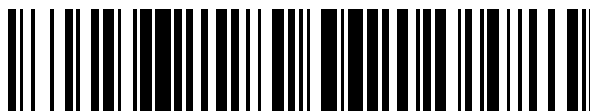


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 747 932**

51 Int. Cl.:

A61K 31/56 (2006.01)

A61K 36/21 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.11.2008 PCT/FR2008/052088**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.06.2009 WO09071804**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.11.2008 E 08856497 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.07.2019 EP 2217255**

54 Título: **Uso de fitoecdisonas en la preparación de una composición para actuar sobre el síndrome metabólico**

30 Prioridad:

30.11.2007 FR 0759478

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

12.03.2020

73 Titular/es:

**BIOPHYTIS (33.3%)
14 avenue de l'Opéra
75001 Paris, FR;
SORBONNE UNIVERSITÉ (33.3%) y
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) (33.3%)**

72 Inventor/es:

**VEILLET, STANISLAS y
LAFONT, RENÉ**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 747 932 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

Uso de fitoecdisonas en la preparación de una composición para actuar sobre el síndrome metabólico

Campo técnico

5 La invención se refiere al uso de fitoecdisonas, proporcionadas puras o en forma de extracto, para la preparación de una composición destinada a prevenir o tratar el síndrome metabólico en el mamífero. Más particularmente, el uso según la invención permite disminuir la masa grasa y/o reducir su acumulación, en particular al nivel de la cintura abdominal. La invención también se refiere a un extracto de planta enriquecido con fitoecdisonas que se puede usar para la preparación de una composición de ser. La invención se puede usar de forma ventajosa en el campo agroalimentario, con el fin de enriquecer productos alimentarios con fitoecdisonas para preparar alimentos
10 funcionales, o productos nutracéuticos. La invención también tiene aplicaciones en el campo médico, siendo las fitoecdisonas, por ejemplo, usadas en una composición medicinal.

Estado de la técnica

15 El exceso ponderal es hoy en día un estado fisiológico muy extendido, independientemente del grupo de edad y la cultura. Este trastorno fisiológico puede ser el origen de numerosas complicaciones de salud. Por ejemplo, el síndrome metabólico es un trastorno fisiológico relacionado con mayor frecuencia en un individuo con sobrepeso. Se reconoce que una persona tiene síndrome metabólico cuando al menos tres de los cinco signos clínicos asociados con esta afección son obesidad visceral o abdominal, hipertrigliceridemia, dislipidemia aterogénica, hipertensión e hiperglucemia (Isomaa *et al.*, 2001). La obesidad también aumenta en sí misma el riesgo de desarrollar diabetes de tipo II o diabetes grasa, y enfermedades cardiovasculares (Rexrode *et al.*, 1998).

20 Se han desarrollado numerosos medicamentos, tales como medicamentos hipotensores y medicamentos para reducir el colesterol, para contrarrestar el desarrollo de enfermedades cardiovasculares en individuos con riesgo (Foster-Schubert *et al.*, 2006). Del mismo modo, los diabéticos pueden, cuando la prescripción de una dieta alimentaria con bajo contenido de grasa y azúcar no es suficiente, recibir un aporte de insulina.

25 Sin embargo, para la mayoría de los individuos afectados con el síndrome metabólico, la administración de un cóctel de medicamentos asociada con la prescripción de una dieta estricta y con la necesidad de practicar un ejercicio físico regular es una fuente de desánimo, tanto más porque los efectos beneficiosos no son inmediatos y porque se debe mantener el estilo de vida impuesto, a riesgo de ver reaparecer los síntomas asociados con el síndrome metabólico (Wasan *et al.*, 2005).

30 Por lo tanto es necesario que los individuos que presentan un síndrome metabólico puedan recuperar un equilibrio fisiológico que les permita dejar de ser considerados como en riesgo, en particular desde el punto de vista del desarrollo de enfermedades cardiovasculares, sin tener que soportar un tratamiento demasiado pesado y/o demasiado restrictivo. También es necesario evitar la instalación de algunos o todos los síntomas asociados, que pueden conducir a la destrucción de la masa corporal magra y al diagnóstico de síndrome metabólico (Unger, 2003).

35 Una alimentación equilibrada complementada con alimentos funcionales o suplementos dietéticos permite actuar sobre el estado de salud del mamífero con sobrepeso y evitar la instalación del síndrome metabólico. Se han desarrollado numerosos suplementos dietéticos o alimentos funcionales para estimular la pérdida de peso en mamíferos con sobrepeso (Saper *et al.*, 2004) y prevenir el desarrollo de diabetes (McWorther, 2001) y enfermedades cardiovasculares. La mayoría de los productos alimenticios que hay en la actualidad en el mercado son insuficientemente eficaces para actuar sobre la obesidad abdominal y, en algunos casos, han demostrado ser tóxicos (Pittle *et al.*, 2005). 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 sobre la masa grasa.

45 Las Fitoecdisonas son moléculas naturales de la familia de los triterpenos, relativamente abundantes en el reino vegetal donde están presentes en el 5 % de las plantas silvestres (Báthori y Pongrács, 2005). Varios equipos han estudiado los efectos fisiológicos de las fitoecdisonas, en particular la 20-hidroxiecdisona en mamíferos. Se ha demostrado en particular que estas moléculas estimulan la síntesis de proteínas (Otaka *et al.*, 1968, Khimiko *et al.*, 2000, Syrov, 2000) y el crecimiento animal (Purser y Baker, 1994). También se ha informado de efectos hipoglucémicos (Uchiyama *et al.*, 1970, Mironova y Kholodova, 1982, Takahashi y Nishimoto, 1992, Yang *et al.*, 2001, Chen *et al.*, 2004, 2006), agentes hipolipemiantes (Mironova *et al.*, 1982; *et al.*, 1983) y colagogos (Syrov *et al.*, 1986) también han sido reportados. Además, estas moléculas tienen propiedades antioxidantes (Kuzmenko *et al.*, 2001) y carecen de toxicidad.

