, de ataques cerebrales y de diabetes de tipo II. El hecho de presentar sólo uno de estos factores - aumento de la tensión arterial, tasa elevada de insulina, exceso de grasa alrededor de la cintura o tasa anormal de colesterol - favorece el riesgo de contraer una enfermedad grave y en el caso de varios factores reunidos, el riesgo es aún mayor.

Los cuerpos grasos, debido a sus propiedades físicas, químicas y fisiológicas, juegan un papel importante en la nutrición del ser humano. Además de las materias grasas ingeridas en forma de alimento por el ser humano, el mismo organismo fabrica lípidos.

Los cuerpos grasos alimenticios, y los de los tejidos adiposos, están constituidos sobre todo por triglicéridos. Un triglicérido es una molécula de glicerol que comprende 3 ácidos grasos fijados en esta molécula. Los triglicéridos están clasificados en los lípidos (cuerpos grasos), pero sólo los 3 ácidos grasos son unos cuerpos grasos, siendo el glicerol un poliol que pertenece más bien a la clase de los glúcidos. Por ejemplo, el glicerol es soluble en el agua y no en el aceite; por lo tanto el glicerol no es un cuerpo graso.

Es la diferencia de estructura de los ácidos grasos que se fijan al glicerol lo que hace que estos cuerpos grasos sean distintos y lo que influye en el estado de viscosidad de estos cuerpos grasos. Por lo tanto, hay una gran diversidad de triglicéridos en los alimentos tales como los aceites de oliva, de girasol, de soja, la mantequilla, el sebo, la manteca, las margarinas, etc.

Estos ácidos grasos son asimilados en el intestino según un proceso común a todos los triglicéridos que por sí mismos no son asimilables.

Deben ser descompuestos en diglicéridos, monoglicéridos, y ácidos grasos libres, gracias a la acción de lipasas a nivel del tubo digestivo, y solamente estos productos son asimilables, no siéndolo los triglicéridos.

Las lipasas o enzimas lipolíticas son unas enzimas que secretamos a nivel de la boca, del estómago y del páncreas que recortan los triglicéridos (TAG) en moléculas más pequeñas para ser asimiladas. Desafortunadamente, el ataque de las lipasas a los triglicéridos (TAG) se realiza sólo en las posiciones 1 y 3 del glicerol, conduciendo a la formación de ácidos grasos libres y de 2-monoacilglicerol (molécula de glicerol que comprende 1 ácido graso fijado en la posición 2 de esta molécula).

Si la acción de las lipasas es mayor, se puede llegar incluso a obtener ácidos grasos libres y glicerol. Todas estas moléculas son asimilables por el organismo.

Pero es aquí donde las cosas se complican: en cuanto estos productos son asimilados, el organismo resintetiza (reforma) en las células epiteliales del intestino - los enterocitos - los triglicéridos que habían sido descompuestos en particular en ácidos grasos libres y en 2-monoacilglicerol por las lipasas tales como las lipasas pancreáticas (véase la figura 1, que representa la descomposición de los triglicéridos (triacilglicerol TAG) por las lipasas, y después la re-formación de los triglicéridos en las células del intestino).

Esta re-formación de los triglicéridos (TAG) se realiza particularmente gracias a la actividad de 4 enzimas (la acil-CoA sintetasa, la monoglicérido transacilasa, la diglicérido transacilasa y la diglicérido sintetasa), que van a actuar en varias etapas de la síntesis.

Los ácidos grasos libres estarán re-fijados entonces al 2-monoacilglicerol en las posiciones 1 y 3 y re-formarán unos triglicéridos. Estos triglicéridos, que no son solubles en la sangre, deberán integrar quilomicrones que evolucionarán hacia las VLDL, LDL y HDL y transportarán a todo el organismo los triglicéridos (TAG), el colesterol y los fosfolípidos.

Estos nuevos triglicéridos se fijarán así en las lipoproteínas y se almacenarán en los adipocitos (células grasas). De tal manera que los triglicéridos que han sido asimilados por el organismo, después de haber sido descompuestos en cuerpos grasos más pequeños, son almacenados de nuevo como triglicéridos. Así, el organismo no utiliza su energía inmediatamente, ya que están almacenados en los adipocitos. El organismo no puede metabolizar los ácidos grasos cuando están fijados al glicerol, como en los triglicéridos. Para ser metabolizados, los ácidos grasos deben estar libres.

