

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 804 649**

21 Número de solicitud: 201930732

51 Int. Cl.:

A61K 38/08 (2009.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 9/12 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

06.08.2019

43 Fecha de publicación de la solicitud:

08.02.2021

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

04.05.21

Fecha de concesión:

13.07.2021

45 Fecha de publicación de la concesión:

20.07.2021

73 Titular/es:

**UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI (90.2%)
C/ Escorxador s/n
43003 TARRAGONA (Tarragona) ES y
FUNDACIÓ EURECAT (9.8%)**

72 Inventor/es:

**BRAVO VÁZQUEZ, Francisca Isabel;
SUÁREZ RECIO, Manuel;
AROLA ARNAL, Anna;
MUGUERZA MARQUÍNEZ, María Begoña;
SALVADÓ ROVIRA, María Josepa;
AROLA FERRER, Luis María;
CRESCENTI SAVALL, Anna;
PASCUAL SERRANO, Aida;
IBARS SERRA, María;
ARDID RUIZ, Andrea;
GIBERT RAMOS, Albert;
MAS CAPDEVILA, Anna;
MARTÍN GONZÁLEZ, Miguel;
BLADÉ SEGARRA, María Cinta y
ARAGONÈS BARGALLÓ, Gerard**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

La lista de secuencias está accesible al público en la página web de la OEPM para su descarga en formato electrónico.

54 Título: **Composición hipoleptinémica y su uso**

57 Resumen:

Composición hipoleptinémica y su uso.
La presente invención se refiere a una composición con efecto hipoleptinémico y antihipertensivo, y a su uso como suplemento alimenticio, alimento funcional o medicamento para el tratamiento de la obesidad, el sobrepeso y/o la hipertensión.

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

ES 2 804 649 B2

DESCRIPCIÓN

Composición hipoleptinémica y su uso

5 **SECTOR TÉCNICO**

La presente invención se encuadra en el campo de la dietética, de los suplementos alimenticios, y de la industria alimentaria (en particular el sector de los alimentos funcionales), y en el campo de la medicina y la industria farmacéutica. En particular se refiere a una composición con efecto hipoleptinémico y su uso.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La sociedad occidental continúa con la mala *praxis* de consumir en exceso alimentos ricos en grasa y azúcar y practicar una vida sedentaria. En nuestro país el 16% de las personas adultas padecen obesidad, el 38% tienen sobrepeso, y las previsiones indican que en 2050 el 60% de la población europea será obesa (*WHO, Overweight and obesity, 2016*).

15

Aunque las políticas públicas actuales intentan cambiar las prácticas dietéticas y de actividad física de nuestra sociedad, y es imprescindible hacerlo así, seguramente hay que partir de la premisa que la sociedad va a cambiar poco (o nada) sus costumbres. Por lo que socialmente es imprescindible y económicamente es recomendable seguir investigando en nuevas estrategias que permitan corregir, aunque sea parcialmente, las malas prácticas en relación con la alimentación y el ejercicio.

20

En este sentido, una buena estrategia podría estar en el desarrollo de nuevos suplementos alimenticios y/o nuevos alimentos funcionales con capacidad de tratar de forma eficaz la obesidad y las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad como, por ejemplo, la hipertensión arterial, mediante el control de los niveles en sangre de la hormona leptina.

25

La leptina es una hormona que regula la ingesta de alimentos y el gasto energético para mantener constante el peso corporal. A nivel fisiológico, la leptina es la responsable de generar la señal de saciedad en el cerebro. Para ello, esta hormona (que es sintetizada por el tejido adiposo en cantidad proporcional a la masa grasa del organismo) estimula ciertas zonas del hipotálamo enviando una señal que informa que existe tejido adiposo suficiente. La consecuencia es que se provoca la reducción en la ingesta calórica y un aumento del gasto energético. Consecuentemente, los individuos que no sintetizan o no producen esta hormona

35

no disponen de este mecanismo de saciedad y freno de la ingesta con el consiguiente riesgo de desarrollar obesidad (*Flak et al. Molecular Endocrinology 2016; 30,3-12*).

5 Sin embargo, y contrariamente a lo esperado, los niveles de leptina en sujetos obesos superan los niveles normales, y además, en este contexto de obesidad, se ha descrito una resistencia a la señal de esta hormona, es decir, a pesar de que se detectan niveles elevados de leptina en sangre, el organismo no responde de forma adecuada (*Maffei et al. Nature Medicine 1995; 1:1155-1161*).

10 Incluso, se ha descrito que cuando los niveles de leptina en sangre son muy elevados, como sucede en sujetos obesos, existe un aumento de la actividad simpática a nivel central que a su vez provoca un aumento de la tensión arterial (*Simonds et al. Cell 2014; 159:1404-1416*).

15 Con esto, es fácil comprender que la leptina es un elemento clave tanto en la regulación del peso corporal como de la tensión arterial a través de su acción en el cerebro. Por ello, regular los niveles en sangre de esta hormona podría ser una buena estrategia terapéutica para combatir simultáneamente tanto la obesidad como sus alteraciones metabólicas más importantes, como, por ejemplo, la hipertensión arterial.

20 Existen diferentes estudios científicos que muestran como algunos componentes bioactivos de la dieta, administrados de forma individual, pueden tener importantes beneficios para la funcionalidad de la leptina a distintos niveles (*Aragonès et al. Molecular Nutrition and Food Research 2016; 60:1789-1803*). Sin embargo, ninguno de estos componentes por sí solo ha sido capaz de revertir de forma simultánea las diversas alteraciones metabólicas que se
25 generan en una situación de obesidad. Es más, ninguno de ellos ha sido capaz de tener un efecto global sobre el peso corporal y la hipertensión arterial.

Sorprendentemente, los autores de la presente invención han desarrollado una composición que comprende diferentes componentes bioactivos que es capaz de actuar simultáneamente
30 sobre las diferentes alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad, y con especial interés, sobre los niveles de leptina en sangre y la sensibilidad a leptina, proporcionando así un tratamiento para la obesidad y sus alteraciones metabólicas más importantes, como, por ejemplo, la hipertensión arterial.