Exposición de la invención

55 Los inventores han descubierto que la ingestión regular o no de fitoecdisonas permite actuar positivamente al menos sobre la acumulación de masa grasa, principalmente a nivel de la cintura abdominal. Las fitoecdisonas son ecdiesteroides de origen vegetal. Al actuar de forma positiva, se entiende que la ingesta de fitoecdisonas hace posible reducir la masa grasa en los mamíferos ya obesos, pero también permite reducir la formación de la masa

grasa a pesar de que la dieta seguida debería estimular el aumento de la masa grasa, tanto si el mamífero está creciendo o es adulto. La ingesta de fitoecdisonas reduce la masa grasa, pero también actúa sobre la hiperglucemia y la dislipidemia aterogénica, previniendo o tratando el síndrome metabólico en personas con sobrepeso u obesidad.

5 Se considera que un individuo tiene sobrepeso cuando su índice de masa corporal (IMC) es superior a 25, y se considera obeso a partir de un IMC igual o superior a 30.

10 Por lo tanto la invención propone proporcionar fitoecdisonas en una composición destinada al mamífero, o en una composición medicinal, con el fin de suprimir o prevenir la aparición del síndrome metabólico. La disminución de la grasa ya adquirida, puede permitir que algunas personas ya no sufran el síndrome metabólico. De hecho, la disminución de la masa grasa afecta de forma indirecta a muchos de los síntomas asociados con el síndrome metabólico, incluyendo la obesidad abdominal, la glucosa en sangre y la dislipidemia aterogénica. Además, también puede tener una acción preventiva sobre el desarrollo del síndrome metabólico en personas con sobrepeso, al permitir una disminución de la grasa ya adquirida y/o al evitar una ingesta adicional.

15 De manera más general, el uso de fitoecdisonas según la invención permite evitar la acumulación de masa grasa abdominal y disminuir la masa grasa abdominal ya adquirida en cualquier individuo sea cual sea su IMC, y en el caso de individuos con sobrepeso u obesidad, permite prevenir y/o tratar el síndrome metabólico.

20 Las fitoecdisonas se pueden proporcionar puras o en forma de extracto de plantas más o menos enriquecido. De forma ventajosa, el extracto de plantas enriquecido con fitoecdisonas según la invención proviene de un extracto de quinua. De hecho, la quinua es un pseudo cereal comestible naturalmente rico en fitoecdisonas (Zhu *et al.*, 2001, Dini *et al.*, 2005). Por lo tanto, es posible complementar la alimentación mediante la ingesta de extracto de quinua enriquecido con fitoecdisonas, introduciendo este extracto en un alimento, tal como un producto lácteo o una bebida, o consumiéndolo, como suplemento dietético, en forma de cápsulas por ejemplo. Uno de los intereses de la quinua es que es una planta que se introduce en la alimentación humana de la misma manera que el trigo o el trigo sarraceno, y no una planta medicinal de modo que se podrían ignorar ciertos efectos secundarios. Los inventores están particularmente interesados en la quinua no solo por sus cualidades nutricionales sino también porque presenta naturalmente una cantidad significativa de fitoecdisonas.

30 La capacidad de producir fitoecdisonas parece pérdida en la gran mayoría de las especies de plantas cultivadas, y como resultado la alimentación humana "clásica" contiene solo pequeñas cantidades de fitoecdisonas, con un promedio de menos de 1 mg al día. La quinua es hasta la fecha la planta alimentaria, con mucho, más rica en fitoecdisonas. Las semillas de quinua contienen una mezcla de fitoecdisonas (Zhu *et al.*, 2001). Estas fitoecdisonas son particularmente abundantes en la envoltura de los granos de quinua. Por ejemplo, una ración de granos de quinua de 60 gramos (peso seco) comprende entre 15 y 20 miligramos de 20-hidroxiecdisona.

La espinaca y ciertos hongos también se pueden usar de forma ventajosa para la fabricación de un extracto de plantas rico en fitoecdisonas (Findeisen E, 2004).

35 Por lo tanto el objeto de la invención es el uso de fitoecdisonas, puras o contenidas en un extracto de plantas especialmente enriquecido con fitoecdisonas, para la preparación de una composición destinada a reducir la masa grasa abdominal en el mamífero. En particular, permite disminuir la masa de grasa abdominal ya adquirida. También permite, en el caso de una dieta hiperlipídica en particular, disminuir la acumulación de la masa de grasa abdominal.

Según la invención, la composición que comprende fitoecdisonas está particularmente destinada a individuos que presentan sobrepeso u obesidad, y permite prevenir y/o tratar el síndrome metabólico.

40 La composición preparada de ese modo puede ser consumida por una persona que presenta un exceso ponderal que presenta un síndrome metabólico o que es susceptible de desarrollar un síndrome metabólico. La ingesta regular de la composición según la invención estimula la reducción de la masa grasa, especialmente al nivel de la cintura abdominal. A medida que disminuye el exceso ponderal de grasa, también disminuyen los riesgos de complicaciones.