Esta deficiencia metabólica, a la que algunos llaman el gen de la obesidad (James V. Neel - *Diabetes Mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"* - American Journal of Human Genetics - vol. 14 - páginas 353-362), que constituye la recomposición y el almacenamiento de los triglicéridos, ha sido una ventaja en los tiempos de los primeros seres humanos, hace miles de años. En efecto, esta facultad de almacenar los cuerpos grasos era esencial para la supervivencia. Durante los períodos prósperos, cuando la caza permitía matar venado, el ser humano comía mucho y tenía grasas de reserva. Entonces el hombre, al almacenar grasa de este modo, pudo sobrevivir a largos períodos de hambruna y consumía sus reservas de grasa durante estos tiempos difíciles.

Todo esto ha sido bien explicado por Stephen Cunnane en su libro "The survival of the fattest," (*The Key to Human Brain Evolution*, World Scientific Publishing Co, New Jersey, Estados Unidos, 2005, [www.worldscibooks.com](http://www.worldscibooks.com)) que explica que son las personas con las reservas de grasa más abundantes las que sobrevivieron mejor a los largos períodos de escasez de alimentos.

Son estas mismas personas quienes enriquecieron su cerebro con ácidos grasos de la serie omega-3 y quienes se volvieron más inteligentes y más evolucionados que el resto de sus congéneres. En esa época, la deficiencia metabólica era una ventaja evolutiva, y era también una ventaja frente a la selección natural. Es particularmente el caso en el que el *Homo sapiens* surgió a partir de *Homos* primitivos.

El ejemplo de los Melanesios es claro. Este pueblo se fue de Taiwan en piraguas y después colonizó todas las Islas del Pacífico. Aquellos que soportaron el viaje fueron los que tenían las mayores reservas de grasas.

La selección natural favoreció la supervivencia del más grande, quien a su vez tuvo hijos con el gen de la obesidad. Por lo tanto, entre el 60% y el 70% de los Melanesios son diabéticos tipo II.

Pero, en nuestros días, en los países desarrollados donde el hambre es saciada tal vez en exceso, esta facultad de almacenamiento se ha vuelto una catástrofe. En efecto, la resíntesis de los triglicéridos en los enterocitos o células del intestino tiene unas consecuencias desastrosas para la salud de los seres humanos. En particular, esta re-formación de triglicéridos induce:

- un aumento del tamaño y del número de quilomicrones, que son los transportadores de los triglicéridos, del colesterol y de los fosfolípidos en la sangre,
- un aumento de los riesgos de aterosclerosis, que facilita la formación de placas en las arterias y frecuentemente trombosis arterial, a causa de todos los ácidos grasos atrapados en los triglicéridos, no metabolizados por el organismo,

- un aumento de la tasa de colesterol malo en circulación,
- un aumento en el número y tamaño de las células de grasa y por tanto un desarrollo del aumento de peso o de la obesidad.

Además, el exceso de triglicéridos en la sangre reduce la cantidad de ácidos grasos libres disponibles para ser metabolizados; de esta manera, nos falta energía.

Por lo tanto, en algunos casos graves, en donde el gen de la obesidad está muy marcado, tenemos la sensación de no tener nutrientes disponibles en la sangre incluso después de una comida. Este sentimiento desagradable nos crea el deseo de comer, una sensación constante de hambre que nos invita a comer y a beber para sentirnos mejor.

Esta deficiencia metabólica, el hecho de no poder utilizar las calorías contenidas en los ácidos grasos que asimilamos, pero que en forma de triglicéridos no son utilizables, ya que los ácidos grasos están atrapados en los triglicéridos, provoca un conjunto de complicaciones, llamadas síndrome X por Reaven o "deadly quartet" por Kaplan

- G.M. Reaven - Stanford University School of Medicine - Division of Endocrinology, Gerontology and Metabolism, Department of Veterans Affairs Medical Center. Palo Alto, CA, USA - *Syndrome X: 6 years later* - Journal of Internal Medicine 1994; 236 (Suplemento 736): 13-22;
- G.M. Reaven - Simon & Schuster - Rockefeller Center, 1230 Avenue of the Americas - New York, NY 10020 - *Syndrome X - Overcoming the silent killer that can give you a heart attack* - Copyright 2000 G.M. Raven, T. Strom y B. Fox;
- Norman M. Kaplan MD - *The Deadly Quartet* - Arch Inter. Med - vol 149, Julio 1989: 1514-1520.

