

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 581 336**

51 Int. Cl.:

A61K 36/53 (2006.01)

A61K 36/282 (2006.01)

A61K 36/605 (2006.01)

A23L 33/105 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.10.2006 E 06799129 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.05.2016 EP 1951275**

54 Título: **Composición antiobesidad**

30 Prioridad:

05.10.2005 KR 20050093577

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

05.09.2016

73 Titular/es:

**ANGIOLAB., INC. (50.0%)
Hanshin S Mecca Suite 159, 65 Techno 3ro,
Yuseong-gu
Daejeon 34016, KR y
KIM, MIN-YOUNG (50.0%)**

72 Inventor/es:

**KIM, MIN-YOUNG;
LEE, HEE-SUK;
KIM, JOON-SIK y
HAHM, JONG-CHEON**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 581 336 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 antiobesidad

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a una composición antiobesidad, que comprende extracto de *Melissa officinalis*, *Morus alba* y *Artemisia capillaris* como principios activos, para usar en el tratamiento de la obesidad.

Técnica anterior

La obesidad se considera la peor plaga del mundo de la historia, y la Organización Mundial de la Salud la ha declarado como una enfermedad en 1997. El aumento del sobrepeso y de la obesidad ha sido una constante desde los años sesenta, y dicha tendencia casi nunca decae.

10 En los EE. UU., la cantidad de personas con sobrepeso u obesidad aumenta de manera permanente. En la actualidad, se considera que el 65 % y el 30 % de los adultos a partir de los 20 años de edad padecen de sobrepeso y obesidad, respectivamente. Aun en los países en vías de desarrollo, los índices de obesidad en las regiones económicamente desarrolladas no son inferiores a los reinantes en los países avanzados. En la actualidad, la cantidad de individuos obesos en los EE. UU. y Japón alcanza unos 300 millones, aproximadamente. Cada año, más de 0,3 millones de personas muere como consecuencia de la obesidad, y los gastos relacionados con esta enfermedad llegan unos \$100 billones.

20 En todo el mundo, la población obesa emerge con los cambios ambientales, potenciados por el desarrollo económico, la modernización y la urbanización. Y el índice de sobrepeso es mayor en la población masculina que en la femenina, en tanto que el índice de la obesidad, por lo general, es menor en los hombres que en las mujeres. El índice de la obesidad en los niños y jóvenes es elevado, tanto en los países desarrollados como en los avanzados.

Las terapias actualmente utilizadas para la obesidad incluyen terapia dietaria, actividad física, terapia conductual, terapia farmacológica, combinación de terapia y cirugía (gastrectomía), etc.

La mayoría de los alimentos más utilizados para controlar la obesidad consiste en fibras dietarias, y también se comercializan en el mercado ciertas comidas cuyo efecto no ha sido médicamente demostrado.

25 Como fármacos antiobesidad aprobados por la FDA [*Food and Drug Administration*, Administración de Alimentos y Fármacos], hoy en día se encuentran disponibles los siguientes: Orlistat (nombre comercial: Xenical), fentermina (nombre comercial: Fastin, Zantryl etc.) y Sibutramina (nombre comercial: Reductil, Meridia, etc.).

30 La eficacia del Orlistat (Xenical), que fue el último fármaco en ser aprobado, reside en evitar la absorción del 30 % aproximadamente de las grasas provenientes de los alimentos; por tanto, logra una reducción en el peso corporal. Por otro lado, la eficacia de la fentermina y sibutramina reside en quitar el apetito.

35 El Orlistat (Xenical) se combina con la lipasa en el aparato digestivo, lo cual reduce la lipólisis en el intestino delgado y, de este modo, evita la absorción de la grasa. No obstante ello, la grasa no degradada que permanece en el intestino da lugar a varios efectos colaterales, tales como malestar o dolor abdominal, molestias o dolor en el recto, heces grasas o aceitosas, vómitos, depresión, dolor de piernas, pies edematosos, etc. Estos efectos colaterales pueden ser más graves si se ingieren más grasas.

La fentermina cambia el valor de la serotonina en el cerebro, para quitar el apetito. Pero por otro lado, puede elevar la presión arterial y la frecuencia cardíaca y estimular el sistema nervioso central, que son los mismos efectos colaterales de las anfetaminas.

40 La sibutramina puede eliminar la reabsorción de norepinefrina, serotonina y dopamina, que son neurotransmisores, por lo que se induce la eliminación del apetito en el cerebro. Sin embargo, puede causar muchos efectos colaterales, entre los que se incluyen: dolor abdominal, ansiedad, estreñimiento, depresión, cefalea, insomnio, dolor articular, náuseas, nerviosismo, dolor estomacal, etc. Por otro lado, un informe reciente que vincula a la sibutramina (Reductil) con la muerte cardíaca puso sobre el tapete la cuestión de la seguridad como un factor crítico.

45 En consecuencia, un tratamiento ideal para combatir la obesidad debería poder reducir la grasa corporal solo selectivamente, sin afectar los músculos y los huesos, lograr que se mantenga el peso corporal después de un exitoso adelgazamiento y, en primer lugar, no tendría que presentar efectos colaterales por la administración a largo plazo.

50 Para desarrollar fármacos antiobesidad que puedan solucionar los problemas antes explicados y reducir la grasa corporal y el peso corporal simultáneamente, los inventores de la presente invención estudiaron los efectos antiobesidad de los medicamentos de hierbas que se han utilizado durante mucho tiempo.

Con respecto a los efectos antiobesidad de los medicamentos de hierbas, el documento de patente con el número KR 10-2004-0065427 A1 describe productos biosanitarios anti-obesidad que contienen un oligosacárido de *Artemisia*

ipayomogi, AIP1 (fracción 1 del polisacárido de *Artemisia iwayomogi*), para mejorar el metabolismo fisiológico endócrino de la obesidad, y el documento de patente con el número KR 10-2005-83066 AI describe un alimento para combatir la obesidad que comprende extracto de *Eucommia-ulmoides* Oliver o extracto de *Morus/alba* Linne.

5 Como resultado de arduos estudios, una composición que comprende extracto de *Melissa officinalis*, extracto de *Artemisia capillaris* y extracto de *Morus alba* denota efectos destacables sobre la reducción del peso corporal y de la grasa corporal, y con posterioridad, se llevó a cabo esta invención.

Descripción de la invención

Problema técnico

10 Un objeto de la presente invención reside en proporcionar una composición antiobesidad que comprende extracto de *Melissa officinalis*, extracto de *Artemisia capillaris* y extracto de *Morus alba* como principios activos, para eliminar la obesidad usando la composición.

Solución técnica

15 La presente invención provee una composición que comprende extractos de *Melissa officinalis*, *Morus alba* y *Artemisia capillaris* como principios activos, para usar en el tratamiento de la obesidad, y el extracto de *Morus alba* se extrae de la hoja de *Morus alba*.

Por otra parte, la presente invención provee una composición antiobesidad que comprende extracto de *Melissa*, extracto de *Artemisia* y extracto de *Mori Folium* como principios activos.

20 En una realización de la presente invención, dicha composición antiobesidad puede comprender: extracto de *Melissa officinalis*, en una cantidad de 0,1-99 partes en peso; extracto de *Artemisia*, en una cantidad de 0,1-99 partes en peso, y extracto de *Morus alba*, en una cantidad de 0,1-99 partes en peso, con respecto a 100 partes en peso de la composición.

En otra realización de la presente invención, dicha composición para combatir la obesidad puede comprender extracto de *Melissa officinalis*, extracto de *Artemisia capillaris*, extracto de *Morus alba*, en una relación de 1-3: 0,1-1: 1-3 en peso seco.

25 Se considera que el término 'composición', según se ha utilizado en la presente hasta el momento o en lo sucesivo, incluye cualquier producto formado por una mezcla de ingredientes específicos, directa o indirectamente, así como también, un producto que contiene los ingredientes específicos.

30 La '*Melissa*' es una hierba perenne, de la familia *Labiatae*, también denominada limonera, toronjil o toronjina como nombres comunes o populares. El extracto de *Melissa* comprende flavonoide, ácido de terpeno, aceite volátil, glucósidos de alcohol y compuesto fenólico, etc., derivados de ácidos cafeicos y similares. El ácido rosmarínico es uno de los ingredientes no volátiles como principal flavonoide de la *Melissa*. Se ha sabido que el ácido rosmarínico tiene marcadas propiedades antiinflamatorias y antipiréticas, y el aceite esencial de la *Melissa* presenta abundantes propiedades medicinales, particularmente para la depresión, la cefalgia nerviosa, la declinación de la memoria, la neuralgia, la pirexia y similares. Por otro lado, se supo que el aceite esencial de la *Melissa* puede aplicarse para sedación y conseguir efectos antibacterianos, antivirales, antioxidación y antihormonales. En la actualidad, el extracto seco de la *Melissa* se emplea como un ingrediente de un promotor para la circulación sanguínea.

40 La '*Artemisia*' es una hierba perenne de la familia de las *Compositae*. Tiene efectos de antipirético, antiinflamatorio, analgésico, antidepresivo, y se ha usado para la ictericia, las perturbaciones en la micción, los abscesos y la sarna, y la ginecopatía. La *Artemisia* comprende varios ingredientes que incluyen escoparona, capilina, capilona, capileno, capilarina, etc. Particularmente, se ha sabido que la escoparona puede causar un aumento en la secreción de la bilis y facilitar la excreción de la bilirrubina, mejorar la función hepática y se puede usar con fines de desintoxicación del alcohol, antioxidación, para lograr efectos antibacterianos y antitumorales.