45 La composición incluye por ejemplo un producto alimentario tal como una bebida, un producto lácteo o similar. Por supuesto, la composición puede ser una composición medicinal, por ejemplo, usada en forma de píldoras que contienen por lo tanto una dosis muy precisa de fitoecdisonas. Por composición medicinal, se hace referencia a una composición que tiene propiedades curativas y/o preventivas con respecto a la acumulación de masa grasa e indirectamente con respecto al síndrome metabólico, por lo tanto la ingesta está sometida a control médico, más o menos estricto. El beneficio de tomar píldoras es que el consumidor puede evaluar de manera confiable la cantidad de fitoecdisonas consumidas independientemente de su apetito. Por supuesto, el hecho de asociar la ingesta de fitoecdisonas con la ingesta de un alimento, es decir, consumir las fitoecdisonas en forma de composición alimentaria, permite ir más allá de la noción de tratamiento y, por lo tanto, de las limitaciones relacionadas con un estado clínico específico.

55 Las fitoecdisonas usadas se pueden obtener por extracción, a partir de plantas que contienen fitoecdisonas. Las fitoecdisonas usadas también pueden ser fitoecdisonas sintéticas. En el caso de una extracción, el extracto de plantas usado es preferiblemente un extracto de plantas alimentarias tal como la quinua. Por plantas alimentarias, se

hace referencia a las plantas usadas principalmente como alimento o como condimento en una amplia área geográfica. Por el contrario, las plantas medicinales son plantas usadas esencialmente por sus propiedades curativas.

5 La invención también tiene como objeto un extracto de plantas alimentarias enriquecido con fitoecdisonas. De forma ventajosa, dicho extracto comprende al menos un 1 % y preferiblemente entre un 1 % y un 7 %, de manera preferible entre un 1,5 % y un 3 % e incluso más preferiblemente un 2 % en peso de fitoecdisonas.

Las plantas a partir de las que se preparan los extractos según la invención se eligen de forma ventajosa entre quinoa, espinacas y hongos.

10 La invención también tiene como objeto una composición destinada a la alimentación de mamíferos, que comprende extracto de plantas enriquecido con fitoecdisonas.

Breve descripción de las figuras

- Figura 1: Gráfico que representa el aumento de peso en g/día en función de la dieta a la que se someten los ratones;

15 - Figura 2: Gráfico que representa el porcentaje de adipocitos epididimarios (% de TAE en mg/g de BW) en función de la dieta a la que se someten los ratones;

- Figura 3: Gráfico que representa la adiposidad subcutánea (% de TASC en mg/g de BWT) en función de la dieta a la que se someten los ratones;

- Figura 4: Gráfico que representa el diámetro de los adipocitos, en μm , en función del tratamiento administrado a los ratones sometidos a la dieta de manteca de cerdo;

20 - Figura 5: Gráfico que muestra la distribución de los diámetros de los adipocitos en función del tratamiento administrado a los ratones sometidos a la dieta de manteca de cerdo.

Descripción detallada

25 En la invención, se propone proporcionar una dosis concentrada de fitoecdisonas puras, o por medio de un extracto de plantas enriquecido con fitoecdisonas, con el fin de mejorar el estado de salud de las personas con exceso ponderal, o para evitar la instalación de exceso ponderal por acumulación de masa de grasa abdominal y visceral. Es uno de los marcadores clínicos fundamentales del síndrome metabólico y un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y diabetes de tipo 2.

30 La dosis umbral de fitoecdisonas contenida en una composición según la invención y que permite obtener efectos positivos sobre la masa grasa es de 0,3 a 0,5 mg/kg en seres humanos, es decir, de 20 a 30 mg al día como promedio. Esta estimación se basa en la detección de un efecto fisiológico en ratones (línea C57Bl6 de *Mus musculus*) a una dosis de 5 mg/kg. Esta dosis se ajustó por un factor de coincidencia farmacológica teniendo en cuenta un aumento de la vida media promedio de fitoecdisonas más importante en seres humanos que en ratones (Simon y Koolman, 1989).

35 Según la invención, es posible proporcionar esta dosis de fitoecdisonas diarias en forma de un extracto de plantas, tal como quinoa, incorporado, por ejemplo, en un alimento que entra en alimentación corriente de un individuo. De hecho, en 4 gramos de extracto de quinoa enriquecido como máximo en un 0,5 % en peso de fitoecdisonas, hay 20 miligramos de fitoecdisonas. Para obtener la misma cantidad de fitoecdisonas de las semillas de quinoa, sería necesario consumir de 50 a 100 gramos de semillas de quinoa sin tratar (Dini *et al.*, 2005). El extracto de quinoa según la invención puede contener hasta 50 veces más fitoecdisonas que los granos de quinoa de los que se obtiene el extracto. Por lo tanto, es bastante posible, con el uso según la invención, cubrir las necesidades de fitoecdisonas del individuo, sin restricciones dietéticas, ya que la ingesta de un solo alimento de la vida cotidiana, tal como un yogur, puede proporcionar la dosis deseada. El extracto según la invención se puede añadir en el momento de la elaboración de una composición alimentaria, de modo que el alimento terminado lo contenga. Por lo tanto, ciertos alimentos o bebidas que se venden en áreas grandes y medianas pueden contener una dosis dada de fitoecdisonas. También es posible añadir el extracto enriquecido con fitoecdisonas a los cereales en el momento de su consumo, antes o después de la cocción. En este caso, el individuo puede adaptar la cantidad de fitoecdisonas a sus propias necesidades.

Según un ejemplo de la invención, el extracto de plantas enriquecido con fitoecdisonas se introduce en los alimentos cotidianos, es decir, los que se consumen con un objetivo principalmente nutricional y no terapéutico o profiláctico.

