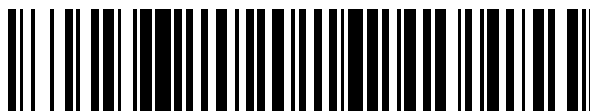


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 023**

51 Int. Cl.:

A61K 31/56 (2006.01)
A61K 36/21 (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A23L 33/11 (2006.01)
A23L 33/105 (2006.01)
A23K 20/168 (2006.01)
A23K 20/184 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.11.2012 PCT/FR2012/052600**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **16.05.2013 WO2013068704**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2012 E 12795522 (7)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.01.2017 EP 2775859**

54 Título: **Fitoecdisonas para su utilización en la estabilización del peso de mamíferos obesos después de un régimen de adelgazamiento**

30 Prioridad:

10.11.2011 FR 1160280

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.06.2017

73 Titular/es:

BIOPHYTIS (50.0%)
Parc Biocitech 102 Avenue Gaston Roussel
93230 Romainville, FR y
UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE (50.0%)

72 Inventor/es:

LAFONT, RENÉ;
CLEMENT, KARINE;
RIZKALLA, SALWA;
VEILLET, STANISLAS;
FOUCAULT, ANNE-SOPHIE y
DIOH, WALY

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 618 023 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

Fitoecdisonas para su utilización en la estabilización del peso de mamíferos obesos después de un régimen de adelgazamiento

Campo de la técnica

- 5 La invención se refiere a las fitoecdisonas, que se suministran puras o contenidas en un extracto, para su utilización en la estabilización del peso después de un régimen de adelgazamiento.

Más particularmente, la invención permite evitar la recuperación ponderal de mamíferos obesos previamente sometidos a régimen de adelgazamiento.

Estado de la técnica

- 10 La sobrecarga ponderal y la obesidad son actualmente estados fisiopatológicos de los que la prevalencia aumenta regularmente en todo el mundo. En Europa y en Estados Unidos, un individuo se considera con sobrecarga ponderal cuando su índice de masa corporal (IMC) es superior a 25. Se considera como obeso cuando su IMC es superior a 30.

- 15 Este trastorno fisiológico puede estar en el origen de numerosas complicaciones de salud. Por ejemplo, el síndrome metabólico es una perturbación fisiológica a menudo ligada al sobrepeso. Se reconoce que una persona tiene el síndrome metabólico cuando presenta al menos tres de los cinco síntomas clínicos asociados a este estado, es decir obesidad visceral o abdominal, hipertrigliceridemia, dislipidemia aterogénica, hipertensión e hiperglicemia (Isomaa et al., 2001). Además, la obesidad aumenta por sí misma los riesgos de desarrollar una diabetes de tipo II, o diabetes grasa, y enfermedades cardiovasculares (Rexrode et al., 1998).

- 20 Un método para que un mamífero obeso pierda peso y masa grasa es seguir un régimen hipocalórico, eventualmente asociado a medicamentos y/o complementos alimentarios, así como a una actividad física regular. Sin embargo, después de una primera fase de pérdida de peso, es frecuente observar una recuperación de peso en los individuos sometidos al régimen hipocalórico (Ulen et al., 2008). Este fenómeno se conoce con el nombre de "efecto de rebote".

- 25 Se han desarrollado numerosos complementos alimentarios o alimentos funcionales para favorecer la pérdida de peso en mamíferos con sobrepeso (Saper et al., 2004) y prevenir el desarrollo de la diabetes (McWorther, 2001) y enfermedades cardiovasculares. La mayoría de los productos alimentarios actualmente en el mercado demuestran una eficacia insuficiente para actuar sobre la obesidad abdominal y, en algunos casos, han resultado tóxicos (Piller et al., 2005). Por otra parte, no tienen eficacia para prevenir el efecto de rebote después de una cierta duración de régimen alimentario hipocalórico.

- 30 Por lo tanto es necesario identificar nuevas moléculas naturales, ya presentes en la alimentación de los mamíferos, para desarrollar ingredientes y alimentos funcionales no tóxicos y eficaces de larga duración sobre la masa grasa.

- 35 Las fitoecdisonas son ecdisteroideos de origen vegetal. Se trata de moléculas naturales de la familia de los triterpenos, relativamente abundantes en el reino vegetal en el que están presentes en el 5% de las plantas salvajes (Báthori y Pongrács, 2005).