45 '*Mori Folium*' es la hoja de la especie *Morus* y es eficaz en la prevención de la apoplejía cerebral, como antipirético, para mejorar la agudeza visual, además de poder usarse en el tratamiento de la fiebre, la cefalea, la irritación de los ojos, la polidipsia. El *Mori Folium* comprende flavonoides, que incluyen rutina, quercetina, isoquercetina y moracetina; hormonas de la metamorfosis de los insectos, incluso inocosterona, ecdisterona, etc. Se supo que el extracto de *Mori Folium* puede usarse por su eficacia hipoglucémica (KR 10-1998-0021670 AI).

Para la presente invención, la expresión '*Mori Folium*' es la hoja de *Morus alba* L.

50 Las composiciones de la presente invención pueden comprender otros ingredientes antiobesidad, así como también, uno o más de los extractos de hierbas antes citados.

También, las composiciones de la presente pueden comprender, además, al menos, uno de los materiales o ingredientes de las composiciones para el cuidado de la salud siguiendo los preceptos y normas generales, entre las

que se incluyen fibra dietaria, té verde, ginseng y similares u otros aditivos alimenticios aprobados, tales como vitaminas, minerales, etc. en la cantidad apropiada.

5 Dicha fibra dietaria puede ser al menos una de las siguientes: cascarilla de *Psyllium*, celulosa, hemicelulosa, celulosa cristalina, lignina, pectina, ácido algínico, ácido polimánurónico, goma de guar, goma arábica, arabinogalactano, Konjak mannan, inulina, levan, polidextrosa y maltodextrina no digerible.

Dicho té verde puede ser té verde en polvo, líquido de extracción del té verde o polvo del líquido de extracción del té verde.

Además, dicho ginseng puede ser ginseng en polvo, líquido de extracción de ginseng o polvo del líquido de extracción del ginseng.

10 También, la presente composición puede comprender, asimismo, al menos una vitamina, tales como: vitamina A, vitamina B₁, vitamina B₂, vitamina B₃, vitamina B₆, vitamina B₁₂, ácido fólico, vitamina C, vitamina D₃, vitamina E; minerales, tales como cobre, calcio, hierro, magnesio, potasio, zinc, etc. u otros aditivos alimentarios aprobados, en la cantidad apropiada.

15 El contenido de ingredientes distintos de los principios activos no tiene limitaciones en particular, sin embargo, por lo general, varía en un intervalo de 0 a 98 partes en peso, con respecto a 100 partes en peso de la composición.

Al preparar las presentes composiciones, los extractos de hierbas se pueden comprar o preparar con métodos convencionales.

Es posible usar cualquier hierba deshidratada, no deshidratada o mezclas de hierbas deshidratada y no deshidratadas para el proceso de extracción.

20 Un experto en la técnica puede usar el extracto de las hierbas antes citadas como líquido de extracción o polvo de líquido de extracción. Para la extracción, las hierbas pueden deshidratarse, deshidratarse y cortarse en rebanadas o deshidratarse y triturarse, de acuerdo con el método de disecado tradicional, y luego se pueden extraer con el método de extracción convencional, por ejemplo, extracción con agua caliente o extracción con disolventes orgánicos. También es posible usar el polvo de líquido de extracción disponible comercialmente en el mercado.

25 Por ejemplo, los extractos de hierbas se pueden preparar cortando las hierbas en finas rebanadas, extrayendo 1-5 veces de manera reiterada las hierbas cortadas, con agua, alcohol inferior o una combinación de disolventes del mismo, o un disolvente orgánico en una cantidad de 3-20 veces las hierbas a una temperatura que varía entre la temperatura ambiental y los 100 °C, durante 6 horas a 10 días aproximadamente, luego filtrando y concentrando al vacío o liofilizando el líquido de extracción. La extracción puede procesarse mediante métodos de extracción convencionales, tales como extracción por maceración con agua fría, extracción por sonicación o extracción por reflujo.

30 Dicho alcohol inferior puede incluir alcohol C₁₋₄, y el citado disolvente orgánico puede incluir disolventes tales como acetato de etilo, cloroformo, hexano y diclorometano. Para obtener el resultado de extracción apropiado, se prefiere usar los disolventes en una cantidad superior al triple de la hierba. Pero si la cantidad de disolventes es mayor que 20 veces la cantidad de la hierba, es probable que haya un consumo excesivo de los disolventes, en comparación con la cantidad de extracción [SIC].

La composición de la presente invención se puede usar en cualquier forma de acuerdo con el propósito de la composición, por ejemplo, una composición farmacéutica o una composición nutracéutica para reducir el peso corporal y la grasa corporal.

40 La composición farmacéutica de la presente invención puede adquirir cualquier forma, por ejemplo: gránulo, polvo, comprimido, comprimido recubierto, cápsula, píldora, jarabe, gota, solución, suspensión y emulsión o formulación de liberación sostenida del o de los principios activos.

45 La composición de la presente invención puede comprender, asimismo, uno o más portadores farmacéutica o fisiológicamente aceptables a ser formulados de manera apropiada para la administración. Los portadores farmacéutica o fisiológicamente aceptables pueden ser, por ejemplo: solución salina, agua autoclavada, solución de Ringer, solución salina tamponada, dextrosa, maltodextrina, glicerol, etanol y sus mezclas. De ser necesario, la composición de la presente invención puede comprender aditivos convencionales, tales como sustancias antioxidantes, tamponadoras y antisépticas. La composición de la presente invención también puede comprender aditivos farmacéutica y fisiológicamente aceptables, tales como diluyentes, agentes dispersantes, tensioactivos, disolventes, agentes desintegrantes, edulcorantes, aglutinantes, agentes de recubrimiento, agentes expansores, lubricantes, agentes deslizantes o saborizantes. Mediante el uso de métodos convencionales o del texto escrito del Remington's Pharmaceutical Science (Mack Publishing Company, Easton PA), las composiciones de la presente invención pueden formularse en cualquier forma deseable, de acuerdo con la enfermedad o el ingrediente.

La composición de la presente invención se puede administrar por diversas vías, entre las que se incluyen las vías oral, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intratorácica, transdérmica, nasal, de inhalación, tópica, rectal, ocular e introducción subcutánea, de acuerdo con el método convencional de administración.

5 La composición nutracéutica de la presente invención puede adoptar cualquier forma de alimento. Por ejemplo, se puede secar con portadores y luego producir como una cápsula, o procesar como un comprimido, gránulo, polvo, bebida, gachas, etc., de acuerdo con los métodos convencionales en la técnica.

Los ejemplos de alimentos que comprenden la presente composición incluyen: carne, té, bebidas, colaciones, configuras, fideos, caramelos, chocolate, helado, goma, combinación de vitaminas, comidas funcionales, etc.

10 Las presentes composiciones se pueden usar para eliminar el aumento de peso corporal y de grasa corporal para combatir la obesidad.

Aunque no forma parte de la presente invención, también se contempla un método para eliminar la obesidad, que comprende administrar una cantidad efectiva de una composición antiobesidad que comprende extracto de *Melissa*, extracto de *Artemisia* y extracto de *Mori Folium*. En este método, las explicaciones para las composiciones antiobesidad son las mismas que las suministradas con anterioridad.

15 Cuando las presentes composiciones se administran en ratones genéticamente obesos y en ratones con obesidad inducida por la ingesta de alimentos ricos en grasas, durante 5 semanas, puede observarse que también se reducen la grasa corporal y la grasa gonadal de los ratones. Además, las composiciones que además comprenden ingredientes suplementarios, tales como fibra dietaria, té verde, ginseng, etc., muestran efectos sinérgicos en una acción antiobesidad, tales como reducción del peso corporal y reducción de la grasa corporal y de la grasa gonadal.

20 También, cuando las presentes composiciones se administran en ratones genéticamente obesos y en ratones con obesidad inducida por la ingesta de alimentos ricos en grasas, disminuyen el nivel de colesterol en sangre y nivel de glucosa en sangre relacionado con la obesidad.

25 Asimismo, al administrar las presentes composiciones, no hay signos de que los adipocitos se tornen hipertróficos; en cambio, el tamaño y las dimensiones de las células grasas se reducen, y los números y el tamaño de las vacuolas lipídicas en el hígado disminuyen, por lo que se reduce la acumulación de lípidos en el hígado.

Por otro lado, en un ensayo clínico realizado en seres humanos, el peso corporal, el porcentaje de grasa corporal, la grasa visceral, la concentración de apolipoproteína B, la relación de colesterol total/colecsterol HDL y la relación de colesterol LDL/colecsterol HDL se reducen sensiblemente, y el índice aterogénico mejora, además de incrementarse la masa muscular.

30 The principios activos de la presente invención, el extracto de *Melissa officinalis*, el extracto de *Artemisia capillaris* y el extracto de *Morus alba* en sí mismos, tienen poca toxicidad y efectos colaterales; de esta manera, la presente composición puede administrarse de manera segura durante un periodo prolongado.

35 Al decidir la dosificación de la presente composición, la dosificación diaria de los extractos de *Melissa officinalis*, *Artemisia capillaris* y *Morus alba* se ubicaría, convenientemente, entre 0,1 y 200 mg/kg, entre 0 y 200 mg/kg y entre 0 y 200 mg/kg, respectivamente. La dosificación puede determinarse por diversos factores, tales como la clase y la gravedad del síntoma del paciente, el contenido del principio activo, el contenido y la clase de los otros ingredientes, el tipo de formulación, los parámetros del paciente (la edad, el peso corporal, el estado de salud, el sexo), la comida, el tiempo de dosificación, la vía de administración, la relación de la composición, el tiempo de tratamiento y otros fármacos administrados de manera concomitante.