50 En términos cuantitativos, cada individuo puede consumir varios cientos de kilos de un mismo alimento al año. Si a este tipo de de alimentos de consumo cotidiano se le añade un extracto de plantas de alimentos enriquecido con fitoecdisonas, los consumidores pueden recibir una dosis suficiente de fitoecdisonas para evitar la aparición de sobrepeso debido a la acumulación excesiva de grasa, especialmente en la cintura abdominal, o el empeoramiento de su estado, sin entrar en un enfoque de tratamiento. Este extracto enriquecido se puede considerar una sustancia

"adaptogénica" (Báthori M., Pongrács Z., 2005). Por sustancia adaptogénica se hace referencia a sustancia que no es un medicamento pero que mejora el equilibrio general para hacer que el individuo sea más resistente o más capaz de no desarrollar las enfermedades asociadas con el síndrome metabólico en caso de sobrepeso.

5 La ventaja de la quinoa es que es una planta que es fácil de cultivar, no requiere mantenimiento especial, tiene poca necesidad de agua y soporta condiciones de cultivo extremas.

Además, las fitoecdisonas obtenidas a partir de la quinoa no se degradan por el calor. Por lo tanto, es posible preparar composiciones alimentarias destinadas a su calentamiento o cocción con un extracto de quinoa enriquecido según la invención.

10 Por supuesto, las mismas cantidades de fitoecdisonas pueden, según otro ejemplo de la invención, ser proporcionadas a un paciente mediante ingesta de una composición medicinal que comprende la dosis prescrita de fitoecdisonas, siendo la composición administrada, por ejemplo, en forma de cápsulas o comprimidos.

I] Ejemplos del método de preparación del extracto de quinoa enriquecido con fitoecdisonas

1 - Ejemplo: método A

15 Se procede a una extracción secuencial con agua, mediante la adición de 500 g de granos de quinoa a 2 l de agua hirviendo, y el conjunto se mantiene durante 5 minutos a 80 °C. Se elimina el agua y se realiza una segunda extracción con 2 l de etanol-agua (1:1) con agitación durante 20 minutos a 80 °C.

Una extracción secuencial de ese tipo permite eliminar del extracto las saponinas, abundantes en los granos de quinoa (Muir *et al.*, 2002), que podrían proporcionar un sabor amargo a dicho extracto.

20 El extracto etanólico se filtra a través de miracloth™, se evapora a sequedad y se recoge con 400 ml de etanol absoluto, dejando un residuo insoluble abundante.

La fracción etanólica se filtra o centrifuga y a continuación se seca.

El análisis cromatográfico (HPLC) muestra que este extracto contiene un $2 \pm 0,2$ % en peso de 20-hidroxiecdisona.

2 - Ejemplo: método B

25 Se mezclan 50 g de granos de quinoa con 400 ml de agua destilada. La mezcla se introduce en un microondas durante 5 minutos a potencia media (800 W).

A continuación se lleva a cabo una segunda extracción con etanol (400 ml de etanol) durante 2,5 minutos en el microondas siempre a potencia media (800 W).

30 Los dos métodos de extracción permiten obtener entre 150 y 200 miligramos de fitoecdisonas por kilogramo de granos de quinoa tratados, un 85-90% de los cuales corresponden a la 20-hidroxiecdisona, y el resto a ecdiesteroides de estructura muy similar.

3 - Ejemplo: método C para enriquecer el extracto

Es posible enriquecer el extracto del método A (o B) con una partición de butanol-agua, lo que permite eliminar los compuestos más polares y terminar después de la evaporación de la fase de butanol con un extracto con concentración más elevada de fitoecdisonas (5-7 % en peso).

35 II] Estudio experimental del efecto de las fitoecdisonas en el almacenamiento de la masa grasa

Protocolo

Se somete a ensayo el efecto de las fitoecdisonas en ratones sometidos a una dieta rica en grasas durante 3 semanas.

40 La dieta grasa o la dieta inductora consiste en la ingesta de grandes cantidades de materia grasa en forma de manteca de cerdo. Los ratones seleccionados en este estudio son ratones, C57 BL/6, machos, de 6 semanas de edad cuando comienzan a seguir esta dieta inductora. Los ratones de ese tipo constituyen un modelo de estudio privilegiado para analizar el impacto del extracto de quinoa enriquecido con fitoecdisonas según la invención sobre los parámetros fisiológicos del síndrome metabólico.

45 En paralelo, también se somete a ensayo el efecto de estas mismas fitoecdisonas en ratones no sometidos a una dieta rica en grasa, que constituye la dieta normal de control.

La Tabla 1 que sigue a continuación indica la distribución de los ratones estudiados en función de las dietas y los tratamientos a los que se someten.

Tabla 1: Distribución de los ratones estudiados:

		Tratamientos			
		Control	Principio activo puro 20E	Extracto al 1,6 %	Extracto al 7 %
Dietas	Inductora	6 ratones	6 ratones	6 ratones	6 ratones
	Control	6 ratones	6 ratones	6 ratones	6 ratones

Se entiende que la dieta inductora es la dieta enriquecida con manteca de cerdo.

Se entiende que el principio activo puro es 20-hidroxicdisona (20E) pura.

- 5 Los 24 ratones de cada serie se someten a la dieta tal como se detalla en la tabla 2, durante tres semanas y se tratan en paralelo con la molécula pura, o un extracto de quinoa enriquecido con 20-hidroxicdisona (20E) con un máximo de un 1,6 % (2,24 % la última semana de tratamiento para la serie de control) o un 7 %. La concentración de 20-hidroxicdisona se ajusta a 40 mg por kg de alimento.

- 10 Teniendo en cuenta la cantidad promedio de alimentos ingeridos por los ratones, la dosis de 20E administrada corresponde en los 3 tratamientos a 5 mg de 20E por kg de peso corporal al día. La comida se proporciona en exceso, tres veces a la semana, para las dos dietas y para los 3 tratamientos. Como promedio, se proporcionan 40 g de alimentos por jaula al día, es decir, 6,5 g de alimentos por ratón y al día.

La Tabla 2 que sigue a continuación indica con más detalle la composición de la dieta alimentaria a la que se someten los ratones.