Tal como se describe en la patente FR2.924.346 a nombre de la Solicitante, las fitoecdisonas, en particular la 20-hidroxiecdisona, se conocen porque reducen el aumento de la masa grasa en los mamíferos sometidos a un régimen hipercalórico engordante.

- 40 Además, estas moléculas presentan propiedades antioxidantes (Kuzmenko et al., 2001) y están desprovistas de toxicidad (Ogawa et al., 1974).

Exposición de la invención

Los inventores han descubierto que la ingestión de fitoecdisonas, por mamíferos obesos permite reducir el fenómeno de recuperación de peso después de una primera fase de pérdida de peso gracias a un régimen hipocalórico.

- 45 Más precisamente, los individuos sometidos a un tratamiento con fitoecdisonas estabilizan su peso, incluso continúan perdiendo peso, en el transcurso de una fase llamada de estabilización, durante la que un grupo testigo recupera peso.

Asimismo, durante esta fase de estabilización, los individuos sometidos a un tratamiento con fitoecdisonas presentan un tamaño adipocitario más pequeño que el grupo testigo. Además, presentan una insulínemia más pequeña y una mejor sensibilidad a la insulina que el grupo testigo.

- 50 La invención propone por lo tanto aplicar fitoecdisonas, particularmente la 20-hidroxiecdisona, para evitar la recuperación de peso en los mamíferos obesos sometidos a un régimen hipocalórico adelgazante.

Preferentemente, las fitoecdisonas también se utilizan para estabilizar, incluso continuar reduciendo, el diámetro adipocitario durante la fase de estabilización después de un régimen hipocalórico adelgazante.

5 Preferentemente, las fitoecdisonas también se utilizan para estabilizar la sensibilidad a la insulina mejorada por un régimen hipocalórico adelgazante previo. Aparte de su efecto en el tratamiento de la obesidad, las fitoecdisonas presentan por lo tanto un interés en el tratamiento de la diabetes, principalmente de la diabetes de tipo II.

Las fitoecdisonas utilizadas se pueden obtener por extracción, a partir de plantas. También se pueden utilizar ecdisonas preparadas por hemisíntesis.

Las fitoecdisonas se eligen preferentemente entre la 20-hidroxiecdisona, la maquisterona A, la 24-epi-maquisterona A, la 24(28)-deshidro-maquisterona A, la 20,26-dihidroxiecdisona y las mezclas de dos o más de estos compuestos.

10 Las fitoecdisonas se pueden suministrar puras o en forma de extractos de plantas más o menos enriquecidos. Ventajosamente, las fitoecdisonas aplicadas según la invención se presentan en forma de un extracto de plantas enriquecido en fitoecdisonas, conteniendo dicho extracto al menos 1% en masa de fitoecdisonas. Preferentemente, el extracto contiene entre 1% y 7% de fitoecdisonas, más preferentemente entre 1,5% y 3% y todavía más preferentemente 2% en masa de fitoecdisonas.

15 Las plantas alimentarias a partir de las que se realizan los extractos según la invención se eligen ventajosamente entre las quenopodiáceas, en particular la quinoa y las espinacas (Findeisen, 2004). También se pueden utilizar plantas medicinales para desarrollar extractos ricos en fitoecdisonas.

20 Preferentemente, un extracto de plantas enriquecido en fitoecdisonas según la invención procede de un extracto de quinoa. En efecto, la quinoa es un pseudo-cereal comestible naturalmente rico en fitoecdisonas (Zhu et al., 2001; Dini et al., 2005). Así, es posible completar la alimentación por ingestión de un extracto de quinoa enriquecido en fitoecdisonas, introduciendo este extracto en un alimento, tal como un producto lácteo o una bebida, o consumiéndolo como complemento alimentario, por ejemplo en forma de cápsulas.

25 La quinoa representa actualmente la planta alimentaria más rica en fitoecdisonas. Los granos de quinoa contienen una mezcla de fitoecdisonas (Zhu et al., 2001). Estas fitoecdisonas son particularmente abundantes en la envoltura de los granos de quinoa. Por ejemplo, una ración de granos de quinoa de 60 gramos (peso seco) aporta entre 15 y 25 miligramos de 20-hidroxiecdisona.