Para encontrar la energía que necesita, nuestro organismo, privado de ácidos grasos disponibles para ser metabolizados, utilizará la glucosa, omnipresente en el organismo. Esto es lo que hace decir que somos un vehículo híbrido. Pero la glucosa, en contraste con los ácidos grasos, adolece de muchos inconvenientes:

- Al quemarse, libera sólo 4 calorías por gramo, mientras que los ácidos grasos liberan 9 calorías por gramo,
- Pero sobre todo, la glucosa, para ser usada y penetrar en las células, necesita la hormona insulina. Por ello, para que la glucosa penetre en todas nuestras células, el organismo debe secretar aún más insulina, más allá de sus capacidades y bajo condiciones extremas. De tal manera que en algún momento, el organismo, y en particular el páncreas ya no puede secretar tanta insulina, y tenemos el fenómeno de la resistencia a la insulina; la glucosa se acumula en la sangre y ya no puede penetrar en las células. Esto se llama intolerancia a la glucosa; el cuerpo se vuelve insulino-resistente.

Esta hiperinsulinemia tiene efectos perversos; demasiada insulina detiene la salida de los ácidos grasos de las células de grasa, lo cual se llama lipólisis. Por lo tanto hay una deficiencia aún mayor de ácidos grasos disponibles para ser utilizados; ya no hay más salidas de los ácidos grasos de las células de grasa, por lo tanto no hay posibilidad de perder peso especialmente para aquellos que sufren obesidad. De esta manera, la carencia de ácidos grasos disponibles es aún mayor, y se constata una utilización mayor de la glucosa en el metabolismo. Por lo cual, se producen también otras complicaciones, como un aumento de la trigliceridemia y de la colesterolemia.

Todos estos trastornos metabólicos provocan una dislipidemia, hipertensión, hiperuricemia y una tasa de glucosa por encima de lo normal, ya que la glucosa penetra mal en las células y se acumula en la sangre causando hiperglucemia.

Todas estas complicaciones metabólicas pueden entonces conducir a la diabetes de tipo II, que se instalará de forma duradera. Una acumulación de cuerpos grasos en las células grasas, en particular en el abdomen y alrededor de la cintura en los hombres y en el trasero en las mujeres, se instalará asimismo de forma duradera.

Todos estos problemas metabólicos tendrán repercusiones en la moral del individuo que está entonces frecuentemente muy baja, que puede conducir a un desequilibrio emocional o a una depresión nerviosa en dicho individuo que sufre estos trastornos metabólicos, en particular con un gran sentimiento de insatisfacción y hambre constante.

Además, el cerebro está entonces mal irrigado. El exceso de insulina desequilibra todos los parámetros sanguíneos que están perturbados: las adipocitocinas, TNF $\beta$ , IL-6, PAI 1, adiposina, angiotensinógeno, leptina, adiponectina, resistina, MCSF, TGFL, etc., aumentan en la sangre. Todos estos productos inflamatorios acentúan los desequilibrios biológicos y desestabilizan el metabolismo lipídico y glucídico del individuo.

Estudios anteriores buscaron nuevas maneras de cortocircuitar la síntesis de triglicéridos y de superar esta

deficiencia metabólica.

De este modo, se encontraron diferentes métodos para desalmacenar las células grasas y obtener la biodisponibilidad de los ácidos grasos almacenados en estas células grasas.

5 Se han utilizado para ello en particular unas sustancias, tales como el extracto de té rico en flavonoides para bloquear la enzima O'-metiltransferasa, que destruye la adrenalina, o también el extracto de semillas de uva rico en flavan-3-ol y la corteza de pino rica en bioflavonoides, aumentando estos últimos ambos la termogénesis, es decir, que liberan los ácidos grasos de las células grasas; asimismo, los polifenoles extraídos del cacao que tienen el mismo efecto.

10 Se realizó un intenso uso de las anfetaminas y otros isoméridos o Mediator para hacer salir los cuerpos grasos prisioneros de las células grasas. Pero estos productos eran muy peligrosos y todos están prohibidos ahora.

15 También se intentó cortocircuitar las células grasas con el CLA, ácido linoleico conjugado, que no entra en el ciclo de la síntesis de los TAG, así como con los aceites de cadenas medianas que se queman sin pasar por las células grasas.

20 El solicitante ha intentado encontrar un mejor medio para oponerse al síndrome metabólico, combatir el gen de la obesidad y usar la energía de los cuerpos grasos, sin favorecer por ello la formación de depósitos grasos.