- 15 Tabla 2: Composición de las dietas:

Ingredientes	Composición (g/kg)	
	P14 de control	P14 de manteca de cerdo
leche (LR85 F)	140	170
Almidón	622,4	360
sacarosa	100,3	57
Aceite de soja	40	40
Manteca de cerdo	0	235
Sales minerales	35	62,5
Vitaminas	10	12,5
Celulosa	50	62,5
Colina	2,3	2,3

Sacrificio:

En el momento del sacrificio, se miden el peso del ratón (Bwt), así como el peso del hígado, el tejido adiposo epididimario (TAE) y el tejido adiposo subcutáneo (TASC).

- 20 Las células del tejido adiposo epididimario se extraen para el recuento y el análisis morfológico.

Resultados

Aumento de peso

En la figura 1 se representa un gráfico que muestra el aumento de peso en g/día de los ratones de acuerdo con su

dieta y el tratamiento asociado.

- 5 De manera inesperada, se observa que los ratones alimentados con manteca de cerdo tienen un mayor aumento de peso que aquellos que no han recibido manteca de cerdo. Los ratones con la dieta de manteca de cerdo aumentaron de peso como promedio 250 mg/día, independientemente del tratamiento. Por otro lado, sea cual sea el tratamiento, no modifica de forma significativa el aumento de peso tanto dentro del grupo de ratones alimentados con manteca de cerdo como en el grupo de ratones alimentados con la dieta de control.

Medición de la masa grasa.

En la figura 2 se representa un gráfico que muestra la cantidad de masa grasa en el tejido gonadal (% de TAE) en función de la dieta y el tratamiento asociado.

- 10 De manera inesperada, se observa un mayor aumento de la adiposidad en los ratones control alimentados con la dieta de manteca de cerdo que en los ratones de control alimentados con la dieta normal.

En los ratones tratados que han recibido un tratamiento, en combinación con la dieta de manteca de cerdo, el tratamiento con la molécula pura y los extractos a un 2 %, y un 7 % hacen disminuir la adiposidad en un 50 %, 30 % y 20 % respectivamente.

- 15 Los ratones que han recibido un tratamiento con los extractos a un 2 % y un 7 % en combinación con la dieta de control tienen una adiposidad ligeramente mayor que los ratones de control no tratados, pero este efecto no es significativo. Por otro lado, el tratamiento con la molécula pura no modifica la adiposidad de los ratones alimentados con la dieta de control.

- 20 En la figura 3 se representa un gráfico que muestra la cantidad de masa grasa al nivel del tejido inguinal subcutáneo en función de la dieta y el tratamiento asociado.

Los resultados son comparables a los de la adiposidad en el tejido gonadal. Sin embargo, en los ratones alimentados con manteca de cerdo, la disminución es menos importante con el tratamiento con los extractos a un 2 % y un 7 %. En los ratones alimentados con la dieta de control, no hay un efecto significativo de los tratamientos.

Medición de los adipocitos

- 25 Las células adiposas, o adipocitos, son las células que constituyen el tejido adiposo. Estas células contienen en su citoplasma una gota lipídica que desempeña un papel esencial en la síntesis de lípidos y su almacenamiento. Se puede pensar que si el diámetro de estas células disminuye, debido a la disminución del diámetro de la gota lipídica, esto tendrá un impacto en la cantidad de grasa almacenada.

- 30 En la Figura 4 se puede observar el efecto del tratamiento en el diámetro de los adipocitos. En los ratones alimentados con la dieta de manteca de cerdo, el diámetro de los adipocitos se hipertrofia en comparación con el de los ratones de control. El tratamiento con la molécula pura y el extracto a un 2 % reduce de forma significativa el tamaño del adipocito. Por otro lado, el extracto a un 7 % no tiene un efecto significativo sobre el diámetro del adipocito.

En la Figura 5 se representan los efectos del tratamiento en la distribución de los diámetros de los adipocitos.

- 35 Los ratones de control alimentados con manteca de cerdo tienen una distribución con una mayoría de las células teniendo un diámetro grande (hasta 110 nm con un modo de aproximadamente 70). Los ratones a los que se les administra fitoecdisona pura tienen una distribución con un diámetro que varía hasta un máximo de 90 nm, con un modo de 60. Los ratones a los que se les administra el extracto a un 2 % presentan una distribución similar con una mayoría de células de tamaño pequeño. Los ratones a los que se les administra el extracto a un 7 % presentan una
40 distribución entre la del control de manteca de cerdo y la del extracto a un 2 %.

Conclusión

- 45 La administración de la molécula pura, como la del extracto a un 2 %, impide un desarrollo de obesidad inducida por una dieta hiperlipídica e hipercalórica a base de manteca de cerdo y no tiene ningún efecto en el animal no obeso que tiene una dieta normal, es decir, ni hiper ni hipocalórica. Este efecto es comparable en el tejido gonadal y en el tejido subcutáneo. El extracto a un 7 % induce una ligera adiposidad (subcutánea) en el caso de una dieta de control y tiene una disminución de la adiposidad equivalente a la del extracto a un 2 % en el caso de la dieta con manteca de cerdo.

La comparación de los resultados de la adiposidad con la del aumento de peso muestra que los ratones crecen y aumentan de peso, pero no de masa grasa. Es probable que haya un aumento en la masa magra muscular.