Las fitoecdisonas aplicadas según la invención se presentan ventajosamente en forma de una composición que se puede administrar por vía oral.

30 La composición se entiende por ejemplo de un producto alimentario tal como una bebida, un producto lácteo u otro. Evidentemente, la composición puede ser una composición medicinal, por ejemplo utilizada en forma de pastillas que contienen así una dosis muy de fitoecdisonas.

Ventajosamente, las fitoecdisonas se administran por vía oral a razón de 0,3 a 2,0 mg por kg de masa corporal y por día, preferentemente 0,5 mg por kg y por día.

35 Otro objetivo de la invención es un procedimiento de preparación de un extracto de quinoa enriquecido en una o varias fitoecdisonas, comprendiendo dicho procedimiento las siguientes etapas:

- extraer con agua los granos de quinoa;
- separar sólido/líquido y centrifugar el extracto acuoso;
- calentar el sobrenadante de forma que precipiten las proteínas;
- purificar por cromatografía el sobrenadante de forma que se le enriquezca en fitoecdisonas.

40 La invención se refiere también al extracto de quinoa resultante del procedimiento mencionado anteriormente. Este extracto se puede utilizar ventajosamente para evitar la recuperación de peso en los mamíferos obesos sometidos a un régimen hipocalórico adelgazante, tal como se ha descrito anteriormente.

Breve descripción de las figuras

45 - Figuras 1A, 1B: gráficos que representan la evolución ponderal de individuos obesos sometidos a un régimen hipocalórico;

- Figuras 2A, 2B: gráficos que representan la evolución del diámetro adipocitario de individuos obesos sometidos a un régimen hipocalórico;

- Figuras 3A, 3B: gráficos que representan la evolución de la insulinemia de individuos obesos sometidos a un régimen hipocalórico;

50 - Figuras 4A, 4B: gráficos que representan la evolución de la sensibilidad a la insulina de individuos obesos sometidos a un régimen hipocalórico;

- Figura 5: fórmulas químicas de fitoecdisonas presentes en una composición según un modo de realización de la invención.

Descripción detallada

5 En la invención, se propone suministrar una dosis de fitoecdisonas en forma de moléculas purificadas, o por medio de un extracto de plantas enriquecido en fitoecdisonas, con el fin de evitar la recuperación ponderal, o "efecto rebote", en los mamíferos obesos sometidos a régimen hipocalórico adelgazante.

10 Según la invención, es posible suministrar esta dosis de fitoecdisonas en forma de un extracto de plantas, tal como de quinoa, incorporado por ejemplo en un alimento que entra en la alimentación corriente de un individuo. En efecto, 1 gramo de extracto de quinoa enriquecido a un 2% en peso en fitoecdisonas contiene 20 miligramos de fitoecdisonas. Para obtener la misma cantidad de fitoecdisonas a partir de granos de quinoa sería necesario consumir 50 gramos de granos de quinoa no tratados (Dini et al., 2005; Kumpun et al., 2011). El extracto de quinoa según la invención puede así contener hasta 50 veces más fitoecdisonas que los granos de quinoa de los que se ha obtenido.

I – Ejemplo de procedimiento de preparación de extracto de quinoa enriquecido en fitoecdisonas (extracto A).

15 Los granos de quinoa se muelen en primer lugar para separar la harina y el salvado del grano. Se procede a una extracción añadiendo 4.000 L de agua a 400 kg de salvado de los granos. El extracto acuoso experimenta una separación sólido/líquido seguida por centrifugación. El sobrenadante así obtenido se trata con calor a 90°C para precipitar las proteínas. El extracto acuoso se purifica a continuación pasándolo por una columna de resina alimentaria con el objetivo de enriquecerlo en fitoecdisonas. El eluato etanólico se seca a continuación por *spray drying* después de añadir una cantidad de maltodextrina apropiada para ajustar a un contenido de $2 \pm 0,2\%$ en peso de 20-hidroxiecdisona (20E).

Dicha extracción secuencial permite suprimir las saponinas del extracto, abundantes en los granos de quinoa (Muir et al., 2002) que confieren un sabor amargo a dicho extracto, así como la mayoría de los azúcares.