35

OBJETO DE LA INVENCION

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a una composición caracterizada porque comprende:

- 5 a) un extracto de antocianinas;
- b) un extracto de proantocianidinas;
- c) ácido linoleico conjugado; y
- d) un hidrolizado de pata de pollo (HPP), que comprende los péptidos de secuencia SEC ID N° 1 (QVGPLIGRYCG) y/o SEC ID N° 2 (AVFQHNCQE).

10 En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a un medicamento, un suplemento alimenticio, una bebida o un producto alimenticio que comprende una composición según el primer aspecto de la invención.

15 En un tercer aspecto, la presente invención se refiere a la composición según el primer aspecto de la invención para su uso en medicina.

20 En un cuarto aspecto, la presente invención se refiere a la composición según el primer aspecto de la invención para su uso en el tratamiento de obesidad, sobrepeso y/o hipertensión.

25 En un quinto aspecto, la presente invención se refiere a la composición según el primer aspecto de la invención para su uso como coadyuvante en el tratamiento de obesidad, sobrepeso y/o hipertensión.

Otros objetos, características, ventajas y aspectos de la presente solicitud serán evidentes para el experto en la materia a partir de la descripción y las reivindicaciones adjuntas.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

30 La Figura 1 muestra la capacidad de la composición de la invención (MIX) de activar las neuronas hipotalámicas sensibles a la leptina tras su administración en ratas Wistar alimentadas con dieta de cafetería. En la Figura 1A las flechas blancas muestran células anorexigénicas, productoras de péptidos que inhiben el apetito, que presentan activa la vía de señalización de la leptina (ACTH (rojo) positivas y pSTAT3 (verde) positivas). En la micrografía aparecen ACTH en rojo, pSTAT3 en verde y DAPI en azul. La Figura 1B muestra el recuento
35 celular de neuronas anorexigénicas activadas por leptina de los animales que han tomado MIX (columna blanca) y de los animales que no lo han tomado (columna negra). Los datos

representan la media \pm ESM para un mínimo de 6 animales. * indica una $P < 0,05$ respecto al grupo control.

5 La Figura 2 muestran la reducción en el aumento de peso corporal de los animales con dieta de cafetería a los que se les ha administrado la composición de la presente invención (MIX) durante 3 semanas respecto a los controles. Los datos representan la media \pm ESM para un mínimo de 6 animales. *indica una $P < 0,05$ respecto al grupo control.

10 La Figura 3 muestra el efecto antihipertensivo de la composición de la presente invención (MIX) tras su administración crónica durante 3 semanas en animales con dieta de cafetería respecto a los animales control. * indica una $p < 0,05$ respecto al grupo control.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

15 Como se usa en la presente solicitud, las formas en singular "un/uno", "una" y "el/la" incluyen sus correspondientes plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos usados en el presente documento tienen el significado que un experto en la técnica a la que esta invención pertenece entiende habitualmente.

20 La presente invención se refiere en un primer aspecto a una composición (referida de aquí en adelante como composición de la invención) que comprende:

a) un extracto de antocianinas;

b) un extracto de proantocianidinas;

c) ácido linoleico conjugado; y

25 d) un hidrolizado de pata de pollo (HPP), que comprende los péptidos de secuencia SEC ID N° 1 (QVGPLIGRYCG) y/o SEC ID N° 2 (AVFQHNCQE).

30 Como se muestra en el Ejemplo 1, la composición de la invención tiene efecto hipoleptinémico, es decir, es capaz de reducir los niveles de leptina en sangre. Así, en una realización particular, la composición de la invención es una composición hipoleptinémica.

35 Ventajosamente, además de reducir los niveles de leptina en sangre, la composición de la invención es capaz de aumentar la sensibilidad a leptina al aumentar el número de neuronas anorexigénicas, que son las responsables de regular el apetito y peso corporal. Así, el organismo recupera el control del balance energético. Esto se traduce en una reducción

estadísticamente significativa del peso corporal y del índice de adiposidad, además de inducir un claro efecto antihipertensivo (ver Ejemplos 2 y 3).

5 Estos datos son de gran interés social, ya que hasta el momento no se ha conseguido desarrollar ningún fármaco ni alimento funcional que corrija el incremento de peso corporal de forma tan efectiva y sin efectos secundarios, y que, además, reduzca la presión arterial sistólica desde la primera semana de administración (ver Figura 3).

10 En una realización particular, el extracto de antocianinas comprende antocianinas de grosellas negras (*Ribes nigrum L.*) y/o de arándanos (*Vaccinium myrtillus*), preferentemente comprende antocianinas de grosellas negras (*Ribes nigrum L.*) y/o de arándanos (*Vaccinium myrtillus*). Más particularmente, el extracto de antocianinas comprende al menos un 25% de 3-O-glucósido de cianidina, preferentemente 30%-35% de 3-O-glucósido de cianidina, y al menos un 50% de 3-O-glucósido de delfinidina, preferentemente 55%-60% de 3-O-glucósido de delfinidina. Extractos de antocianinas (ANT) que cumplan dichas características están disponibles comercialmente (e.g. MEDOX®). Como se muestra en los ejemplos, el uso individual de este ingrediente no tiene un efecto estadísticamente significativo en la reducción de los niveles de leptina. Sin embargo, ventajosamente, en combinación con el resto de ingredientes de la composición de la invención, proporciona una inesperada y estadísticamente significativa reducción de los niveles en sangre de esta hormona que, a la vez, se asocian a una reducción del peso corporal, del índice de adiposidad y de la tensión arterial (ver Tablas 1-4).