40 De este modo, la presente invención provee un uso novedoso de una mezcla de extracto de *Melissa officinalis*, extracto de *Artemisia* y extracto de *Morus alba* para la fabricación de una composición antiobesidad. En estos usos, la descripción para la composición antiobesidad es la misma que la indicada anteriormente.

45 Las ventajas y características de la presente invención y el método de revelarlos resultarán explícitos a partir de los siguientes ejemplos descritos de manera detallada. Sin embargo, debe entenderse distintivamente que la presente invención no se limita a ellos sino que se la puede representar y llevar a la práctica de otras maneras variadas. Es obvio que los siguientes ejemplos son para completar la descripción de la invención y para indicar el alcance de la presente invención a un experto especializado en de manera completa, y la presente invención se definirá solo por el alcance de las reivindicaciones.

50 Los siguientes ejemplos sirven para brindar una apreciación más pormenorizada de la invención, aunque no pretenden de ningún modo restringir el alcance efectivo de la invención.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un gráfico que muestra la reducción del peso corporal en ratones genéticamente obesos, con el paso del tiempo, después de la administración de la composición de la presente invención.

La figura 2 es un gráfico que muestra la reducción del peso corporal en ratones con obesidad inducida por la ingesta de alimentos ricos en grasas, con el paso del tiempo, después de la administración de la composición de la presente invención.

5 La figura 3 es un gráfico que muestra el efecto de la composición de la presente invención sobre el nivel de glucosa en sangre relacionado con la obesidad.

La figura 4 es una imagen que muestra el efecto de la composición de la presente invención sobre los adipocitos subcutáneos.

La figura 5 es una imagen que muestra el efecto de la composición de la presente invención sobre la acumulación de lípidos en el hígado de ratón genéticamente obeso.

10 La figura 6 es un gráfico que muestra los cambios en el peso corporal, la grasa corporal y en la masa corporal magra en los sujetos humanos del ensayo clínico, antes y después de la administración de la composición de la presente invención.

La figura 7 es un gráfico que muestra los cambios en la grasa visceral y en la grasa subcutánea en los sujetos humanos del ensayo clínico, antes y después de la administración de la composición de la presente invención.

15 **Modo para la invención**

Ejemplo 1. (Comparativo) Preparación de la formulación 1

Se produjo una cápsula que comprendía un principio activo, de la siguiente manera.

Se prepararon 25 g de extracto de *Melissa officinalis* en una formulación para una cápsula (en adelante, denominada la 'muestra 1'), de acuerdo con el método convencional de encapsulamiento.

20 Los constituyentes de la cápsula eran los siguientes.

Extracto de *Melissa officinalis officinalis*: 25 g.

Excipientes: cantidad suficiente.

Ejemplo 2. (Comparativo) Preparación de la formulación 2

Se produjo una cápsula que comprendía principios activos, de la siguiente manera.

25 Se mezclaron 10 g de extracto de *Melissa officinalis* y 10 g de extracto de hoja de *Morus alba L.*, y la mezcla se preparó como una formulación para una cápsula (en adelante denominada 'muestra 2'), de acuerdo con el método convencional de encapsulamiento.

Los constituyentes de la cápsula eran los siguientes.

Extracto de *Melissa officinalis*: 10 g.

30 Extracto de hoja de *Morus alba L.*: 10 g.

Excipientes: cantidad suficiente.

Ejemplo 3. Preparación de la formulación 3

Se produjo una cápsula que comprendía principios activos, de la siguiente manera.

35 Se mezclaron 10 g de extracto de *Melissa officinalis*, 5 g de extracto de *Artemisia capillaris* y 10 g de extracto de hoja de *Morus alba L.*, y con la mezcla se preparó una formulación para una cápsula (en adelante denominada 'muestra 3'), de acuerdo con el método convencional de encapsulamiento.

Los constituyentes de la cápsula eran los siguientes.

Extracto de *Melissa officinalis*: 10 g.

Extracto de *Artemisia capillaris*: 5 g.

40 Extracto de hoja de *Morus alba L.*: 10 g.

Excipientes: cantidad suficiente.

Ejemplo 4. Preparación de la formulación 4

Se produjo una formulación líquida que comprendía principios activos, de la siguiente manera.

Se disolvieron 0,1 g de extracto de *Melissa officinalis*, 0,05 g de extracto de *Artemisia capillaris* y 0,1 g de extracto de hoja de *Morus alba* L., en agua destilada, para obtener 1000 □ [SIC] de la formulación (en adelante denominada 'muestra 4').

Extracto de *Melissa officinalis*: 10 g.

Extracto de *Artemisia capillaris*: 5 g.

Extracto de hoja de *Morus alba* L.: 10 g.

Agua destilada: cantidad suficiente.

10 Ejemplo 5. Preparación de la formulación 5

Se produjo una formulación que comprendía principios activos y fibra dietaria de la siguiente manera.

Se mezclaron 6 g de extracto de *Melissa officinalis*, 4 g de extracto de *Artemisia capillaris*, 6 g de extracto de hoja de *Morus alba* L. y 84 g de fibra dietaria (Konjak mannan, maltodextrina no digerible) para obtener la formulación (en adelante denominada 'muestra 5').

15 Extracto de *Melissa officinalis*: 6 g.

Extracto de *Artemisia capillaris*: 4 g.

Extracto de hoja de *Morus alba* L.: 6 g.

Konjak mannan: 12 g.

Maltodextrina no digerible: 72 g.

20 Ejemplo 6. Preparación de la formulación 6

Se produjo una formulación que comprendía principios activos y extracto de té verde de la siguiente manera.

Se mezclaron 6 g de extracto de *Melissa officinalis*, 4 g de extracto de *Artemisia capillaris*, 6 g de extracto de hoja de *Morus alba* L. y 84 g de extracto de té verde (incluso 20 % de catequina), para obtener la formulación (en adelante denominada 'muestra 6').

25 Extracto de *Melissa officinalis*: 6 g.

Extracto de *Artemisia capillaris*: 4 g.

Extracto de hoja de *Morus alba* L.: 6 g.

Extracto de té verde: 84 g.

Ejemplo 7. Preparación de la formulación 7

30 Se produjo una formulación que comprendía principios activos y extracto de ginseng de la siguiente manera.

Se mezclaron 6 g de extracto de *Melissa officinalis*, 4 g de extracto de *Artemisia capillaris*, 6 g de extracto de hoja de *Morus alba* L. y 4 g de extracto de ginseng en polvo (contenido de ginseng: 110 mg/g), para obtener la formulación (en adelante denominada 'muestra 7').

Extracto de *Melissa officinalis*: 6 g.

35 Extracto de *Artemisia capillaris*: 4 g.

Extracto de hoja de *Morus alba* L.: 6 g.

Extracto de ginseng en polvo: 4 g.

Ejemplo comparativo. Preparación de la formulación que comprende el extracto de *Artemisia* y el extracto de *Mori Folium*.

40 Se produjo una cápsula que comprendía principios activos de la siguiente manera.

Se mezclaron 5 g de extracto de *Artemisia capillaris* y 10 g de extracto de hoja de *Morus alba* L. para obtener la formulación (en adelante denominada 'muestra comparativa').

Los constituyentes de la cápsula eran los siguientes.

Extracto de *Artemisia capillaris*: 5 g.

5 Extracto de hoja de *Morus alba* L.: 10 g.

Ejemplo experimental 1. Efecto antiobesidad in ratones genéticamente obesos (ratones ob/ob)

Se observaron los efectos antiobesidad de la formulación anterior por administración oral a los ratones genéticamente obesos.

10 Se usaron unos ratones obesos macho de cinco semanas de edad (B6.V-Lep^{ob/ob}, Jackson Laboratory) para el experimento y después de unos pocos días del período de ajuste, al grupo de control se le administró una solución salina mientras que a los grupos de tratamiento se les administró cada una de las muestras 1 a 7, disueltas en solución salina.

15 Para la formulación comparativa, se disolvieron 25 mg de la muestra comparativa en 10 ml de solución salina, y 0,4 □ [SIC] de la solución se administraron por vía oral a cada ratón, todos los días, durante 5 semanas, formulación que se había diseñado para que contuviera una cantidad de 50 mg/kg del principio activo.

Para la formulación 1,2 y 3, se disolvieron 25 mg de cada muestra en 10 □ [SIC] de solución salina y se administraron por vía oral a los ratones, a razón de 0,4 □ [SIC] por día durante 5 semanas, formulación que se había diseñado para que contuviera una cantidad de 50 mg/kg del principio activo.

20 Para la formulación 4, se disolvieron 40 mg de la muestra 4 en 160 □ [SIC] de solución salina y se proveyó a los ratones como agua para beber durante 5 semanas, formulación que se había diseñado para que contuviera una cantidad de 40 mg/kg de los principios activos.

Para la formulación 5, se suspendieron 1,56 g de la muestra 5 en 100 □ [SIC] de solución salina y se administraron por vía oral a los ratones a razón de 0,4 □ [SIC] por día, durante 5 semanas, formulación que se había diseñado para que contuviera una cantidad de 50 mg/kg de los principios activos.