25 El extracto obtenido contiene una mezcla de fitoecdisonas de las que el 85-90% corresponden a la 20-hidroxiecdisona y el resto a otras fitoecdisonas de estructura muy similar, como la maquisterona A, la 24-epi-maquisterona A, la 24(28)-deshidro-maquisterona A o la 20,26-dihidroxiecdisona (Kumpun et al., 2011). Las estructuras de estos compuestos se representan en la figura 5.

Un extracto análogo al extracto A, utilizable en el marco de la invención, se comercializa principalmente con la marca Quinolía®.

30 *II- Estudio clínico en doble ciego de los efectos del extracto A en individuos obesos sometidos a un régimen hipocalórico durante 6 semanas seguido de un régimen de estabilización durante 6 semanas.*

Protocolo

35 Se ha estudiado el efecto del extracto A en el marco de un estudio clínico en doble ciego en 60 voluntarios con sobrepeso y obesos formados por 18 hombres y 42 mujeres de IMC 27 a 38. Los voluntarios se someten a un régimen hipocalórico de 1.200 Kcal en las mujeres y 1.500 Kcal en los hombres durante 6 semanas. El régimen hipocalórico es seguido por un régimen de estabilización de 6 semanas, con un aporte calórico 20% superior al del régimen hipocalórico. Se han medido parámetros tales como la insulinemia, la evolución ponderal, el diámetro adipocitario y la fuerza muscular durante las visitas al principio y al final de la fase de régimen hipocalórico y de estabilización.

40 Los sujetos se han repartido en dos grupos. Un primer grupo (grupo "extracto A") ha recibido 6 cápsulas de extracto A que contenían en total 40 mg de fitoecdisonas, en 3 tomas diarias, durante toda la duración del ensayo.

Un segundo grupo testigo ("grupo placebo") ha recibido 6 cápsulas de placebo en 3 tomas diarias, durante la misma duración.

45 Se han realizado las diferentes medidas al principio del tratamiento (S0), al cabo de la sexta semana del régimen (S6) y al cabo de la duodécima semana de régimen (S12).

Medida de la evolución ponderal durante los regímenes de adelgazamiento y de estabilización

Se ha estudiado el efecto del extracto A durante un régimen hipocalórico sobre la evolución ponderal (figuras 1A y 1B).

50 Los grupos "placebo" y "extracto A" muestran pérdidas de peso respectivas de 4,05 y 3,86 kg durante la primera fase del régimen, denominada fase de adelgazamiento.

Durante la segunda fase del régimen, denominada fase de estabilización, el grupo "extracto A" continúa perdiendo peso (-0,483 kg), mientras que el grupo "placebo" registra una ganancia media de +0,504 kg.

5 El estudio de la evolución relativa del peso de los individuos ensayados muestra que el grupo "extracto A" presenta solo un 10% de individuos que han mostrado una recaída (ganancia de 0,05 a 0,1 kg/día) valor que se debe comparar con el 28% del grupo "placebo".

El mismo grupo "extracto A" presenta 20% de individuos que han perdido entre 0,06 y 0,15 kg/día, mientras que en el grupo "placebo" esta categoría solo representa 10% de individuos.

Medida del diámetro adipocitario durante los regímenes de adelgazamiento y de estabilización

10 Se ha estudiado el efecto del extracto A durante un régimen hipocalórico sobre la evolución del diámetro adipocitario (figuras 2A y 2B).

En la fase de adelgazamiento, el diámetro adipocitario medio se reduce tanto en el grupo "extracto A" (-10,94 μ m) como en el grupo "placebo" (-8,80 μ m).

En fase de estabilización el diámetro medio continúa disminuyendo y se detecta una diferencia significativa entre los grupos "extracto A" (-9,25 μ m) y el grupo "placebo" (-5,99 μ m).

15 Este resultado se debe relacionar con una pérdida de masa grasa superior en la fase de estabilización en el grupo "extracto A". En efecto, la pérdida de masa grasa inducida en la fase de estabilización es de -0,74 kg para el grupo "extracto A", mientras que la del grupo "placebo" solo es de -0,33 kg.

Medida de la evolución de la insulinemia y de la resistencia a la insulina durante los regímenes hipocalórico y de estabilización

20 Se ha estudiado el efecto del extracto A sobre la evolución de la insulinemia (figuras 3A y 3B) y de la resistencia a la insulina (figuras 4A y 4B). El índice HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*, figuras 4A y 4B) es un marcador de la resistencia a la insulina.