25 En una realización particular según una cualquiera de las realizaciones anteriores, el extracto de proantocianidinas es un extracto de proantocianidinas de semillas de uva. Más particularmente, el extracto de proantocianidinas comprende 18%-25% de procianidinas monoméricas, 18%-25% de procianidinas diméricas, 15%-20% de procianidinas triméricas, 35%-45% de procianidinas oligoméricas, y 1%-2% de ácidos fenólicos. Extractos de proantocianidinas que cumplan dichas características están disponibles comercialmente (e.g. Vitaflavan®). Como se muestra en los ejemplos, el uso individual de este ingrediente no tiene un efecto estadísticamente significativo en la reducción de los niveles de leptina. Sin embargo, ventajosamente, en combinación con el resto de ingredientes de la composición de la invención, proporciona una inesperada y estadísticamente significativa reducción de los niveles en sangre de esta hormona que, a la vez, se asocian a una reducción del peso corporal, del índice de adiposidad y de la tensión arterial (ver Tablas 1-4).

- El ácido linoleico conjugado (ALC) es ampliamente conocido por el experto en la materia y está disponible comercialmente (e.g. Tonalin®). Como se muestra en los ejemplos, el uso individual de este ingrediente no tiene un efecto estadísticamente significativo en la reducción de los niveles de leptina. Sin embargo, ventajosamente, en combinación con el resto de ingredientes de la composición de la invención, proporciona una inesperada y estadísticamente significativa reducción de los niveles en sangre de esta hormona que, a la vez, se asocian a una reducción del peso corporal, del índice de adiposidad y de la tensión arterial (ver Tablas 1-4).
- 5
- 10 En una realización particular según una cualquiera de las realizaciones anteriores, el HPP comprende los péptidos de secuencia SEC ID N° 1 (QVGPLIGRYCG) y SEC ID N° 2 (AVFQHNCQE). En una realización particular, el HPP se obtiene de polvo de pata de pollo solubilizado en agua y calentado a 100°C durante 1,5 h a pH 7,5 y posteriormente hidrolizado con Protamex® a 50°C durante 2h a pH 7. En una realización preferente, el HPP es el
- 15 hidrolizado 1 de pata de pollo descrito en la solicitud de patente ES 2606954 A1. Como se muestra en los ejemplos, el uso individual de este ingrediente no tiene un efecto estadísticamente significativo en la reducción de los niveles de leptina en sangre (ver Tabla 1).
- 20 En una realización particular según una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición comprende 25 mg-500 mg, preferentemente 25 mg-150mg, del extracto de antocianinas; o 10 mg-250 mg, preferentemente 10 mg-100 mg, del extracto de proantocianidinas; o 50 mg-500 mg, preferentemente 50 mg-200 mg, de ácido linoleico conjugado; o 10 mg-500 mg, preferentemente 30 mg-100 mg, del HPP. Preferentemente, la
- 25 composición comprende 25 mg-500 mg del extracto de antocianinas; 10 mg-250 mg del extracto de proantocianidinas; 50 mg-500 mg de ácido linoleico conjugado; y 10 mg-500 mg del HPP. Más preferentemente, la composición comprende 25 mg-150 mg, más preferentemente aún 100 mg, del extracto de antocianinas; 10 mg-100 mg, más preferentemente aún 55 mg, del extracto de proantocianidinas; 50 mg-200 mg, más
- 30 preferentemente aún 100 mg, de ácido linoleico conjugado; y 30 mg-100 mg, más preferentemente aún 25 mg, del HPP. Ventajosamente, composiciones con estas cantidades de los distintos componentes han demostrado ser efectivas en la reducción de los niveles de leptina en sangre, en la reducción del peso corporal y del índice de adiposidad, y en la reducción de la tensión arterial. Además, han demostrado ser efectivas en mejorar la
- 35 sensibilidad a la leptina.

En una realización particular según una cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición no comprende polifenoles de regaliz y/o cafeína y/o fitoncida.

5 La composición de la presente invención puede incorporarse en productos alimenticios, suplementos alimenticios, bebidas y puede usarse en la elaboración de productos farmacéuticos. Así, en un segundo aspecto, la invención se refiere a un medicamento, un suplemento o complemento alimenticio, una bebida o un producto alimenticio, preferentemente un producto alimenticio funcional, que comprende la composición según una cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención.

10

El suplemento o complemento alimenticio se refiere a cualquier componente alimenticio que proporciona componentes nutritivos o medicinales específicos y no proporciona el valor energético completo requerido (es decir, generalmente menos que 2.000 o 2.500 kcal/día) e incluye suplementos alimenticios en forma de polvo o comprimidos, al igual que productos dietéticos, tales como bebidas dietéticas. También están incluidos ingredientes que se pueden añadir al alimento antes de su consumo o una preparación que puede ser consumida como tal.

15

Para uso en un medicamento o suplemento alimenticio, la composición de la invención, según una cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, se puede combinar con cualquier portador, diluyente, adyuvante, excipiente, etc. adecuado, para obtener el medicamento o suplemento en la forma de administración deseada. Es decir, el medicamento o suplemento alimenticio comprende la composición según una cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención y un portador, diluyente, adyuvante, excipiente farmacéuticamente o fisiológicamente aceptable. Así, pueden presentarse en cualquier forma de administración, sólido o líquido, y administrarse por cualquier vía apropiada, oral, respiratoria, rectal o tópica. Ventajosamente, dicha composición, medicamento o suplemento alimenticio se administra por vía oral. Ejemplos de dichas formulaciones, que pueden ser preparadas usando métodos y excipientes bien conocidos, tales como los descritos en, "Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook" Mack Pub. Co., N.Y. U.S.A., son comprimidos, cápsulas, jarabes y similares para administración oral, mientras que para administración parental las formas adecuadas son soluciones estériles o suspensiones en líquidos aceptables, implantes, etc. Ejemplos preferidos de excipientes son celulosa microcristalina, goma xantana, estearato de magnesio, dióxido de silicio y combinaciones de los mismos.

20

25

30

35

Para uso en una bebida o producto alimenticio, la composición de la invención, o sus componentes, según el primer aspecto de la invención se puede combinar con cualquier ingrediente alimenticio común. El término "bebida" pretende incluir líquidos y jarabes, al igual que formulaciones en polvo para ser disueltas en agua u otro componente líquido para la
5 preparación de bebidas instantáneas.