25 Para la formulación 6, se suspendieron 1,56 g de la muestra 6 con 100 □ [SIC] de solución salina y se administraron por vía oral a los ratones, a razón de 0,4 □ [SIC] por día durante 5 semanas, formulación que se había diseñado para que contuviera una cantidad de 50 mg/kg de los principios activos.

30 Para la formulación 7, se suspendieron 312,5 mg de la muestra 7 con 100 □ [SIC] de solución salina y se administraron por vía oral a los ratones, a razón de 0,4 □ [SIC] por día durante 5 semanas, formulación que se había diseñado para que contuviera una cantidad de 50 mg/kg de los principios activos.

Se midieron los pesos corporales a diario, desde el día de la administración de la muestra, y la ingesta de comida se determinó estimando la cantidad de alimento consumido por los ratones durante todo el periodo de tratamiento.

35 Después de 5 semanas, se tomaron unas muestras de sangre para medir la glucosa sanguínea, y los animales se sacrificaron por dislocación cervical. Se recolectaron los tejidos adiposos, se los pesó, se los sometió a congelamiento ultrarrápido en nitrógeno líquido y se los almacenó a -80 °C hasta su uso. Los resultados se describen en la siguiente tabla 1.

Tabla 1. Efecto antiobesidad en ratones genéticamente obesos (ratones ob/ob)

Muestra	Ítem	Grupo de control	Grupo de tratamiento	Índice de reducción
Muestra comparativa	Peso corporal (g)	47,0 ± 3,85	45,1 ± 4,22	4 %
	Aumento de peso corporal (g)	16,6 ± 2,24	14,4 ± 2,02	14 %
	Grasa subcutánea (g)	1,02 ± 0,15	0,95 ± 0,13	7 %
	Grasa gonadal (g)	3,24 ± 0,23	3,13 ± 0,31	4 %

Muestra	Ítem	Grupo de control	Grupo de tratamiento	Índice de reducción
Muestra 1	Peso corporal (g)	47,0 ± 3,85	44,2 ± 3,96	6 %
	Aumento de peso corporal (g)	16,6 ± 2,24	13,3 ± 2,28	20 %
	Grasa subcutánea (g)	1,02 ± 0,15	0,95 ± 0,11	7 %
	Grasa gonadal (g)	3,24 ± 0,23	3,09 ± 0,30	5 %
Muestra 2	Peso corporal (g)	47,0 ± 3,85	43,9 ± 4,21	7 %
	Aumento de peso corporal (g)	16,6 ± 2,24	13,1 ± 2,98	21 %
	Grasa subcutánea (g)	1,02 ± 0,15	0,92 ± 0,15	10 %
	Grasa gonadal (g)	3,24 ± 0,23	3,04 ± 0,28	6 %
Muestra 3	Peso corporal (g)	47,0 ± 3,85	43,1 ± 4,17	8 %
	Aumento de peso corporal (g)	16,6 ± 2,24	12,1 ± 3,01	27 %
	Grasa subcutánea (g)	1,02 ± 0,15	0,87 ± 0,12	15 %
	Grasa gonadal (g)	3,24 ± 0,23	3,01 ± 0,37	7 %
Muestra 4	Peso corporal (g)	47,0 ± 3,85	44,7 ± 4,20	5 %
	Aumento de peso corporal (g)	16,6 ± 2,24	12,5 ± 2,43	25 %
	Grasa subcutánea (g)	1,02 ± 0,15	0,93 ± 0,11	9 %
	Grasa gonadal (g)	3,24 ± 0,23	3,11 ± 0,42	4 %
Muestra 5	Peso corporal (g)	47,0 ± 3,85	42,8 ± 4,31	9 %
	Aumento de peso corporal (g)	16,6 ± 2,24	11,3 ± 2,01	32 %
	Grasa subcutánea (g)	1,02 ± 0,15	0,82 ± 0,12	20 %
	Grasa gonadal (g)	3,24 ± 0,23	2,92 ± 0,24	10 %
Muestra 6	Peso corporal (g)	47,0 ± 3,85	42,8 ± 4,44	9 %
	Aumento de peso corporal (g)	16,6 ± 2,24	11,8 ± 2,11	29 %
	Grasa subcutánea (g)	1,02 ± 0,15	0,83 ± 0,12	19 %
	Grasa gonadal (g)	3,24 ± 0,23	2,95 ± 0,30	9 %
Muestra 7	Peso corporal (g)	47,0 ± 3,85	42,7 ± 4,01	9 %
	Aumento de peso corporal (g)	16,6 ± 2,24	12,5 ± 1,11	25 %
	Grasa subcutánea (g)	1,02 ± 0,15	0,85 ± 0,22	17 %
	Grasa gonadal (g)	3,24 ± 0,23	2,98 ± 0,28	8 %

Tal como se muestra en la tabla 1, el grupo de tratamiento con la muestra 1 tuvo un 6 % de reducción en el peso corporal promedio y un 20 % de reducción en el aumento del peso corporal, en especial, un 7 % de reducción en la grasa subcutánea y un 5 % de reducción en la grasa gonadal, en comparación con los del grupo de control.

- 5 El grupo de tratamiento con la muestra 2 tuvo un 7 % de reducción en el peso corporal promedio y un 21 % de reducción en el aumento del peso corporal, en especial, un 10 % de reducción en la grasa subcutánea y un 6 % de reducción en la grasa gonadal, en comparación con los del grupo de control.

El grupo de tratamiento con la muestra 3 tuvo un 8 % de reducción en el peso corporal promedio y un 27 % de reducción en el aumento del peso corporal, en especial, un 15 % de reducción en la grasa subcutánea y un 7 % de reducción en la grasa gonadal, en comparación con los del grupo de control.

5 Cuando se comparó la tasa de reducción de la grasa subcutánea para el grupo de tratamiento con la muestra comparativa, que comprendía extracto de *Artemisia capillaris* y extracto de *Morus alba*, había mejorado el efecto antiobesidad del grupo de tratamiento con las muestras 1 y 2, que comprendía el extracto de *Melissa*.

Por otro lado, se demostró que la composición que comprende extracto de *Melissa*, extracto de *Artemisia* y extracto de *Mori Folium* tiene un efecto antiobesidad sobresaliente, que reduce la grasa corporal considerablemente.

10 En particular, cuando la muestra 3, con sus contenidos de principios activos restantes, se combina con ingredientes alimenticios funcionales, tales como fibra dietaria, té verde, o ginseng, el efecto antiobesidad aumenta.

Con respecto a la reducción de la grasa corporal (grasa subcutánea y grasa gonadal), sobre la base de la muestra 3, hubo una reducción del 135 % con la muestra 5, que contenía fibra dietaria, del 124 % con la muestra 6, que contenía extracto de té verde y del 112 % en la muestra 7, que contenía extracto de ginseng en polvo, lo cual demostró el incremento en los efectos antiobesidad.

15 Además, la figura 1 describe el cambio en el peso corporal para la administración de la muestra 3 durante 35 días, donde el peso corporal se redujo en el grupo de tratamiento, en comparación con el grupo de control.

Por tanto, podría verificarse que las composiciones de la presente invención fueron eficaces para combatir la obesidad, al reducir el peso corporal y en especial, la grasa corporal.

20 Ejemplo experimental 2. Efecto antiobesidad en ratones con obesidad inducida por la ingesta de alimentos ricos en grasas

Los efectos antiobesidad de las presentes composiciones se observaron en ratones con obesidad inducida por la ingesta de alimentos ricos en grasas.

25 Se usaron unos ratones macho de seis semanas de edad (ratón C57BL/6J, Jackson Laboratory) para el experimento, y Oriental Yeast, de Japón, produjo una dieta de alto contenido de grasa (15 % [p/p] de grasa). Después de unos pocos días de periodo de ajuste, el grupo de control solamente recibió la dieta de alto contenido de grasa, en tanto que los grupos de tratamiento recibieron la dieta de alto contenido de grasa suplementada con las muestras 1-7, respectivamente, durante 16 semanas.

Los pesos corporales se midieron a diario, desde el día de la administración de la muestra, y se determinó la ingesta de alimentos estimando la cantidad de alimentos consumidos por los ratones durante todo el periodo de tratamiento.

30 Después de 16 semanas, se tomaron unas muestras, y los animales se sacrificaron por dislocación cervical; se recogieron los tejidos adiposos, se pesaron, se sometieron a congelamiento ultrarrápido en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C hasta su uso. Los resultados se describen en la tabla 2.