El solicitante ha constatado que muchos laboratorios proponían utilizar agentes bloqueadores de lipasa con el fin de impedir la descomposición de los TAG, así como su re-formación.

25 Pero el solicitante ha descubierto de manera sorprendente que los productos anti-lipasas no eran en absoluto eficaces para perder peso, sino que en realidad tenían una acción nefasta en el organismo al aumentar la cantidad de TAG que permanece en el intestino.

30 La solución propuesta por la presente invención es inhibir, reducir y/o prevenir la re-formación de los triglicéridos en los enterocitos o células del intestino del organismo mediante la utilización de una asociación de enzima proteolítica o proteasa con por lo menos una enzima lipolítica o lipasa.

Al administrar dichas enzimas proteolíticas, pero sobre todo las lipasas, se evita la resíntesis de triglicéridos de una manera elegante y sin peligro para el organismo.

35 De este modo, el solicitante descubrió que:

- las enzimas proteolíticas alteran la actividad de las cuatro enzimas - la acil-CoA sintetasa, la monoglicérido transacilasa, la diglicérido transacilasa y la diglicérido sintetasa - en el enterocito, que ayudan a la resíntesis de los triglicéridos,
- pero sobre todo, que si se hace actuar a lipasas específicas que actúan ventajosamente en la posición 2 en los triglicéridos del intestino, se reduce la producción del 2-monoacilglicerol, que es el pivote de la resíntesis de los triglicéridos. Esta vía metabólica es conocida por todos los bioquímicos como la vía de síntesis del 80% de los triglicéridos; la otra vía, menos eficaz, es la resíntesis a partir del glicerol-3-fosfato y sólo produce el 20% de los triglicéridos.

50 La presente invención tiene así como objeto una composición que comprende en asociación por lo menos una enzima proteolítica o proteasa y por lo menos una enzima lipolítica o lipasa para su utilización para impedir la síntesis o re-formación de los triglicéridos, especialmente en los enterocitos o células del intestino, descomponiendo el 2-monoacilglicerol.

Según la presente invención, la enzima proteolítica es la subtilisina, o la nagarsa.

55 De acuerdo con una característica particular de la presente invención, la enzima proteolítica está presente en un contenido comprendido entre 5 y 30%, típicamente entre 10 y 20% en peso, con respecto al peso total de la composición.

60 De acuerdo con otra característica particular de la presente invención, la enzima proteolítica está presente en un contenido comprendido entre 70 y 95%, típicamente entre 80 y 90% en peso, con respecto al peso total de la composición.

65 Ventajosamente de acuerdo con la presente invención, la composición permite la administración de una dosis diaria de enzima proteolítica comprendida entre 10 y 200 mg, más particularmente entre 10 y 100 mg, típicamente entre 20 y 100 mg, por ejemplo entre 50 y 100 mg.

Ventajosamente de acuerdo con la presente invención, la composición permite la administración de una dosis diaria de enzima lipolítica comprendida entre 100 y 400 mg, más particularmente entre 100 y 300 mg, típicamente entre 100 y 200 mg o entre 200 y 300 mg.

5 En un modo de realización particular de la presente invención, la composición está formulada para ser administrada por vía oral.

Ventajosamente de acuerdo con la presente invención, la composición se presenta en forma de cápsula dura, cápsula blanda, comprimido, gránulo, polvo o solución bebible.

10 De acuerdo con una característica particular de la presente invención, la composición se presenta en la forma de cápsula dura o de comprimido gastro-resistente.

15 Ventajosamente, la composición es gastro-resistente, con el fin de que la composición libere la enzima proteolítica y la enzima lipolítica a nivel del intestino.

20 De manera ventajosa de acuerdo con la presente invención, la composición es una composición farmacéutica, cosmética, nutracéutica o alimenticia, un complemento alimenticio, o también un dispositivo médico, y puede comprender cualquier vehículo o excipiente apropiado, aceptable desde el punto de vista farmacéutico, cosmético, dietético o nutracéutico, así como unos aditivos convencionales conocidos por el experto en la materia.

25 Las lipasas utilizadas en el marco de la presente invención son activas en la posición 2 en los triglicéridos y reducirán el 2-monoacilglicerol e impedirán la re-formación de los triglicéridos, vía que produce el 80% de los triglicéridos.