La composición de la invención, o los medicamentos, suplementos alimenticios, bebidas o productos alimenticios que la comprenden, sirven para, entre otros, reducir el peso corporal y la tensión arterial, tratando así la obesidad, sobrepeso e hipertensión. Así, en un tercer
10 aspecto, la presente invención se refiere a una composición según una cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, para su uso en medicina o terapia. Igualmente, se refiere al uso de una composición según una cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, para la preparación de un medicamento.

15 Asimismo, en un cuarto aspecto, la presente invención se refiere al uso de una composición según una cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, para la preparación de un medicamento, un suplemento alimenticio, una bebida o un producto alimenticio para el tratamiento de obesidad, sobrepeso y/o hipertensión.

20 El cuarto aspecto de la invención se refiere también a una composición según una cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, para su uso en el tratamiento de obesidad, sobrepeso y/o hipertensión.

La definición dada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para obesidad, sobrepeso
25 e hipertensión es aplicable en la presente invención. Actualmente, la OMS define el sobrepeso como un índice de masa corporal (IMC) igual o superior a 25, mientras que define la obesidad como un IMC igual o superior a 30. De igual manera define hipertensión como valores iguales o superiores a 130 mmHg de sistólica y/o iguales o superiores a 80 mmHg de diastólica.

30 Además, el cuarto aspecto de la invención se refiere a un método de tratamiento de obesidad, sobrepeso y/o hipertensión en un sujeto (mamífero, preferentemente humano), que comprende la administración, preferentemente de una cantidad terapéuticamente efectiva, a dicho sujeto de una composición según una cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención o de un medicamento, suplemento alimenticio, bebida o producto alimenticio
35 según el segundo aspecto de la invención. En una realización preferente, la administración se lleva a cabo por vía oral.

En una realización particular según uno cualquiera de los tres párrafos anteriores del cuarto aspecto de la presente invención, el tratamiento es el tratamiento de obesidad o sobrepeso. En otra realización particular según uno cualquiera de los tres párrafos anteriores del cuarto aspecto de la presente invención, el tratamiento es el tratamiento de hipertensión.

5

La composición de la presente invención se puede combinar con otros tratamientos de estas patologías. Así, en un quinto aspecto, la invención se refiere a una composición según una cualquiera de las realizaciones del primer aspecto de la invención, para su uso como coadyuvante en el tratamiento de obesidad, sobrepeso y/o hipertensión.

10

Igualmente, el quinto aspecto se refiere a un método de tratamiento de obesidad, sobrepeso y/o hipertensión en el que la composición de la invención se administra como adyuvante a un sujeto. También se refiere al uso de la composición de la invención para preparar un coadyuvante para el tratamiento de obesidad, sobrepeso y/o hipertensión.

15

En cuanto a cualquiera de las realizaciones del cuarto y quinto aspecto de la invención, la posología dependerá de varios factores tales como peso del sujeto, sexo, tipo y gravedad de las condiciones a ser tratadas, etc. Preferiblemente, la composición de la invención se administra a una dosis tal que permite que la dosis de cada uno de sus componentes sea de 20 25 mg por día y por kg del sujeto al que se le administran (mg/kg/día) a 500 mg/kg/día del extracto de antocianinas; de 10 mg/kg/día a 250 mg/kg/día del extracto de proantocianidinas; de 50 mg/kg/día a 500 mg/kg/día de ácido linoleico conjugado; y de 10 mg/kg/día a 500 mg/kg/día del HPP. Más preferentemente, la composición se administra de manera que la dosis sea de 25 mg/kg/día a 150 mg/kg/día, más preferentemente aún 100 mg/kg/día, del 25 extracto de antocianinas; de 10 mg/kg/día a 100 mg/kg/día, más preferentemente aún 55 mg/kg/día, del extracto de proantocianidinas; de 50 mg/kg/día a 200 mg/kg/día, más preferentemente aún 100 mg/kg/día, de ácido linoleico conjugado; y de 30 mg/kg/día a 100 mg/kg/día, más preferentemente aún 25 mg/kg/día, del HPP.

30

Ventajosamente, como se ha demuestra en los ejemplos, la administración de estas dosis ha demostrado ser efectivas en la reducción de los niveles de leptina en sangre y en la mejora de la sensibilidad a leptina, resultando en una reducción del peso corporal y del índice de adiposidad, y en una reducción de la tensión arterial.

35

EJEMPLOS

Con la intención de mostrar la presente invención de un modo ilustrativo, aunque en ningún modo limitante, se aportan los siguientes ejemplos:

5 EJEMPLO 1

Efecto de la composición de la presente invención (MIX) sobre los niveles de leptina en sangre y la sensibilidad a leptina.

1.1.- Niveles de leptina

Para evaluar el efecto de la composición de la invención y de cada uno de sus ingredientes por separado sobre los niveles de leptina, se utilizaron ratas macho Wistar alimentadas durante 12 semanas con una dieta de cafetería (CAF) compuesta por un 35% de grasas y un 51% de carbohidratos. A partir de la novena semana de dieta de cafetería, los animales fueron distribuidos en grupos diferentes, con un mínimo de 6 animales en cada grupo, a los que se les administró específicamente una dosis oral diaria de MIX, o de cada uno de sus ingredientes por separado. En concreto, se administró extracto de proantocianidinas (PRO, producto comercial Vitaflavan®) a una dosis de 25 mg/kg/día, hidrolizado de pata de pollo (HPP, hidrolizado 1 de pata de pollo descrito en la solicitud española de patente ES 2606954 A1) a una dosis de 55 mg/kg/día, ácido linoleico conjugado (ALC, producto comercial Tonalin®) a una dosis de 100 mg/kg/día, o extracto de antocianos (ANT, producto comercial MEDOX®) a una dosis de 100 mg/kg/día junto con la dieta de la cafetería durante 3 semanas. El MIX comprende PRO, HPP, ALC y ANT y se administró una dosis oral diaria que proporcionaba 25 mg/kg/día de PRO, 55 mg/kg/día de HPP, 100 mg/kg/día de ALC y 100 mg/kg/día de ANT. Salvo indicación en contrario, todas las dosis indicadas en estos ejemplos se dan en relación al peso corporal del animal.