35 Tabla 2. Efecto antiobesidad en ratones con obesidad inducida por la ingesta de alimentos ricos en grasas (ratones C57BL/6J)

Muestra	Ítem	Grupo de control	Grupo de tratamiento	Índice de reducción
Muestra comparativa	Peso corporal (g)	32,2 ± 2,40	31,2 ± 2,27	3 %
	Aumento de peso corporal (g)	11,1 ± 2,65	10,1 ± 2,58	10 %
	Grasa subcutánea (g)	0,82 ± 0,20	0,70 ± 0,19	15 %
	Grasa gonadal (g)	0,41 ± 0,13	0,35 ± 0,12	16 %
Muestra 1	Peso corporal (g)	32,2 ± 2,40	30,9 ± 2,07	4 %
	Aumento de peso corporal (g)	11,1 ± 2,65	9,7 ± 2,14	13 %
	Grasa subcutánea (g)	0,82 ± 0,20	0,66 ± 0,24	20 %
	Grasa gonadal (g)	0,41 ± 0,13	0,35 ± 0,09	16 %

Muestra 2	Peso corporal (g)	32,2 ± 2,40	30,9 ± 1,95	4 %
	Aumento de peso corporal (g)	11,1 ± 2,65	9,7 ± 2,53	13 %
	Grasa subcutánea (g)	0,82 ± 0,20	0,64 ± 0,18	22 %
	Grasa gonadal (g)	0,41 ± 0,13	0,33 ± 0,07	20 %
Muestra 3	Peso corporal (g)	32,2 ± 2,40	30,4 ± 1,91	6 %
	Aumento de peso corporal (g)	11,1 ± 2,65	9,3 ± 2,89	16 %
	Grasa subcutánea (g)	0,82 ± 0,20	0,62 ± 0,12	24 %
	Grasa gonadal (g)	0,41 ± 0,13	0,30 ± 0,06	27 %
Muestra 4	Peso corporal (g)	32,2 ± 2,40	30,6 ± 0,28	5 %
	Aumento de peso corporal (g)	11,1 ± 2,65	9,7 ± 1,90	12 %
	Grasa subcutánea (g)	0,82 ± 0,20	0,66 ± 0,20	19 %
	Grasa gonadal (g)	0,41 ± 0,13	0,33 ± 0,11	20 %
Muestra 5	Peso corporal (g)	32,2 ± 2,40	29,9 ± 2,25	7 %
	Aumento de peso corporal (g)	11,1 ± 2,65	8,7 ± 1,98	21 %
	Grasa subcutánea (g)	0,82 ± 0,20	0,56 ± 0,21	32 %
	Grasa gonadal (g)	0,41 ± 0,13	0,26 ± 0,08	37 %
Muestra 6	Peso corporal (g)	32,2 ± 2,40	29,7 ± 2,68	7 %
	Aumento de peso corporal (g)	11,1 ± 2,65	9,0 ± 1,57	19 %
	Grasa subcutánea (g)	0,82 ± 0,20	0,58 ± 0,19	29 %
	Grasa gonadal (g)	0,41 ± 0,13	0,27 ± 0,11	34 %
Muestra 7	Peso corporal (g)	32,2 ± 2,40	30,2 ± 3,21	6 %
	Aumento de peso corporal (g)	11,1 ± 2,65	9,2 ± 2,43	17 %
	Grasa subcutánea (g)	0,82 ± 0,20	0,6 ± 0,12	27 %
	Grasa gonadal (g)	0,41 ± 0,13	0,3 ± 0,11	27 %

El grupo de tratamiento con la muestra 1 tuvo un 4 % de reducción en el peso corporal promedio y un 13 % de reducción en el aumento del peso corporal, y particularmente, un 20 % de reducción en la grasa subcutánea y un 16 % en la grasa gonadal, en comparación con el grupo de control.

- 5 El grupo de tratamiento con la muestra 2 tuvo un 4 % de reducción en el peso corporal promedio y un 13 % de reducción en el aumento del peso corporal y, particularmente, un 22 % de reducción en la grasa subcutánea y un 20 % en la grasa gonadal, en comparación con el grupo de control.

- 10 El grupo de tratamiento con la muestra 3 tuvo un 6 % de reducción en el peso corporal promedio y un 16 % de reducción en el aumento del peso corporal, y particularmente, un 24 % de reducción en la grasa subcutánea y un 27 % en la grasa gonadal, en comparación con el grupo de control.

Estos resultados demostraron que las composiciones de la presente invención que contenían extracto de *Melissa* claramente redujeron la grasa corporal, potenciando el efecto antiobesidad, en comparación con el de la muestra comparativa.

- 15 Con respecto a la reducción de grasa corporal (grasa subcutánea y grasa gonadal), sobre la base de la muestra 3, se logró un 132 % de reducción con la muestra 5, que contiene fibra dietaria, un 123 % con la muestra 6, que contiene extracto de té verde, y un 107 % con la muestra 7 que contiene extracto de ginseng en polvo, lo cual demostró los mayores efectos antiobesidad, tal como se muestra en el ejemplo experimental 1.

Por otra parte, la figura 2, que muestra los cambios en el peso corporal durante la administración de la muestra 3 durante 16 semanas, demuestran que la tasa de incremento en el peso corporal del grupo de tratamiento es menor que la del grupo de control.

5 En consecuencia, podría verificarse que las composiciones de la presente invención fueron eficaces para combatir la obesidad, al reducir el peso corporal y, en especial, grasa corporal.

Ejemplo experimental 3. Análisis de sangre e histológico

Con la administración oral de las presentes composiciones, se analizaron los cambios en la sangre y en el tejido de los ratones genéticamente obesos.

10 En primer lugar, la muestra 3 se había administrado a los ratones genéticamente obesos (ob/ob), durante 5 semanas, y se les extrajo sangre para medir los cambios en el nivel de colesterol en sangre.

Para el análisis histológico, se criodisecaron las grasas subcutáneas y se tiñeron con tetróxido de osmio para medir el tamaño y el número de adipocitos. Los hígados se fijaron en glutaraldehído del 4 % y se procesaron de una manera rutinaria, para la sección con parafina. Las secciones se cortaron y tiñeron con tetróxido de osmio al 2 %.

3-1) Análisis del colesterol en sangre

15 El nivel de colesterol en sangre del grupo de tratamiento que había recibido la muestra 3 fue de $128 \pm 15,2$ mg/dl, en tanto que el del grupo de control que recibió una solución salina solamente (el vehículo) fue de $140 \pm 17,6$ mg/dl. En consecuencia, se halló que la presente composición redujo el nivel del colesterol en un 9 %.

3-2) Análisis de la glucosa sanguínea

20 Tal como se muestra en la figura 3, el nivel de glucosa sanguínea del grupo de tratamiento que había recibido la muestra 3 fue de $244,4 \pm 115,2$ mg/dl, en tanto que el del grupo de control fue de $362,1 \pm 129,7$ mg/dl, lo que demuestra que el nivel de glucosa sanguínea se redujo en un 33 % en el grupo de tratamiento.

Por tanto, se verificó que la presente composición redujo el nivel de colesterol en sangre y de glucosa sanguínea, lo cual guarda relación con la obesidad.

3-3) Análisis histológico de ratones obesos que recibieron la composición de la presente

25 Los tamaños de los adipocitos subcutáneos del grupo de control y del grupo de tratamiento se analizaron después de la tinción.

Tal como se muestra en la figura 4, los adipocitos de grupo de control se tornaron hipertróficos, en comparación con el grupo de tratamiento y los tamaños de los adipocitos se calcularon con un analizador de imágenes para averiguar qué tamaños se habían reducido considerablemente, de $11,2 \pm 2,9$ a $6,1 \pm 1,5$, en un 46 %.

30 Asimismo, el tamaño y el número de vacuolas negras de lípidos en el hígado teñidas con tetróxido de osmio se redujeron sensiblemente en el grupo de tratamiento, en comparación con el grupo de control, tal como se muestra en la figura 5. El área de las vacuolas lipídicas se redujeron sensiblemente de $5,4 \pm 0,5$ a $0,92 \pm 0,1$, en un 83 % (tabla 3), lo que verificó que la muestra 3 eliminó la acumulación de grasa en el hígado.

Tabla 3. Efecto de la muestra 3 sobre el tamaño de adipocitos y las vacuolas lipídicas

	Grupo de control	Grupo de tratamiento	Tasa de reducción
Adipocitos (área, a.u.)	$11,2 \pm 2,9$	$6,1 \pm 1,5$	46 %
Vacuolas lipídicas (% de área)	$5,4 \pm 0,5$	$0,92 \pm 0,1$	83 %

35 En consecuencia, se admitió que la presente composición tiene efectos antiobesidad para reducir el tamaño de los adipocitos, y la acumulación de lípidos en el hígado.

Por tanto, la presente composición puede aplicarse de manera útil como una composición antiobesidad para eliminar el aumento del peso corporal y el incremento de la grasa corporal.

40 Ejemplo experimental 4. Ensayo clínico sobre el efecto antiobesidad de la presente composición

Los efectos antiobesidad de la presente composición se verificaron mediante el ensayo clínico.

4-1. Convocatoria de sujetos humanos y método de ensayo

Se convocaron públicamente sujetos humanos de 19 a 60 años de edad, con un PIBW (*Percent Ideal Body Weight*, peso corporal porcentual ideal) superior al 110 % u obesidad abdominal, con una circunferencia de cintura superior a 90 cm para los hombres y a 80 cm para las mujeres.

5 Todos los voluntarios que tuvieran antecedentes de enfermedades graves, presión arterial media/alta no controlada, o enfermedad tiroidea, o que se encontraran actualmente en un curso de tratamiento por una enfermedad, o las mujeres que estuvieran embarazadas, con intenciones de quedar embarazadas o en el periodo de lactancia, o toda persona que hubiera recibido un diagnóstico de diabetes y tratamiento de terapia farmacológica, o que estuviera tomando un fármaco capaz de afectar su peso corporal (Xenical, Reductil, diuréticos, antidepresivos, represores del apetito, etc.), los empleados de AngioLab, Inc., los participantes de la investigación y los estudiantes, así como sus conocidos, fueron excluidos.

En este estudio piloto, solo se incluyó el grupo de ensayo para evaluar el efecto antes y después de la intervención, sin el grupo de placebo. Un total de 25 sujetos participaron en el ensayo durante 12 semanas, y el resultado se procesó con análisis estadístico (tabla 4).