30 De acuerdo con la invención, la composición comprende por lo menos una lipasa seleccionada de entre el grupo que comprende la lipasa Cal A o Cal B de *candida anthartica*, *geotrichum candidum*, *candida rugosa*, y mezclas binarias o ternarias de estas lipasas. Típicamente, la composición comprende una mezcla de Cal A o Cal B de *candida anthartica*, *geotrichum candidum* y *candida rugosa*.

35 La composición según la presente invención está destinada a ser utilizada en la prevención o la disminución de las sobrecargas ponderales, típicamente en una composición cosmética o un dispositivo médico.

La composición o el producto según la presente invención están destinados asimismo a ser utilizados en la prevención o el tratamiento de la obesidad.

La presente invención también tiene como objeto una composición o un producto que contiene:

- 40 - por lo menos una enzima proteolítica, seleccionada de entre la subtilisina o la nagarsa, y
- por lo menos una lipasa, seleccionada de entre una lipasa Cal A o Cal B de *candida anthartica*, *geotrichum candidum*, una lipasa *candida rugosa*, o una mezcla binaria o ternaria de estas lipasas,

45 como producto de combinación para una utilización simultánea, separada o espaciada en el tiempo, para impedir la síntesis de los triglicéridos, degradando el 2-monoacilglicerol en el intestino.

Típicamente, las proteasas se administran en forma de una cápsula dura. Las proteasas se administran ventajosamente de 2 a 3 veces al día, 1 cápsula con cada comida.

50 Típicamente, el producto comprende por lo menos una lipasa de *candida anthartica* tal como la lipasa Cal A o Cal B de *candida anthartica*, una lipasa de *geotrichum candidum*, y/o una lipasa de *candida rugosa*. Esto es particularmente ventajoso ya que estas lipasas actúan en la posición 2 en los triglicéridos y degradarán por lo tanto el 2-monoacilglicerol y ayudarán a las proteasas a impedir la re-formación de los triglicéridos en el organismo. Sin 2-monoacilglicerol, la resíntesis de los TAG es mucho más difícil (se recuerda que esta vía produce el 80% de los TAG en el organismo).

55 Típicamente, las lipasas se administran en forma de una cápsula dura. Las lipasas se administran ventajosamente 3 veces al día, 1 cápsula con cada comida.

60 En un modo de realización particular, la composición o el producto según la presente invención están destinados a ser utilizados como medicamento, como agente cosmético, como dispositivo médico, como composición alimenticia, como nutracéutico o complemento alimenticio.

65 En un modo de realización particular, la composición o el producto según la presente invención están destinados a ser utilizados en la prevención o la disminución de las sobrecargas ponderales

En otro modo de realización particular, la composición o el producto según la presente invención están destinados a ser utilizados en la prevención o el tratamiento de la obesidad.

Los ejemplos siguientes están destinados a ilustrar la invención sin limitar de ningún modo su alcance.

5 **Ejemplo 1: Estudio de la actividad inducida por la administración de una asociación de enzimas proteolíticas, tal como la subtilisina, y de enzimas lipolíticas, tales como la Cal A de *candida anthartica*, la lipasa de *geotrichum candidum*, y la lipasa de *candida rugosa*, para impedir la síntesis de los triglicéridos**

10 Se llevó a cabo un estudio de actividad y de dosis de ensayo usando ratas. Estas ratas fueron divididas en 3 grupos de 10 (ramas).

La primera rama, el grupo control, no recibió ningún producto activo.

15 Las otras dos ramas, grupos de 10 ratas cada una, recibieron durante 8 días (una vez al día), respectivamente, una mezcla de 50 mg de subtilisina y 100 mg de la lipasa Cal A de *candida anthartica* para el grupo 1, y una mezcla de 50 mg de subtilisina y 50 mg de la lipasa de *geotrichum candidum*, así como 50 mg de lipasa de *candida rugosa* para el grupo 2.

20 Al cabo de 8 días, todas las ratas, incluyendo el grupo control, recibieron una dosis de aceite de oliva, que equivale en el ser humano a una cucharada sopera (15 ml).

25 Después de esta administración de aceite de oliva a todas las ratas, se tomaron muestras de sangre de todas las ratas, 1 h después de la administración del aceite de oliva, 2 h y media después y 5 horas después. Se calcularon entonces la dosis de triglicéridos en la sangre extraída.

En las ratas control se encontró una dosis elevada de TAG en la sangre, para las tres extracciones (1 h, 2 h y media, y 5 h).