25 La insulina plasmática disminuye durante la fase de adelgazamiento en el grupo "extracto A" (-18,90 pmol/L) y el grupo "placebo" (-12,60 pmol/L). Esta vuelve a subir de forma importante en la fase de estabilización en el grupo "placebo" (7,69 pmol/L) mientras que se estabiliza en el grupo "extracto A". El tratamiento con el extracto A permite estabilizar las tasas de insulina plasmática en la fase de estabilización y disminuirlas significativamente más que el placebo a lo largo del tratamiento.

30 La resistencia a la insulina, medida con el índice HOMA-IR disminuye en los dos grupos durante la fase de adelgazamiento. Durante la fase de estabilización, permanece constante en el grupo "extracto A" mientras que vuelve a aumentar de forma significativa en el grupo "placebo".

Conclusiones

La administración del extracto A permite a los sujetos obesos evitar una recuperación ponderal durante la segunda fase, denominada de estabilización, del régimen hipocalórico adelgazante.

35 Además, la administración del extracto A permite una disminución más importante de la masa grasa y del diámetro adipocitario medio durante la fase de estabilización.

Finalmente, la administración del extracto A permite disminuir la insulinemia y mantener durante esta misma fase la mejora de la sensibilidad a la insulina aportada por el régimen hipocalórico.

Referencias

- Báthori M., Pongrácz Z. 2005. Phytoecdysteroids – from isolation to their effects on humans. *Current Medicinal Chemistry* 12, 153-172.
- 5 - Dini I., Tenore G.C., Dini A. 2005. Nutritional and antinutritional composition of Kancolla seeds: An interesting and underexploited andine food plant. *Food Chemistry*, 92, 125-132.
- Flndeisen E. 2004 Ecdysteroids in Human food (Ecdysteroides in der menschlichen Nahrung). Tesis doctoral, Universidad de Marburg, Alemania.
- 10 - Isomaa B., Almgren P., Tuomi T., Forsen B., Lahtii K., Nissen M., Taskinen M.R., Groop L. 2001. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 24 (4), 683-689.
- Kumpun S., Maria A., Crouzet C., Evrard-Todeschi N., Girault J.P., Lafont R. 2011. Ecdysteroids from *Chenopodium quinoa* Willd., an ancient Andean crop of high nutritional value, *Food Chemistry* 125, 1226-1234.
- 15 - Kuzmenko A.I., Niki E., Noguchi N. 2001. New functions of 20-hydroxyecdysone in lipid peroxidation. *Journal of Oleo Science* 50, 497-506.
- McWorther L.S. 2001. Biological complementary therapies: a focus on botanical products in diabetes. *Diabetes Spectrum* 14, 199-208.
- 20 - Ogawa S., Nishimoto N., Matsuda H. 1974. Pharmacology of ecdysones in vertebrates. En: *Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophyly* (Burdette, W. J. ed.) Springer, Nueva York. 341-344.
- Pittler M.H., Schmidt K., Ernst E. 2005. Adverse events of herbal food supplements for body weight reduction: systematic review. *Obesity Review* 6, 93-111.
- 25 - Rexrode K., Carey V., Hennekens C.H., Walters E.E., Colditz G.A., Stampfer M.J., Willett W.C., Manson J.E. 1998. Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. *JAMA* 280, 1843-1848.
- Saper R.B., Eisenberg D.M., Phillips R.S. 2004. Common dietary supplements for weight loss. *American Family Physician* 70 (9), 1731-1738.
- 30 - Ulen C.G., Huizinga M., Beech B., Elasy T.A. 2008. Weight regain prevention. *Clinical Diabetes* 26 (3), 100-113.
- Zhu N., Kikusaki H., Vastano B.C., Nakatani N., Karwe M.V., Rosen R.T., Ho C.T. 2001. Ecdysteroids of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 2576-2578.