15 Cada sujeto había tomado dos cápsulas que contenían 250 mg de la muestra 3, tres veces por día, durante 12 semanas.

La relación hombres:mujeres de aquellos que completaron el ensayo de 12 semanas fue de 3:22; la edad promedio fue de $31,8 \pm 1,51$ (19-47), el PIBW promedio fue de $133,3 \pm 3,17$ %, el índice de masa corporal (IMC) promedio fue de $28,4 \pm 0,67$ kg/m² (23,5-34,7), y la grasa corporal promedio fue $39,4 \pm 1,46$ %. Además, los índices de fumadores y bebedores actuales fueron del 20 % y del 72 %, respectivamente.

20 4-2. Cambios en los Parámetros antropométricos y en la presión arterial

Tal como se muestra en la Tabla 4, cuando comenzó esta investigación, el peso corporal medio era $75,2 \pm 2,11$ kg y, después de 12 semanas, se redujo a $74,0 \pm 2,18$ kg ($p < 0,05$), lo cual presentó significancia estadística para la reducción tanto en el PIBW medio como en el IMC medio.

25 La grasa corporal se redujo de $39,4 \pm 1,46$ % a $37,2 \pm 1,38$ % ($p < 0,01$) después de 12 semanas, en tanto que la masa corporal magra aumentó de $45,3 \pm 1,40$ kg a $46,2 \pm 1,40$ kg ($p < 0,05$), lo cual demuestra la considerable mejoría de la composición corporal (tabla 6).

La circunferencia de cintura media se redujo en cierta medida después de 12 semanas, y la circunferencia de cadera se redujo sensiblemente ($p < 0,01$). Además, la presión arterial diastólica media aumento dentro del intervalo normal después de 12 semanas ($p < 0,01$).

30 Tabla 4. Cambios de los parámetros antropométricos y de la presión arterial antes y después de la administración de la presente composición

	Sujeto (n = 25)	
	Semana 0	Semana 12
Hombre/mujer	3/22	
Edad (año)	31,8 ± 1,51	
Estatura (cm)	162,8 ± 1,31	
Peso corporal (kg)	75,2 ± 2,11	74,0 ± 2,18*
PIBW (%)	133,3 ± 3,17	131,2 ± 3,40*
IMC (kg/m ²)	28,4 ± 0,67	27,9 ± 0,72*
Grasa corporal (%)	39,4 ± 1,46	37,2 ± 1,38**
Masa corporal magra (kg)	45,3 ± 1,40	46,2 ± 1,40*
Circunferencia de cintura (cm)	91,4 ± 1,73	90,0 ± 1,78
Circunferencia de cadera (cm)	104,9 ± 1,44	103,6 ± 1,47**
Relación cintura/cadera	0,87 ± 0,01	0,86 ± 0,01
Espesor del pliegue del tríceps (mm)	26,1 ± 1,32	26,2 ± 0,91

	Sujeto (n = 25)	
	Semana 0	Semana 12
Presión arterial sistólica (mmHg)	125,3 ± 3,38	124,2 ± 2,64
Presión arterial diastólica (mmHg)	77,5 ± 2,09	82,2 ± 2,46**
Fumador actual (n (%))	5 (20)	
Tabaco (cigarrillos/día)	7,70 ± 3,03	
Bebedor actual (n (%))	18 (72)	
Ingesta de alcohol (g/día)	8,82 ± 2,72	
Media ± desvío estándar. *p<0,05. ** p<0.01, en comparación con el valor de la semana 0		

4-3. Cambios en las áreas de la grasa y de los músculos, analizados por un tomógrafo.

Los cambios en las áreas de la grasa y de los músculos en cuatro niveles diferentes del cuerpo antes y después de la administración de la presente composición se analizaron por tomografía computarizada (TC).

- 5 Tal como se muestra en la tabla 5, la grasa en la parte superior del abdomen, explorada por TC en la primera vértebra lumbar no demostró ningún cambio importante, pero la grasa en la parte inferior del abdomen explorada por TC en la cuarta vértebra lumbar se redujo. El área de la grasa visceral disminuyó sensiblemente, en un 9,5 % (p<0,01), y la relación de grasa visceral a grasa subcutánea se redujo de manera crítica (p<0,01) (Figura 7, tabla 5).

10 Tabla 5. Cambios en las áreas de la grasa y de los músculos en cuatro niveles diferentes del cuerpo

	Sujeto (n = 25)	
	Semana 0	Semana 12
1.ª vértebra lumbar (parte superior del abdomen)		
Grasa total (cm ²)	260,9 ± 13,1	256,6 ± 12,2
Grasa visceral (cm ²)	99,4 ± 6,54	98,7 ± 5,59
Grasa subcutánea (cm ²)	161,5 ± 9,66	157,9 ± 9,43
(Relación) grasa visceral/ grasa subcutánea	0,65 ± 0,05	0,67 ± 0,05
4.ª vértebra lumbar (parte inferior del abdomen)		
Grasa total (cm ²)	313,0 ± 11,7	301,6 ± 13,4
Grasa visceral (cm ²)	81,5 ± 4,40	73,8 ± 4,72**
Grasa subcutánea (cm ²)	231,5 ± 11,4	227,8 ± 11,5
(Relación) grasa visceral/ grasa subcutánea	0,38 ± 0,03	0,33 ± 0,02**
Parte media del muslo		
Grasa (cm ²)	87,7 ± 4,83	85,2 ± 4,64
Músculo (cm ²)	113,8 ± 3,36	115,5 ± 3,81

	Sujeto (n = 25)	
	Semana 0	Semana 12
Pantorrilla		
Grasa (cm ²)	29,8 ± 1,84	30,1 ± 2,00
Músculo (cm ²)	73,4 ± 2,84	72,9 ± 3,31
Media ± desvío estándar. ** p<0,01, en comparación con el valor de la semana 0		

4-4. Cambios en la concentración de lípidos séricos, lipoproteína, glucosa plasmática en ayunas e insulina

Tal como se muestra en la tabla 6, no hubo cambios en la concentración de triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL y colesterol HDL, aunque la apolipoproteína B se redujo considerablemente (p<0,05).

- 5 Sin embargo, hubo una considerable reducción en la relación de colesterol total/colesterol HDL (p<0,05) y en la relación de colesterol LDL/colesterol HDL (p<0,05) (Tabla 6), lo cual demuestra una mejoría significativa en el índice aterogénico (p<0,05).

Tabla 6. Cambios en las concentraciones séricas de los lípidos, apolipoproteína y nivel de glucosa en ayunas, antes y después de la administración de la presente composición.

	Sujeto (n = 25)	
	Semana 0	Semana 12
Triglicérido (mg/dl)	124,9 ± 11,0	119,2 ± 10,7
Colesterol total (mg/dl)	203,3 ± 6,97	197,1 ± 6,36
Colesterol LDL (mg/dl)	126,7 ± 6,29	119,7 ± 5,99
Colesterol HDL (mg/dl)	51,6 ± 2,21	53,6 ± 2,38
Índice aterogénico ¹	3,10 ± 0,21	2,82 ± 0,18*
Colesterol total/Colesterol HDL	4,10 ± 0,21	3,82 ± 0,18*
Colesterol LDL /Colesterol HDL	2,57 ± 0,16	2,33 ± 0,15*
Apolipoproteína A1 (mg/dl)	146,7 ± 4,24	142,1 ± 3,93
Apolipoproteína B (mg/dl)	81,6 ± 3,80	75,4 ± 3,23*
Azúcar en sangre (mg/dl)	91,6 ± 3,33	92,5 ± 3,96
Insulina (μIU/ml)	12,4 ± 1,10	11,7 ± 1,30
Ácido graso libre (μEq/l)	499,7 ± 27,8	431,6 ± 42,2
Índice aterogénico ¹ = (Colesterol total - Colesterol HDL) / Colesterol HDL		
Media ± desvío estándar. * p<0,05, en comparación con el valor de la semana 0		

10

4-5. Cambios en la concentración de suero, GOT, GPT, BUN y creatinina, hemoglobina y trombocito

Las concentraciones de GOT y GTP, que son índices de la función hepática, y las concentraciones de BUN y creatinina, que son índices de la función renal, estuvieron dentro del intervalo normal y no mostraron cambios después de tomar la formulación de esta invención, tal como se muestra en la tabla 7.

- 15 Sin embargo, los niveles de glóbulos rojos (p<0,05) y de glóbulos blancos (p<0,001) aumentaron dentro del intervalo normal después de 12 semanas. No hubo cambios observados en las concentraciones de hemoglobina y hematocrito, y la cantidad de trombocitos. (Tabla 7).

Tabla 7. Cambios de valores bioquímicos antes y después de la administración de la presente composición.

	Sujeto (n = 25)	
	Semana 0	Semana 12
GOT (U/L)	19,3 ± 0,99	21,5 ± 1,34
GPT (U/L)	18,4 ± 2,44	20,7 ± 2,57
BUN (mg/dl)	12,6 ± 01,52	11,7 ± 0,49
Creatinina (mg/dl)	0,52 ± 0,03	0,52 ± 0,03
Glóbulos blancos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	4,92 ± 0,29	6,38 ± 0,26***
Glóbulos rojos ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	4,48 ± 0,14	4,73 ± 0,11*
Hemoglobina (g/dl)	13,2 ± 0,47	13,7 ± 0,38
Hematocrito (%)	38,7 ± 1,38	40,0 ± 1,11
Trombocito ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	306,0 ± 17,3	310,0 ± 13,5
Media ± desvío estándar. * p<0.05, *** p<0.001, en comparación con el valor de la semana 0		

4-6. Análisis de ingesta de alimentos y gasto de energía

5 La tabla 8 muestra que no hubo diferencias significativas entre los valores de la semana 0 y la semana 12 en cuanto a la ingesta de alimentos, ingesta de nutrientes y gasto de energía.