30 Los grupos 1 y 2 no tenían TAG en la sangre.

El aceite de oliva fue administrado entonces de nuevo dos veces más con una semana de intervalo - las ramas 1 y 2 continuaron recibiendo subtilisina en asociación con las lipasas mencionadas anteriormente.

35 Los resultados fueron los mismos de las otras dos ocasiones.

Los grupos 1 y 2 no han re-formado TAG, mientras que el grupo control tenía una dosis elevada de TAG en la sangre, para las 3 extracciones.

40 Por lo tanto se puede concluir que la asociación de la subtilisina y de las lipasas ha impedido la formación de los triglicéridos (TAG).

#### **Ejemplo 2: Estudio de 10 cerdos enanos**

45 Se llevó a cabo un estudio con 10 cerdos de raza enana.

Estos cerdos fueron separados en 4 grupos:

- 50
- 1 cerdo control
  - 3 cerdos lote 1
  - 3 cerdos lote 2
  - 3 cerdos lote 3

55 El cerdo control no recibió ninguna enzima.

Las otras 3 ramas recibieron tres fórmulas de enzimas.

60 La fórmula 1 estaba compuesta por 10 mg de subtilisina y por 300 mg de lipasa Cal A, así como por pancreatina. Fue administrada a los cerdos del lote 1, a una dosis de 20 mg/kg.

La fórmula 2 estaba compuesta por 10 mg de subtilisina y por 300 mg de lipasa *candida rugosa*, así como por pancreatina. Fue administrada a los cerdos del lote 2, a una dosis de 40 mg/kg.

65 La fórmula 3 estaba compuesta por 10 mg de subtilisina y por 300 mg de lipasa *geotrichum candidum*, así como por pancreatina. Fue administrada a los cerdos del lote 3, a una dosis de 40 mg/kg.

## ES 2 537 716 T3

Las fórmulas se dieron durante 8 días, una vez al día.

Los resultados (medición de la tasa de triglicéridos) se midieron mediante extracciones de sangre cada 2 horas durante 2 días.

5 Los resultados del estudio mostraron que el cerdo control produjo una gran cantidad de triglicéridos, mientras que las otras 3 ramas produjeron relativamente pocos triglicéridos (véase la figura 2).

10 Se llevó a cabo un segundo estudio 8 días después, usando esta vez como animal control 1 cerdo de cada rama mencionada anteriormente (1 cerdo del lote 1, 1 cerdo del lote 2 y 1 cerdo del lote 3).

Los 2 cerdos restantes por lote recibieron las mismas fórmulas de enzimas que las mencionadas anteriormente.