REIVINDICACIONES

- 1.- Fitoecdisonas para su utilización con el fin de evitar la recuperación ponderal en mamíferos obesos después de un régimen hipocalórico adelgazante.
- 5 2.- Fitoecdisonas para su utilización, según la reivindicación 1, con el fin de estabilizar el diámetro adipocitario y la masa grasa después de un régimen hipocalórico adelgazante.
- 3.- Fitoecdisonas para su utilización, según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, con el fin de estabilizar la sensibilidad a la insulina mejorada por un régimen hipocalórico adelgazante previo.
- 10 4.- Fitoecdisonas para su utilización según una de las reivindicaciones precedentes, tales que se eligen entre la 20-hidroxiecdisona, la maquisterona A, la 24-epi-maquisterona A, la 24(28)-deshidro-maquisterona A, la 20,26-dihidroxiecdisona y las mezclas de dos o más de estos compuestos.
- 5.- Fitoecdisonas para su utilización según una de las reivindicaciones precedentes, suministradas en forma de extracto de plantas.
- 6.- Fitoecdisonas para su utilización según la reivindicación 5, tales que el extracto comprende al menos 1% en masa de fitoecdisonas.
- 15 7.- Fitoecdisonas para su utilización según una de las reivindicaciones 5 a 6, tales que el extracto de plantas proviene de la quinoa.
- 8.- Fitoecdisonas para su utilización según una de las reivindicaciones precedentes, incorporadas a una composición que puede ser administrada por vía oral.
- 20 9.- Procedimiento de preparación de un extracto de quinoa enriquecido en una o varias fitoecdisonas, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:
 - extraer con agua los granos de quinoa;
 - separar sólido/líquido y centrifugar el extracto acuoso;
 - calentar el sobrenadante de forma que precipiten las proteínas;
 - purificar por cromatografía el sobrenadante de forma que se enriquezca en fitoecdisonas.