- 50 III] Ejemplo de formulación de extracto de quinoa a un 2 % en forma galénica de tipo cápsulas

Se añaden 375 mg de extracto de quinoa enriquecido con fitoecdisonas como máximo a un 2 % en peso, a 75 mg de

fécula de mandioca. El conjunto se introduce en una cápsula de tipo 600 mg. Una sola cápsula permite que un paciente ingiera 7,5 mg de fitoecdisonas. La dosis recomendada, en el caso de exceso de peso que se puede diagnosticar como de riesgo en un paciente desde el punto de vista de las complicaciones médicas y en particular para que se produzca el síndrome metabólico, es de 4 cápsulas al día, con el fin de que el paciente tenga un aporte diario de fitoecdisonas de 30 mg.

Referencias

- Báthori M, Pongrácz Z 2005 Phytoecdysteroids - from isolation to their effects on humans. *Curr. Med. Chem.* **12** 153-172.
- Chen Q, Xia Y, Qiu Z 2004 Use of ecdysterone in preparation of insulin resistance formulation. Solicitud CN 1002-1686 20040113 (*Chemical Abstracts* **143** 159564).
- Chen Q, Xia Y, Qiu Z 2006 Effect of ecdysterone on glucose metabolism *in vitro*. *Life Sci.* **78** 1108-1113.
- Dini I, Tenore GC, Dini A 2005 Nutritional and antinutritional composition of Kancolla seeds: an interesting and underexploited andine food plant. *Food Chem.* **92** 125-132.
- Findeisen E 2004 Ecdysteroides in der menschlichen Nahrung. Ph. D. Thesis, Universidad de Marburg (Alemania).
- Foster-Schubert KE, Cummings DE 2006 Emerging therapeutic strategies for obesity. *Endocrine Rev.* **27**, 779-793.
- Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M, Taskinen MR, Groop L 2001 Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* **24**, 683-689.
- Khimiko IN, Mitrokin Yul, Efremova OI, Sidorenko LI 2000 The influence of ecdysterone on the biosynthesis of proteins and nucleic acids in mouse organs. *Khim. -Farm. Zh.* **34** 3-5.
- Klinzing Nielsen BK, Elgaard T, Jacobsen SE 2005 Feed additive derived from plant material originating from quinoa (*Chenopodium quinoa*). Solicitud de patente GB 2420066A.
- Kuzmenko AI, Niki E, Noguchi N 2001 New functions of 20-hydroxyecdysone in lipid peroxidation. *J. Oleo. Sci.* **50**, 497-506.
- Lafont R, Dinan L 2003 Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: an update. *J. Insect Sci.* **3**, pp. 30 (www.insectscience.org/3.7).
- McWorther LS 2001 Biological complementary therapies: a focus on botanical products in diabetes. *Diabetes Spectrum* **14**, 199-208.
- Mironova VN, Kholodova, YuD, Skatchkova TF, Bonda OP, Datsenko ZM, Govseeva NN 1982 Hypocholesterolemic effects of phytoecdysones in rat experimental hypercholesterolemia. *Vopr. Med. Khim.* **28**, 101-105.
- Muir AD, Paton D, Ballantyne K, Aubin AA 2002 Process for recovery and purification of saponins and sapogenins from quinoa (*Chenopodium quinoa*). Solicitud de Patente de Estados Unidos Patente 6355249.
- Otaka T, Uchiyama M, Okui S, Takemoto T, Hikino H, Ogawa S, Nishimoto N 1968 Stimulatory effect of insect metamorphosing steroids from *Achyranthes* and *Cyathula* on protein synthesis in mouse liver. *Chem. Pharm. Bull.* **16** 2426-2429.
- Pittle MH, Schmidt K, Ernst E 2005 Adverse events of herbal food supplements for body weight reduction: systematic review. *Obesity Rev.* **6**, 93-111.
- Purser DB, Baker SK. 1994. Ecdysones used to improve productivity of ruminants. Solicitud internacional de PCT WO 94 18.984, solicitud AU 93/7.397 (Chem. Abstr. **121** 254587).
- Rexrode K, Carey V, Hennekens CH, Walters EE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Manson JE 1998 Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. *JAMA* **280**, 1843-1848.
- Saper RB, Eisenberg DM, Phillips RS 2004 Common dietary supplements for weight loss. *Amer. Fam. Physician* **70**, 1731-1738.
- Simon P, Koolman J 1989 Ecdysteroids in vertebrates: pharmacological aspects. En: Koolman J (ed), Ecdysone, from chemistry to mode of action. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp 254-259.
- Syrov VN 2000 Comparative experimental investigations of the anabolic activity of ecdysteroids and steranabols. *Pharm. Chem. J.* **34** 193-197.
- Syrov, VN, Khushbaktova ZA, Abzalova MKh, Sultanov MB 1983 On the hypolipidemic and antiatherosclerotic action

of phytoecdysteroids. *Dokl. Akad. Nauk Uzb. SSR* (9) 44-45.

Syrov VN, Nabiev AN, Sultanov MB 1986 The effect of phytoecdysteroids on the bile secretion function of the liver in normal rats and in animals with experimental hepatitis. *Farmakol. Toksikol.* **49** 100-103.

5 Takahashi H, Nishimoto K 1992 Antidiabetic agents containing ecdysterone or inokosterone. Jpn Kokai Tokkyo Koho J.P. 04.125.135 [92 124,135]. (Chem. Abstr. 117: 84874b).

Uchiyama M, Ogawa S. 1970. Hypoglycemic formulations containing insect hormones. Solicitud JP 19690506 (Chem. Abstr. **74**: 24985).

Unger RH 2003 Minireview: weapons of lean body mass destruction: the role of ectopic lipids in the metabolic syndrome. *Endocrinology* **144**, 5159-5165.

10 Wasan KM, Looije NA 2005 Emerging pharmacological approaches in the treatment of obesity. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* **8**, 259-271.

Yang C, Zhang G, Liu X, Wang C 2001 Oral antidiabetic compositions containing β -ecdysone from *Cyanothis arachnoides*. Solicitud CN-2000-10637/20000612 (Chem. Abstr. **135**: 127188).