Tabla 8. Ingesta calórica y gasto total de energía por día.

	Sujeto (n = 25)	
	Semana 0	Semana 12
TEE ¹	2029,8 ± 36,6	2012,9 ± 38,2
TCI ²	2352,3 ± 43,9	2325,0 ± 45,4
TEE/TCI	0,86 ± 0,11	0,87 ± 0,12
Carbohidratos (% of TCI)	62,5 ± 0,43	62,1 ± 0,26
Proteínas (% de TCI)	17,2 ± 0,33	16,9 ± 0,27
Grasas (% de TCI)	20,6 ± 0,38	21,1 ± 0,44
Colesterol (mg)	425,8 ± 41,7	435,8 ± 33,3
TEE ¹ = (total energy expenditure, gasto total de energía).		
TCI ² = (total calorie intake, ingesta calórica total).		
Media ± desvío estándar. No hubo cambios particulares entre los valores de la semana 0 y los de la semana 12.		

4-7. Cambios en la concentración de LDL oxidado y peróxidos lipídicos.

10 No hubo cambios en la concentración de LDL oxidado, MDA, que es el peróxido lipídico en sangre, y 8-epi-PGF2 que es el peróxido lipídico en orina, después de tomar la presente composición (tabla 9).

Tabla 9. Cambios en la concentración de LDL oxidado y peróxidos lipídicos

	Sujeto (n = 25)	
	Semana 0	Semana 12
Oxidación de LDL		
LDL oxidado (U/l)	37,2 ± 1,99	36,5 ± 2,17
Peroxidación lipídica		
MDA (nmol/ml)	3,15 ± 0,29	2,92 ± 0,17
PGF2 α (pg/mg de creatinina)	1391,2 ± 145,8	1125,2 ± 180,9
Media \pm desvío estándar. No hubo cambios particulares entre los valores de la semana 0 y los de la semana 12.		

4-8. Estado de la respuesta anormal

No se observó una respuesta anormal con relación a la ingesta de la muestra 3 en los 25 sujetos que participaron en este ensayo clínico.

5 Aplicabilidad industrial

Tal como se ha descrito anteriormente, las presentes composiciones reducen el peso corporal y la grasa corporal. Las presentes composiciones disminuyen el nivel de colesterol en sangre y el nivel de glucosa en sangre relacionado con la obesidad.

10 Por otro lado, las presentes composiciones eliminan la hipertrofia de los adipocitos y la acumulación de los lípidos en el hígado, mediante la reducción del tamaño y del número de vacuolas lipídicas.

En el ensayo clínico en seres humanos, las presentes composiciones demuestran que el peso corporal, el PIBW, la grasa corporal, en especial, la grasa visceral, la concentración de apolipoproteína B, la relación de colesterol total/colesterol HDL y la relación de colesterol LDL /colesterol HDL se reducen sensiblemente, y que mejora el índice aterogénico, además de incrementarse la masa muscular.

15 Por consiguiente, las presentes composiciones pueden aplicarse de manera útil, como una composición antiobesidad para la reducción del peso corporal y la eliminación de la grasa abdominal, en particular, de la grasa visceral.

REIVINDICACIONES

1. Una composición antiobesidad que comprende extracto de *Melissa officinalis*, *Morus alba* y *Artemisia capillaris* como principios activos, para usar en el tratamiento de la obesidad, en donde el extracto de *Morus alba* es extracto proveniente de la hoja de *Morus alba*.
- 5 2. La composición según la reivindicación 1, en donde la composición comprende extracto de *Melissa officinalis*, extracto de *Artemisia capillaris* y extracto de *Morus alba* en una relación de 1-3: 0,1-1: 1-3 en peso seco.
3. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la composición incluye al menos uno de los siguientes: fibra dietaria, té verde o ginseng.
- 10 4. La composición según la reivindicación 3, en donde la fibra es al menos una de las siguientes: cascarilla de *Psyllium*, celulosa, hemicelulosa, celulosa cristalina, lignina, pectina, ácido algínico, ácido polimanurónico, goma de guar, goma arábiga, arabinogalactano, Konjak mannan, inulina, levan, polidextrosa, polidextrosa no digerible y maltodextrina no digerible
5. La composición según la reivindicación 1, en donde la composición reduce la grasa corporal.
6. La composición según la reivindicación 5, en donde la grasa corporal es la grasa visceral.

Figura 1

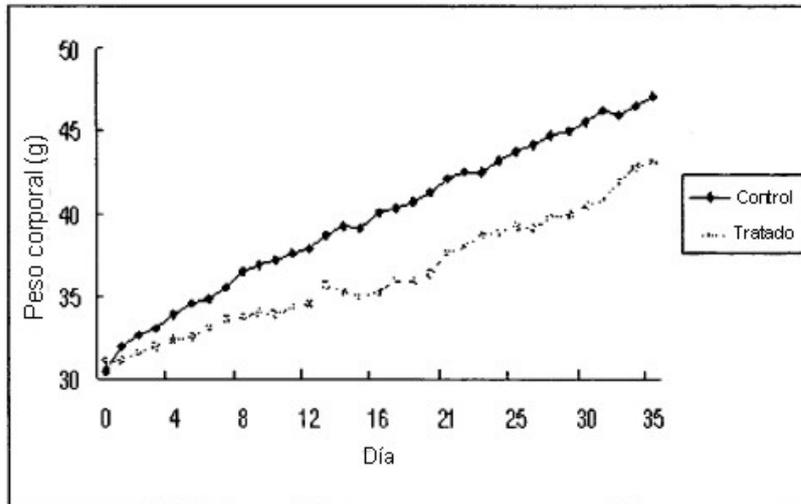


Figura 1. La composición redujo el peso corporal en ratones obesos

Figura 2

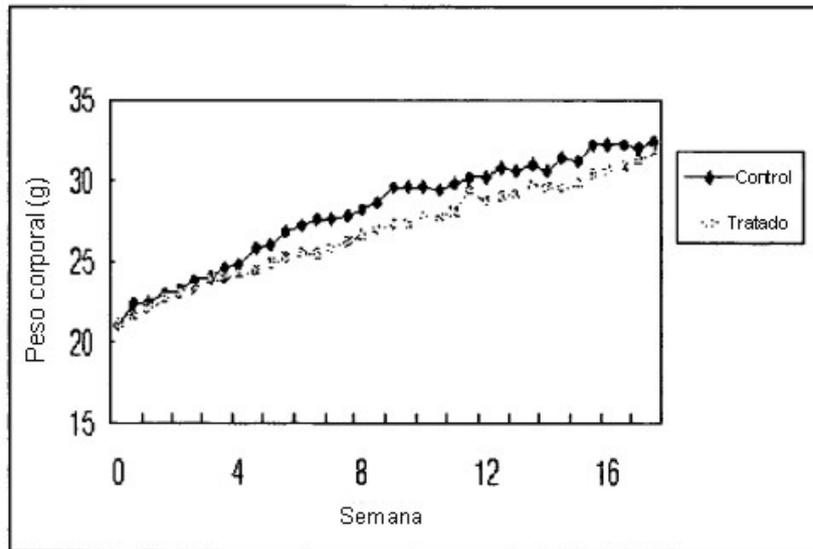


Figura 2. La composición redujo el peso corporal en ratones con obesidad inducida por la ingesta de alimentos ricos en grasas

Figura 3

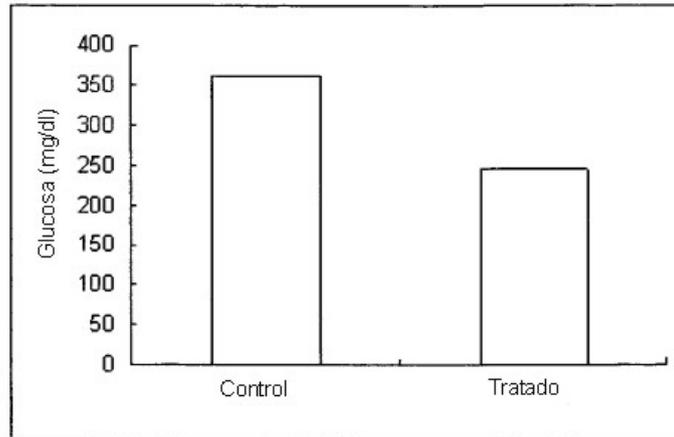


Figura 3. La composición redujo el nivel de glucosa en sangre relacionado con la obesidad.