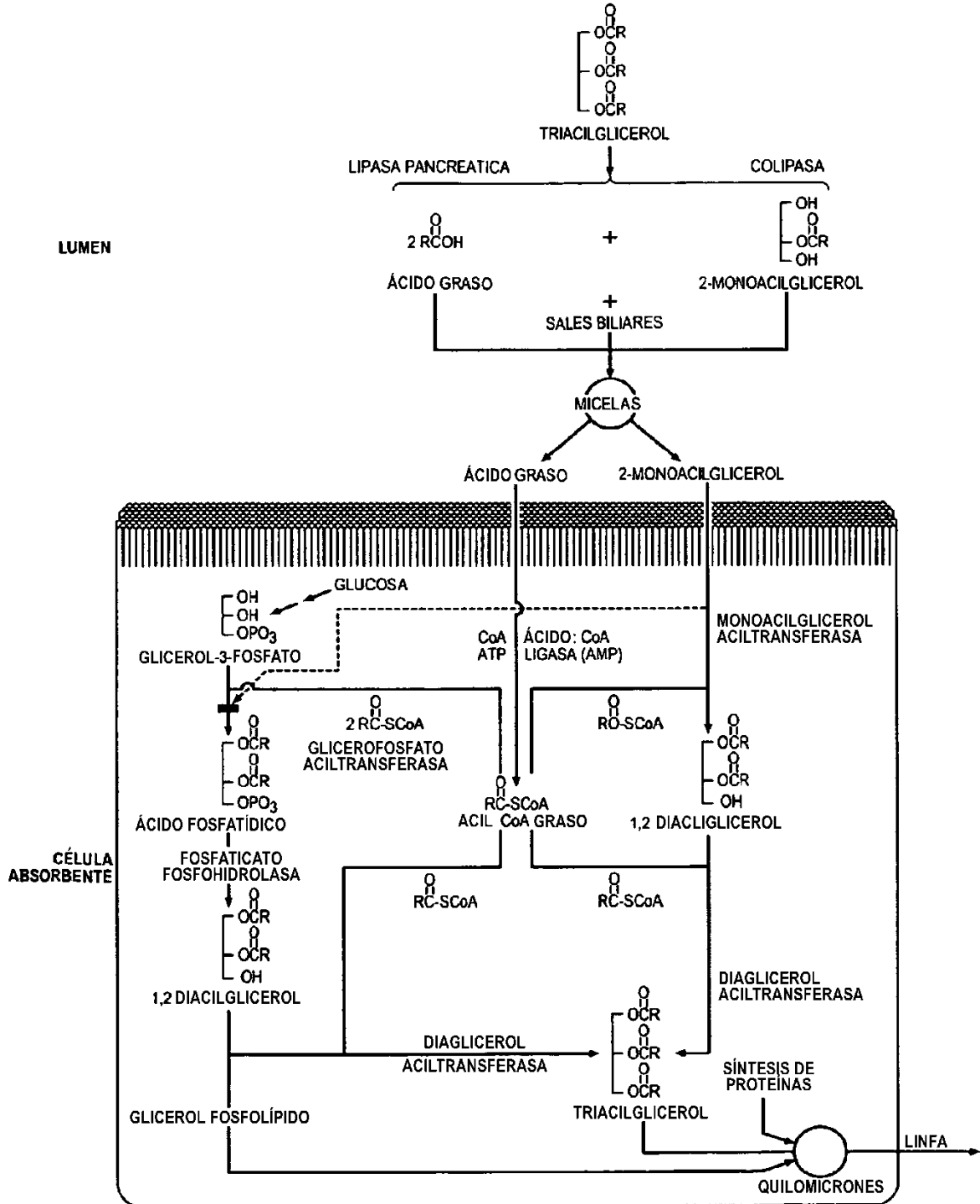
15 Se constató entonces que el conjunto de los cerdos no fabricaba muchos triglicéridos, incluidos los cerdos control. Por tanto, se puede concluir que las enzimas que proporcionadas 8 días antes todavía tenían actividad en la sangre con un efecto retardado, y que las lipoproteínas se redujeron en los animales control que habían recibido las enzimas 8 días antes.



**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Composición que comprende en asociación por lo menos una enzima proteolítica seleccionada de entre la subtilisina o la nagarsa, y por lo menos una enzima lipolítica seleccionada de entre una lipasa Cal A o Cal B de *candida anthartica*, *geotrichum candidum*, *candida rugosa*, o una mezcla de estas lipasas, para su utilización en la prevención o el tratamiento de la obesidad impidiendo la síntesis de los triglicéridos, degradando el 2-monoacilglicerol en el intestino.
- 10 2. Utilización no terapéutica de una composición que comprende en asociación por lo menos una enzima proteolítica seleccionada de entre la subtilisina o la nagarsa, y por lo menos una enzima lipolítica seleccionada de entre una lipasa Cal A o Cal B de *candida anthartica*, *geotrichum candidum*, *candida rugosa*, o una mezcla de estas lipasas, para prevenir o disminuir las sobrecargas ponderales, impidiendo la síntesis de los triglicéridos, degradando el 2-monoacilglicerol en el intestino.
- 15 3. Composición para su utilización según la reivindicación 1 o utilización según la reivindicación 2, caracterizada por que la composición está formulada para ser administrada por vía oral.
- 20 4. Composición para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 o utilización según la reivindicación 2, caracterizada por que la composición se presenta en forma de una cápsula dura, cápsula blanda, comprimido, gránulo, polvo o solución bebible.
- 25 5. Composición para su utilización según la reivindicación 4 o utilización según la reivindicación 4, caracterizada por que la composición se presenta en forma de cápsula dura o de comprimido gastro-resistente.
- 30 6. Composición para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 5 o utilización según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, caracterizada por que la composición permite la administración de una dosis diaria de enzima proteolítica comprendida entre 50 y 100 mg.
- 30 7. Composición para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 6 o utilización según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, caracterizada por que la composición permite la administración de una dosis diaria de enzima lipolítica comprendida entre 200 y 300 mg.
- 35 8. Producto que contiene:
- por lo menos una enzima proteolítica seleccionada de entre la subtilisina o la nagarsa, y
  - por lo menos una lipasa seleccionada de entre una lipasa Cal A o Cal B de *candida anthartica*, *geotrichum candidum*, una lipasa *candida rugosa*, o una mezcla de estas lipasas,
- 40 como producto de combinación para una utilización simultánea, separada o espaciada en el tiempo, para prevenir o tratar la obesidad, impidiendo la síntesis de los triglicéridos, degradando el 2-monoacilglicerol en el intestino
- 45 9. Utilización no terapéutica de un producto que comprende:
- por lo menos una enzima proteolítica seleccionada de entre la subtilisina o la nagarsa, y
  - por lo menos una lipasa seleccionada de entre una lipasa Cal A o Cal B de *candida anthartica*, *geotrichum candidum*, una lipasa *candida rugosa*, o una mezcla de estas lipasas,
- 50 como producto de combinación para una utilización simultánea, separada o espaciada en el tiempo, para prevenir o disminuir las sobrecargas ponderales, impidiendo la síntesis de los triglicéridos, degradando el 2-monoacilglicerol en el intestino.