15 Zhu N, Kikusaki H, Vastano BC, Nakatani N, Karwe MV, Rosen RT, Ho CT 2001 Ecdysteroids of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.). *J. Agric. Food Chem.* **49**, 2576-2578.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición a base de fitoecdisonas proporcionada en forma de 20-hidroxiecdisona pura o en forma de extracto de plantas enriquecido con fitoecdisona, para su uso en el mamífero para la prevención y/o el tratamiento del síndrome metabólico en el mamífero con sobrepeso u obesidad por disminución de la masa grasa a nivel de la cintura abdominal.
2. Composición a base de fitoecdisonas para su uso según la reivindicación 1, caracterizada por que el extracto de plantas proviene de la quinoa.
3. Composición a base de fitoecdisonas para su uso según la reivindicación 1 o 2, en la que de un 85 % a un 90 % de las fitoecdisonas corresponden a la 20-hidroxiecdisona.
- 10 4. Composición a base de fitoecdisonas para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 3, como alimento o complemento alimentario.
5. Composición a base de fitoecdisonas para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 4, como composición medicinal.
- 15 6. Composición a base de fitoecdisonas para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que está en una forma que permite una posología comprendida entre 20 mg/día y 30 mg/día de fitoecdisonas.
7. Composición a base de fitoecdisonas para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada por que las plantas usadas para formar el extracto se eligen entre las plantas alimentarias ricas en fitoecdisonas y por que dicho extracto comprende al menos un 1 % en peso de fitoecdisonas.
- 20 8. Composición a base de fitoecdisonas para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada por que el extracto es un extracto de quinoa sin saponinas que comprende entre un 1 % y un 7 % en peso de fitoecdisonas.
9. Composición a base de fitoecdisonas para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada por que el extracto comprende un 2 % en peso de fitoecdisonas.