Las concentraciones en sangre de leptina se midieron por triplicado en las muestras de plasma de los animales mediante kits ELISA de la casa Millipore (Madrid, España). El plasma se obtuvo por centrifugación (1.500 x g durante 15 min a 4°C) de sangre periférica al final del periodo experimental (semana 12) y fue almacenado a -80°C hasta el momento de su utilización. Además, para evaluar la activación de las neuronas anorexigénicas, productoras de péptidos inhibidores del apetito, el hipotálamo de los animales fue extirpado y almacenado inmediatamente en nitrógeno líquido hasta su evaluación (ver más adelante).

La composición de la presente invención (MIX) mostró una reducción estadísticamente significativa de los niveles plasmáticos de leptina tras su administración diaria durante 3 semanas (**Tabla 1**). En concreto, la composición de la presente invención redujo más del 32%

el nivel de leptina en sangre. Así mismo, las concentraciones plasmáticas de leptina tras la administración de los componentes de la composición por separado a las mismas concentraciones en las que se encuentran en el MIX, solo se vieron tímidamente reducidas de manera estadísticamente no significativa en los animales que tomaron PRO, ALC o ANT, siendo en los tres casos, un porcentaje mucho menor al observado con el MIX. Además, la administración de HPP produjo un aumento en los niveles de leptina.

En la Tabla 1 los datos representan la media \pm SEM del porcentaje de reducción respecto al control de los niveles de leptina en sangre de los animales tratados durante 3 semanas con el MIX o con cada uno de sus ingredientes por separado.

Tabla 1.- Porcentaje de reducción de los niveles de leptina en sangre.

MIX	PRO	ALC	ANT	HPP
-32,7 \pm 5,1*	-16,8 \pm 4,3	-18,1 \pm 2,1	-14,7 \pm 6,8	+4,2 \pm 0,2

* indica $p < 0,05$

Sorprendentemente, la composición tiene un efecto sinérgico en cuanto a la bajada de los niveles de leptina en sangre. Los resultados de la Tabla 1 demuestran que los ingredientes únicamente son capaces de reducir los niveles de leptina en sangre de forma estadísticamente significativa cuando se encuentran combinados en una única mezcla (composición de la invención), y no cuando se administran de forma individual. Por lo tanto, estos resultados indican que la composición de la invención puede tener un papel clave en la regulación de la señalización de la leptina, y consecuentemente, puede tener un efecto muy beneficioso en el control del peso corporal y/o en la regulación de otras patologías relacionadas con la obesidad y con los niveles de leptina como la hipertensión arterial.

25 1.2.- Sensibilidad a leptina

En los animales control y en aquellos animales a los que durante las 3 semanas se les había administrado el MIX también se determinó la sensibilidad a la leptina a nivel hipotalámico. Para ello, se realizó, un análisis por inmunofluorescencia en hipotálamo con un anticuerpo monoclonal específico de neuronas anorexigénicas, productoras de péptidos inhibidores del apetito (neuronas ACTH, en rojo en la Figura 1), y con un segundo anticuerpo monoclonal específico para evaluar si la vía de señalización de la leptina está activada en las neuronas ACTH (anticuerpo anti-STAT3 fosforilado o pSTAT3, en verde en la Figura 1).

Los resultados mostraron un incremento muy significativo del número de neuronas anorexigénicas (positivas para el anticuerpo anti-ACTH) que presentaban la vía de señalización de la leptina activa (neuronas positivas para el anticuerpo anti-STAT3p) en los animales tratados con la composición de la presente invención (MIX) respecto a los animales control (**Figura 1**). Así, se demuestra la capacidad de la composición de la presente invención de recuperar la sensibilidad a la leptina a nivel hipotalámico, y consecuentemente, de activar las células neuronales encargadas de la regulación del peso corporal. Esto supone una gran ventaja de la composición de la presente invención ya que al influir en las neuronas anorexigénicas puede regular la ganancia/pérdida de peso, proporcionando así un efectivo sistema de control del peso corporal, lo que se traduce en una composición útil para el tratamiento de la obesidad y el sobrepeso.

EJEMPLO 2

Efecto de la composición de la presente invención (MIX) sobre el peso y la adiposidad corporal

2.1.- Peso corporal

Para evaluar el efecto del MIX sobre el incremento de peso de los animales, se realizó el mismo ensayo que en el Ejemplo 1 y se monitorizó el peso semanalmente hasta el final del periodo experimental (i.e. hasta el final de las 3 semanas de tratamiento). Como se puede ver en la **Figura 2**, los resultados muestran como los animales tratados con la composición de la invención (MIX) presentan una reducción estadísticamente significativa (superior al 7%) de la ganancia de peso corporal inducida por la dieta de cafetería. De manera interesante, dicha reducción se observa a partir de la segunda semana de tratamiento (semana 11 y 12 del experimento) a pesar de que los animales siguen consumiendo diariamente la dieta de cafetería que es obesogénica. Estos resultados, correlacionan perfectamente tanto con el aumento de la sensibilidad a la leptina en las células hipotalámicas como con la reducción de los niveles de leptina en sangre mostrados en el Ejemplo 1.

Asimismo, cuando se evaluó el peso corporal de los animales en la semana 12 de experimento, ninguno de los componentes de la composición de la invención por separado presentó una reducción significativa del peso corporal como la observada en los animales que tomaron el MIX (**Tabla 2**).

En la Tabla 2 los datos representan la media \pm SEM del porcentaje de reducción respecto al control del peso corporal en la semana 12 del experimento de animales al control de los niveles de leptina en sangre de los animales tratados durante 3 semanas con el MIX o con cada uno de sus ingredientes por separado.

5

Tabla 2.- Porcentaje de reducción del peso corporal al final del experimento (12 semanas).