FIG. 1



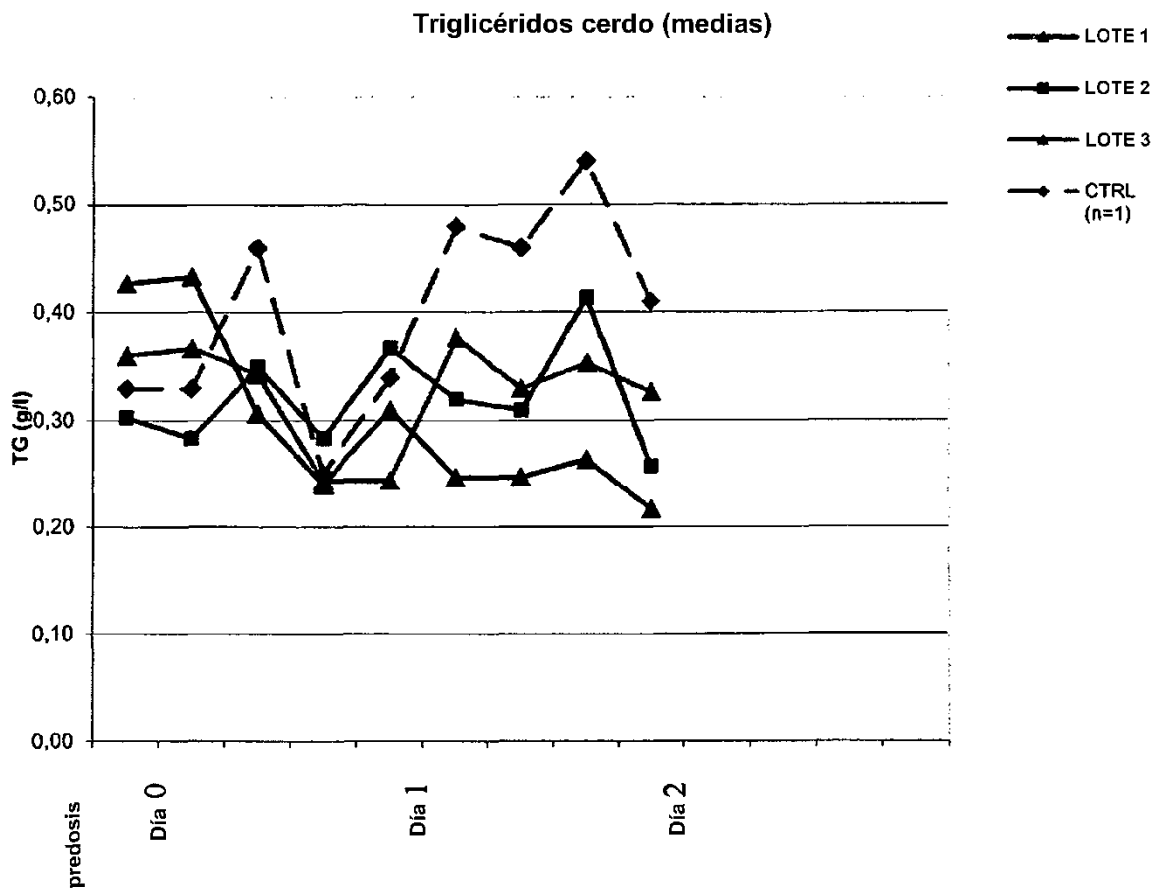


Figura 2