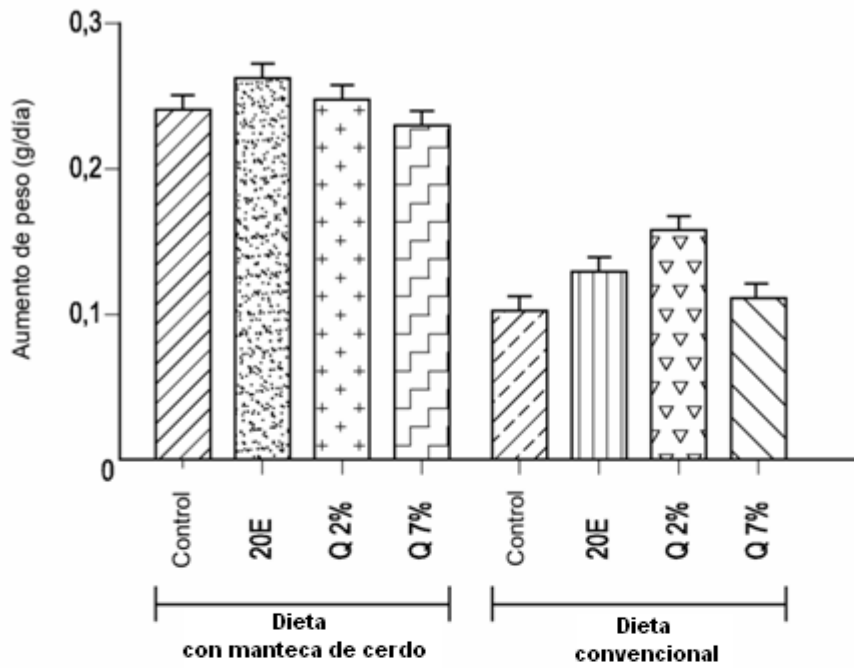


Fig. 1

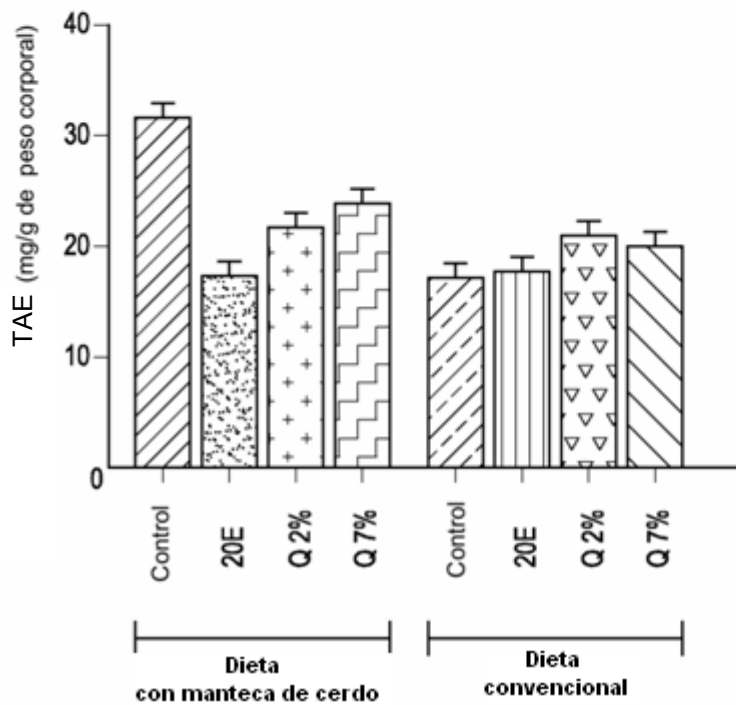


Fig. 2

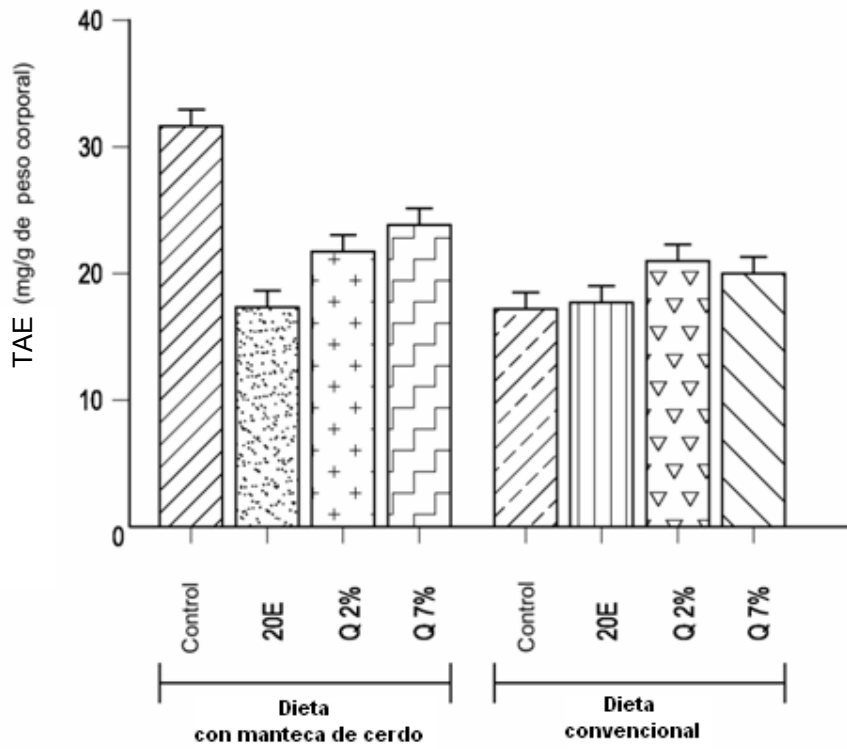


Fig. 3

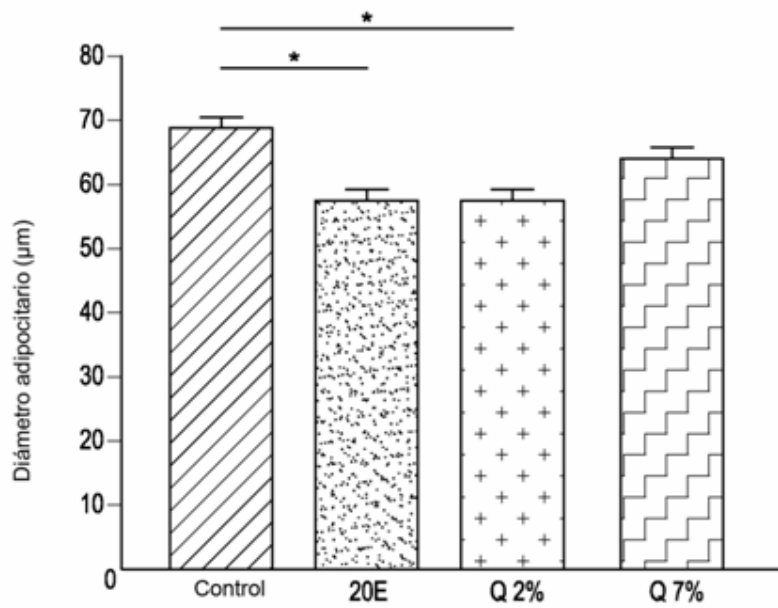


Fig. 4

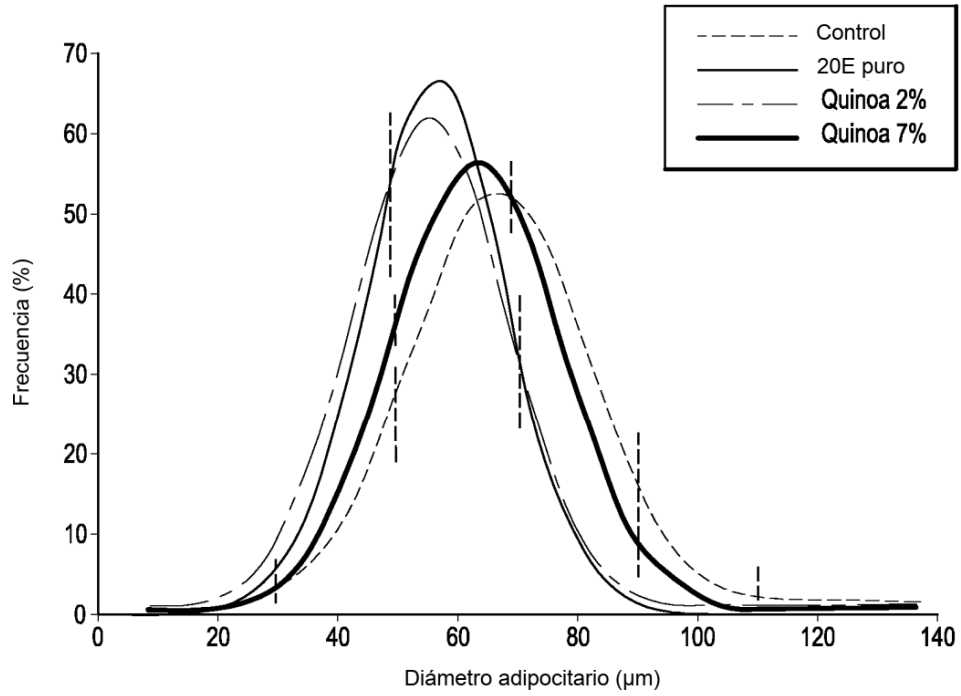


Fig. 5