MIX	PRO	ALC	ANT	HPP
-7,4 \pm 0,3*	+3,8 \pm 0,1	-0,9 \pm 0,1	+3,4 \pm 0,01	+1,9 \pm 0,1

* indica $p < 0,05$

Como se puede ver en la Tabla 2, existe una sinergia en la composición de la presente invención en cuanto a la reducción del peso corporal. De hecho, tres de los cuatro ingredientes de la composición provocan un aumento en el peso corporal, y a pesar de esto, la composición de la invención logra una reducción significativa del peso corporal de más del 7 %. De nuevo, se vuelve a mostrar que los ingredientes de la composición tienen única y exclusivamente un efecto en la reducción del peso corporal cuando se administran de forma simultánea combinados en una única composición, y no cuando se administran de forma individual. una

10

15

2.1.- Índice de adiposidad

En estos mismos animales también se evaluó el efecto del MIX y de sus ingredientes por separado sobre el índice de adiposidad, es decir, el porcentaje de masa total del cuerpo que está compuesto de grasa. Este índice es un indicador de obesidad muy utilizado en estudios en animales y se calcula como la suma total de los pesos de los diferentes tejidos adiposos de cada animal expresados como porcentaje respecto el peso corporal total del animal.

20

25

Los resultados se muestran en la Tabla 3, en la que se representa la media \pm SEM del porcentaje de reducción respecto a su control del índice de adiposidad en la semana 12 del experimento de animales tratados con el MIX o con cada uno de sus ingredientes por separado.

Tabla 3.- Porcentaje de reducción del índice de adiposidad.

MIX	PRO	ALC	ANT	HPP
-13,1 \pm 1,7*	+10,7 \pm 2,7	-4,7 \pm 0,2	-7,9 \pm 2,1	-7,8 \pm 0,3

30

* indica $p < 0,05$

Como se ve en la Tabla 3, los resultados muestran claramente como la administración del MIX durante 3 semanas produce una reducción muy evidente en el índice de adiposidad (superior al 13%) en los animales que tomaron el MIX. Asimismo, este efecto beneficioso no se observó en ninguno de los ingredientes administrados de forma individual, indicando de nuevo la capacidad de los ingredientes del MIX en reducir el peso y la grasa corporal de animales que se encuentran en un ambiente obesogénico, única y exclusivamente cuando se administran en una única mezcla y dosis, y no cuando se administran de forma individual.

Ejemplo 3: Efecto de la composición de la presente invención (MIX) sobre la presión arterial.

3.1.- Presión arterial con obesidad

Para evaluar el efecto antihipertensivo del MIX, la presión arterial (sistólica y diastólica) fue monitorizada manualmente una vez por semana hasta el final del periodo experimental. El diseño experimental fue el mismo que el del Ejemplo 1.

La **Figura 3** muestra el efecto antihipertensivo del MIX tras su administración crónica durante 3 semanas. Como se puede observar, el MIX reduce la presión arterial sistólica de los animales desde la primera semana de administración, y tiende a seguir bajándola aún más a medida que pasan las semanas de tratamiento a pesar de que los animales siguen consumiendo diariamente la dieta de cafetería, la cual en los animales control sigue subiendo la presión arterial.

3.2.- Presión arterial sin obesidad

Adicionalmente, para corroborar estos efectos antihipertensivos, se realizó otro estudio en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) en el que se testaron los diferentes ingredientes del MIX por separado y el MIX en administración aguda (una única dosis) y se evaluó el efecto antihipertensivo a diferentes horas post-administración (**Tabla 4**). El MIX fue el único tratamiento que produjo una reducción significativa de la presión arterial sistólica a las 2 h después de su administración y mantuvo esta reducción hasta las 8 h después de su administración. Ninguno de los ingredientes de MIX por separado mostró este efecto antihipertensivo a las 2h post-administración.

Los resultados se muestran en la Tabla 4, en la que se representa la media \pm SEM del porcentaje de reducción respecto a su control de la presión arterial sistólica determinada en ratas SHR después de la administración aguda del MIX o de cada uno de sus ingredientes por separado.

Tabla 4.- Porcentaje de reducción de la presión arterial sistólica 2h después del tratamiento.

MIX	PRO	ALC	ANT	HPP
-10,2 ± 0,9*	+0,5 ± 0,1	-3,9 ± 0,3	-3,9 ± 0,9	-4,9 ± 0,3

* indica $p < 0,05$

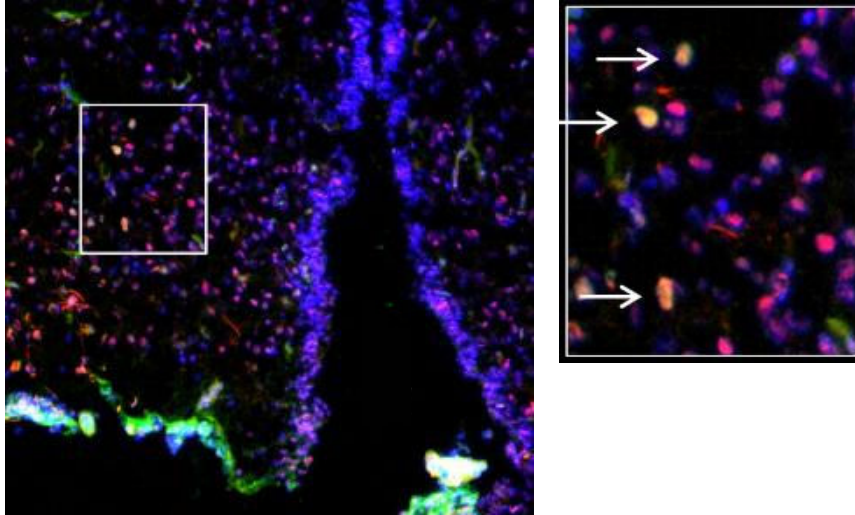
- 5 Así, en este ensayo se ve que la composición de la presente invención reduce la presión arterial tanto en animales obesos (Figura 3) como en animales no obesos (Tabla 4, ratas hipertensas). Esto supone una gran ventaja ya que así, la composición de la presente invención sirve tanto para el tratamiento de la hipertensión asociada a obesidad como de la hipertensión no asociada a obesidad. Además, otra ventaja de la composición de la presente
- 10 invención es que no reduce la presión arterial en animales normotensos (datos no mostrados).