Figura 4

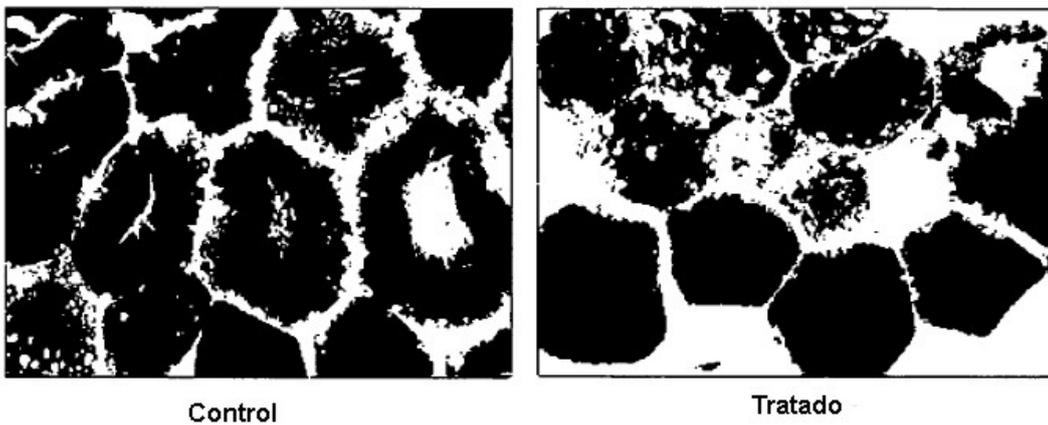


Figura 4. La composición eliminó la hipertrofia de los adipocitos en ratones obesos.

Figura 5

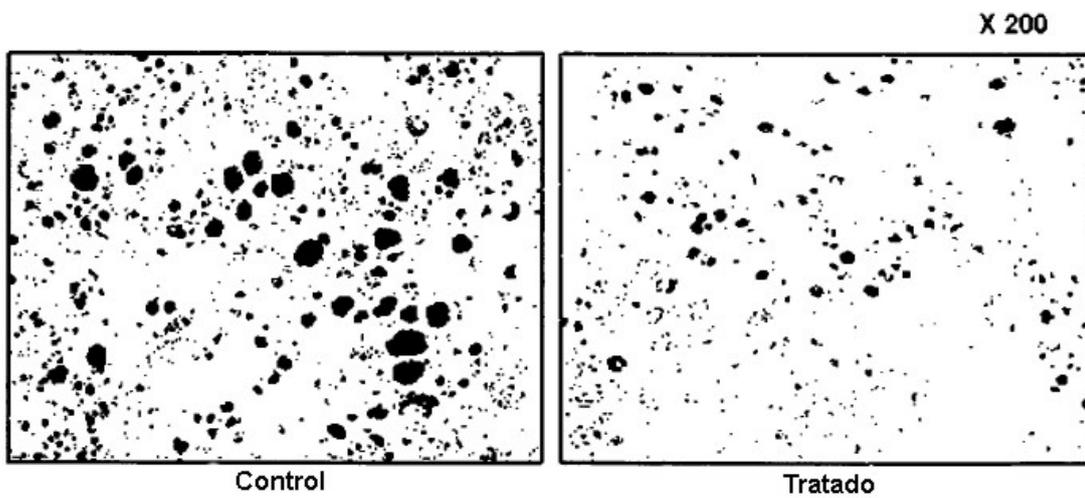


Figura 5. La composición redujo la acumulación de lípidos en el hígado de los ratones obesos.

Figura 6

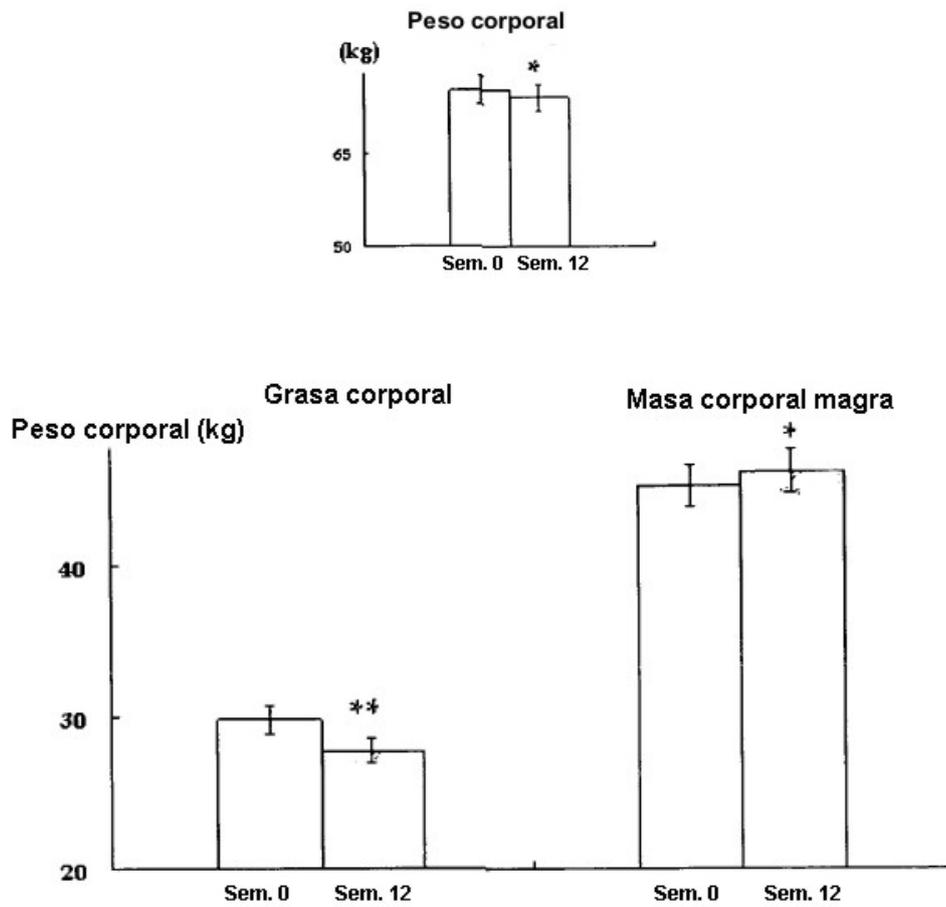


Figura 6. Cambio en la composición del peso corporal antes y después de la administración de la composición.

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ en comparación con el valor de la semana 0

Figura 7

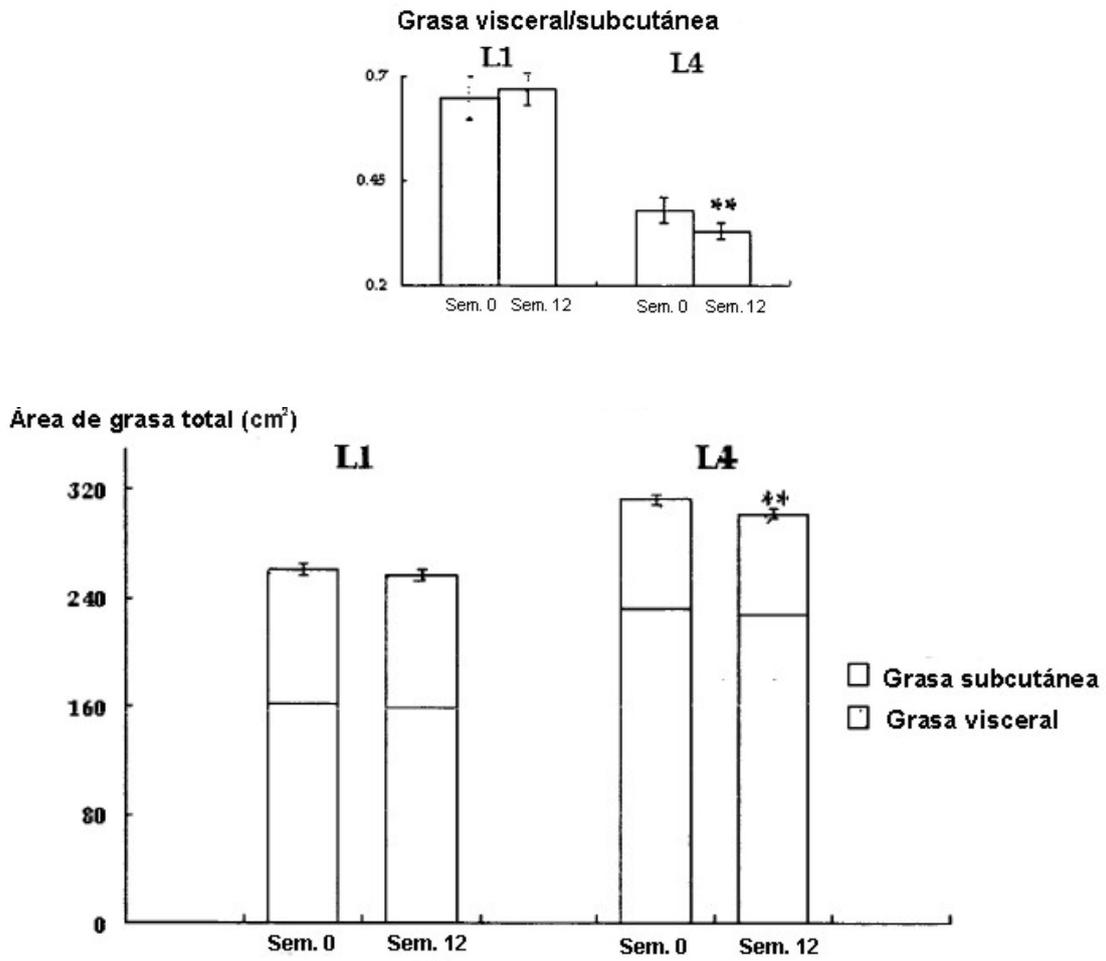


Figura 7. Cambios de las áreas de grasa abdominal antes y después de la administración de la composición.

**p<0,01, en comparación con el valor de la semana 0.