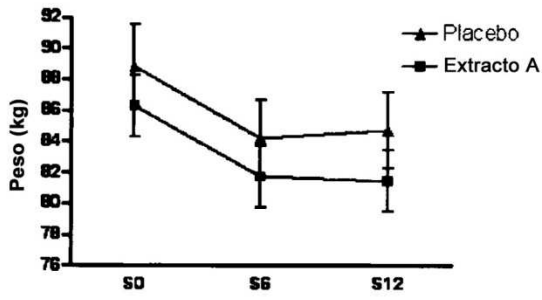


Fig. 1A

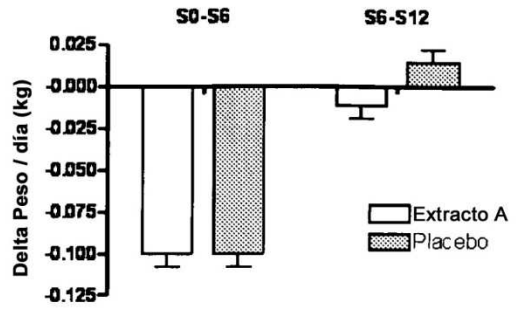


Fig. 1B

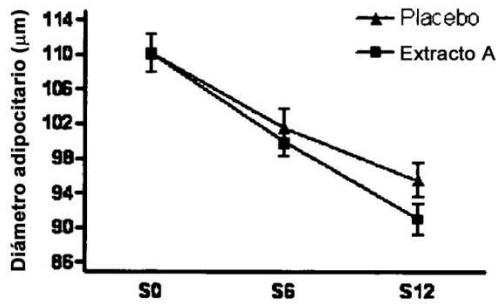


Fig. 2A

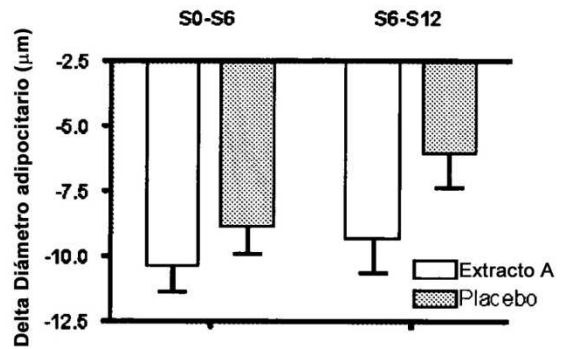


Fig. 2B



Fig. 3A

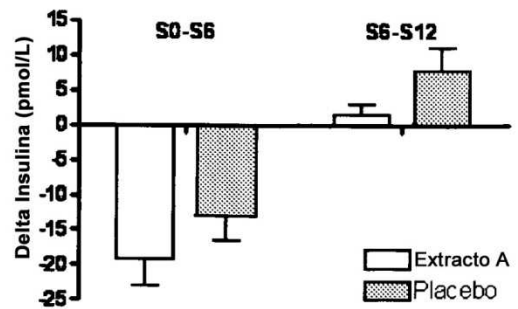


Fig. 3B

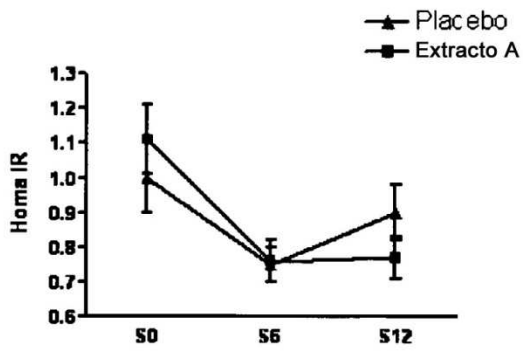


Fig. 4A

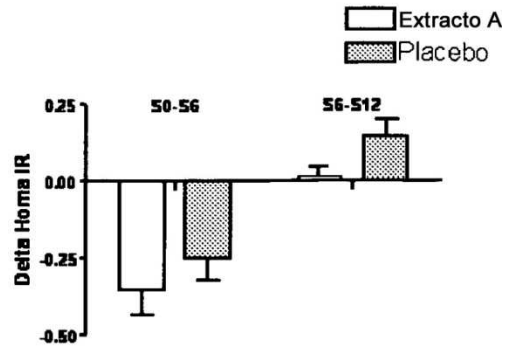
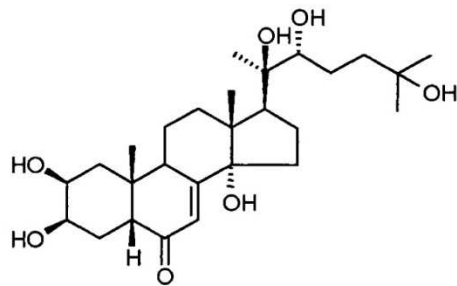
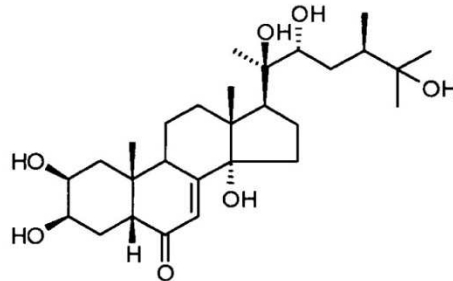


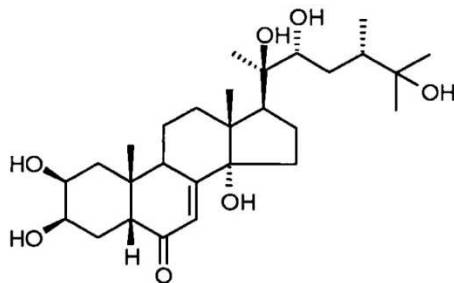
Fig. 4B



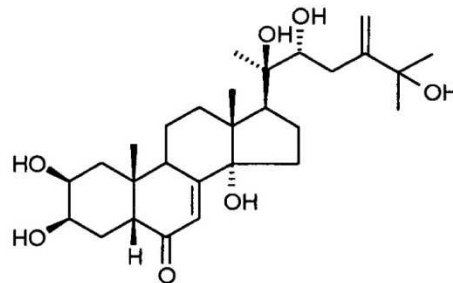
20-HIDROXIECDISONA



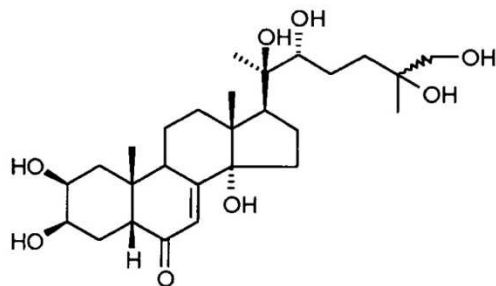
MAQUISTERONA A



24-EPI-MAQUISTERONA A



24(28)-DESHIDRO-MAQUISTERONA A



20,26-DIHIDROXIECDISONA

Fig. 5