REIVINDICACIONES

- 1.- Composición caracterizada porque comprende:
- a) un extracto de antocianinas;
 - 5 b) un extracto de proantocianidinas;
 - c) ácido linoleico conjugado; y
 - d) un hidrolizado de pata de pollo (HPP), que comprende los péptidos de secuencia SEC ID N° 1 (QVGPLIGRYCG) y/o SEC ID N° 2 (AVFQHNCQE).
- 10 2.- Composición según la reivindicación 1, donde el extracto de antocianinas comprende antocianinas de grosellas negras (*Ribes nigrum L.*) y/o de arándanos (*Vaccinium myrtillus*).
- 3.- Composición según la reivindicación 1 o 2, donde el extracto de antocianinas comprende al menos un 25% de 3-O-glucósido de cianidina y al menos un 50% de 3-O-glucósido de delfinidina.
- 15 4.- Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el extracto de proantocianidinas es un extracto de proantocianidinas de semillas de uva.
- 20 5.- Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el extracto de proantocianidinas comprende 18%-25% de procianidinas monoméricas, 18%-25% de procianidinas diméricas, 15%-20% de procianidinas triméricas, 35%-45% de procianidinas oligoméricas, y 1%-2% de ácidos fenólicos.
- 25 6.- Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde la composición comprende 25 mg-500 mg del extracto de antocianinas.
- 7.- Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde la composición comprende 10 mg-250 mg del extracto de proantocianidinas.
- 30 8.- Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde la composición comprende 50 mg-500 mg de ácido linoleico conjugado.
- 9.- Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, donde la composición comprende 10 mg-500 mg del HPP.
- 35

- 10.- Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, donde la composición comprende 25 mg-500 mg del extracto de antocianinas; 10 mg-250 mg del extracto de proantocianidinas; 50 mg-500 mg de ácido linoleico conjugado; y 10 mg-500 mg del HPP.
- 5 11.- Composición según la reivindicación anterior, donde la composición comprende 25 mg-150 mg del extracto de antocianinas; 10 mg-100 mg del extracto de proantocianidinas; 50 mg-200 mg de ácido linoleico conjugado; y 30 mg-100 mg del HPP.
- 12.- Medicamento, suplemento alimenticio, bebida o producto alimenticio caracterizado porque comprende una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11.
- 10 13.- Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 para su uso en medicina.
- 14.- Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, para su uso en el
- 15 tratamiento de obesidad, sobrepeso y/o hipertensión.
- 15.- Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, para su uso como coadyuvante en el tratamiento de obesidad, sobrepeso y/o hipertensión.
- 20 16.-Composición para su uso según la reivindicación 14 o 15, donde el uso es en el tratamiento de obesidad o sobrepeso.
- 17.- Composición para su uso según la reivindicación 14 o 15, donde el uso es en el
- 25 tratamiento de hipertensión.

A



B

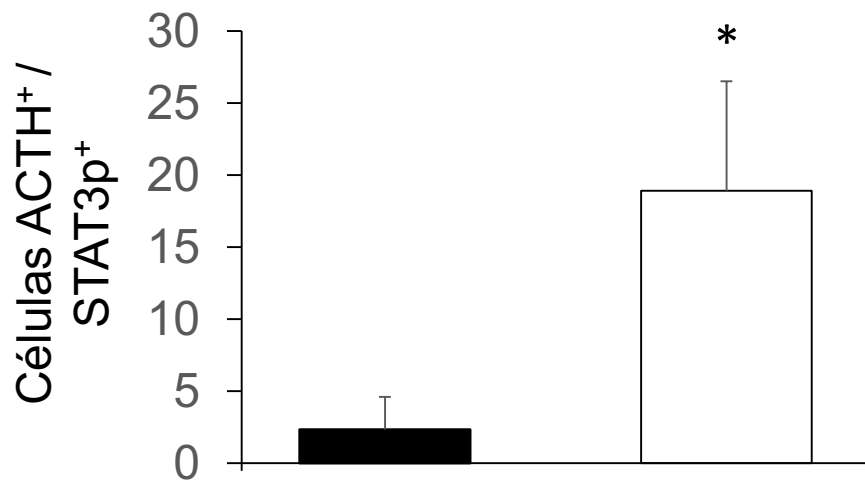


FIG. 1

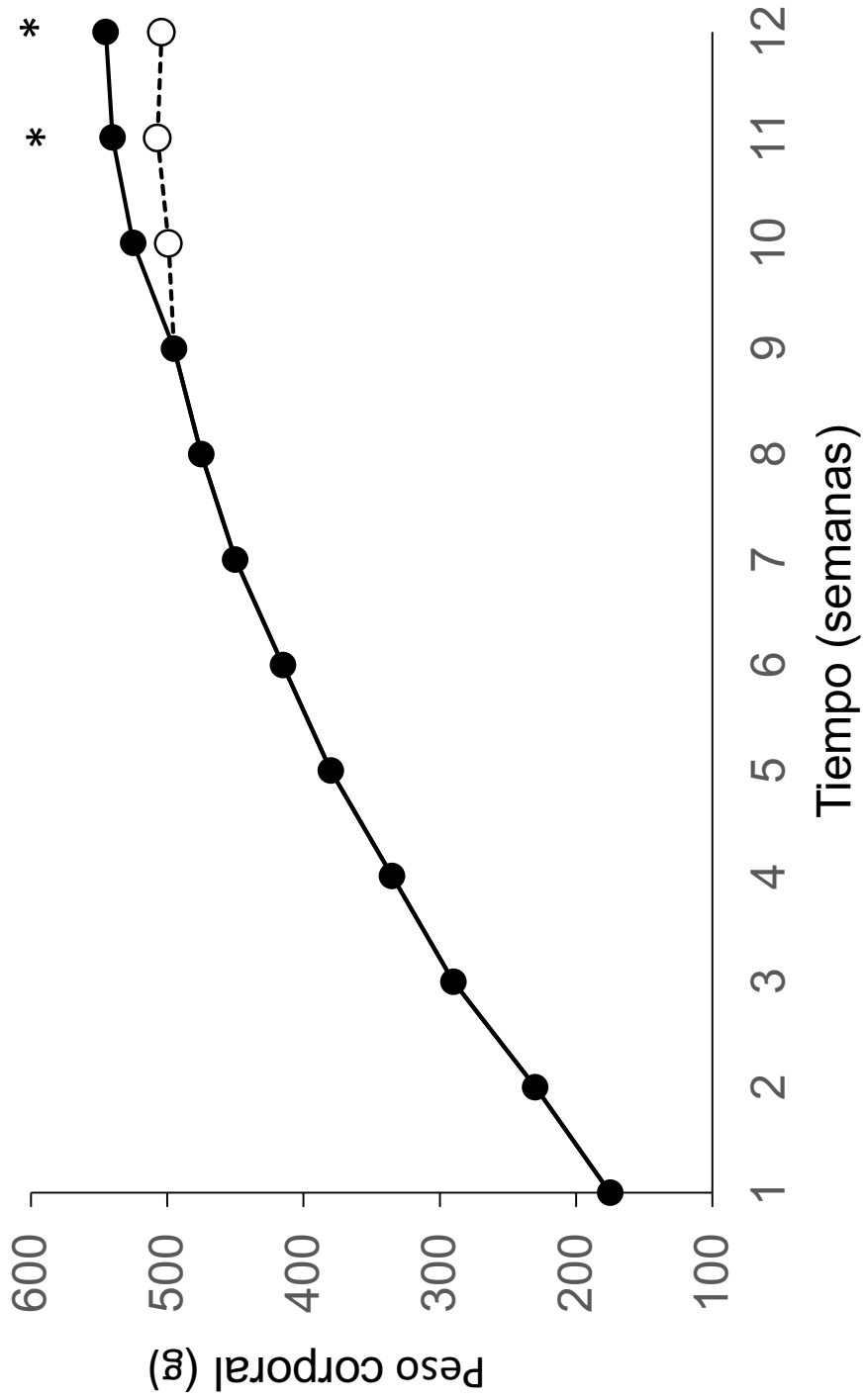


FIG. 2

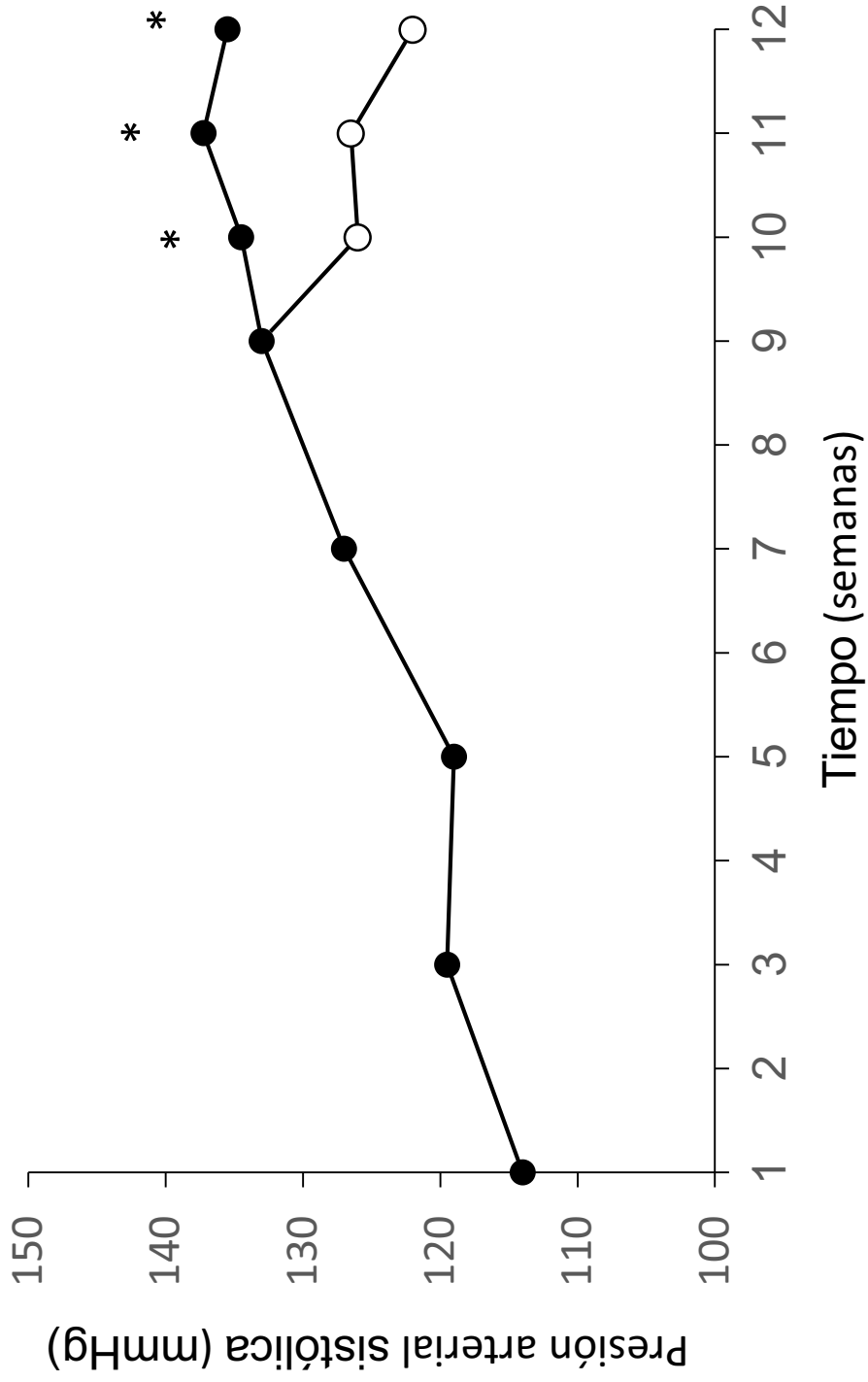


FIG. 3