

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 835 874**

(51) Int. Cl.:

C07D 455/03 (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.07.2015 PCT/CN2015/085350**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **04.02.2016 WO16015634**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.07.2015 E 15826295 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.09.2020 EP 3174874**

(54) Título: **Sales de berberina, sales ursodesoxicólicas y combinaciones, procedimientos de preparación y aplicación de las mismas**

(30) Prioridad:

**29.07.2014 US 201462030140 P
29.07.2014 US 201462030147 P
04.03.2015 US 201562128077 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.06.2021

(73) Titular/es:

**SHENZHEN HIGHTIDE BIOPHARMACEUTICAL LTD. (100.0%)
No. 21 Langshan Road, Suite 0702, North of High-Tech Park, Nanshan Shenzhen, Guangdong 518057, CN**

(72) Inventor/es:

LIU, LIPING

(74) Agente/Representante:

GARCÍA-CABRERIZO Y DEL SANTO, Pedro María

ES 2 835 874 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

Sales de berberina, sales ursodesoxicólicas y combinaciones, procedimientos de preparación y aplicación de las mismas

5 **Campo técnico de la invención**

La invención se refiere en general a nuevos compuestos terapéuticos, composiciones farmacéuticas y procedimientos de preparación y uso terapéutico de los mismos.

10 En particular, la invención se refiere a nuevas composiciones de berberina en combinación con ácidos orgánicos farmacológicamente activos y a procedimientos para su uso. En particular, la invención también se refiere a nuevas sales de berberina y ácidos orgánicos y nuevas sales de ácido ursodesoxicólico y bases orgánicas, sus 15 composiciones farmacéuticas y sus procedimientos de uso. Los compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención resultan útiles en el tratamiento y/o la prevención de diversas enfermedades o trastornos, incluyendo enfermedades o trastornos metabólicos tales como prediabetes, diabetes, complicaciones diabéticas, dislipidemia, dislipidemia en pacientes con intolerancia a las estatinas, hiperlipidemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, dislipidemia diabética u obesidad. Además, los compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención son 20 útiles resultan útiles en el tratamiento y/o la prevención de la aterosclerosis, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, sarcopenia, atrofia muscular, inflamación, cánceres, así como diversas enfermedades o 25 trastornos hepáticos, tales como hígado graso, enfermedad del hígado graso no alcohólico, esteatohepatitis no alcohólica, enfermedades hepáticas colestásicas o enfermedad de injerto contra huésped del hígado. Además, los compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención son útiles para mejorar las funciones hepáticas en enfermedades hepáticas crónicas asociadas a virus y enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol.

25 **Antecedentes de la invención**

La diabetes mellitus es un trastorno del metabolismo. Se ha convertido en una pandemia y se estima que hay más de 300 millones de personas en todo el mundo que viven con diabetes en la actualidad. Sin una prevención eficaz, 30 este número aumentará a 500 millones en 2030. Hay tres tipos principales de diabetes: diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 y diabetes gestacional. Entre ellas, la diabetes tipo 2, es la forma más común de diabetes y representa el 90-95 % de los casos. La diabetes tipo 2 se caracteriza por una secreción deficiente de insulina, una mayor producción de glucosa hepática y una menor respuesta de los tejidos periféricos a la insulina, es decir, resistencia a la insulina. Se dispone de muchos tratamientos terapéuticos para el tratamiento de la diabetes de tipo 2, pero a menudo conllevan 35 asociados varios efectos secundarios. Una terapia óptima debe ser segura e incluir el inicio temprano de fármacos combinados con mecanismos de acción complementarios.

A pesar de los esfuerzos persistentes y el progreso significativo durante las últimas décadas en la comprensión y la gestión de la diabetes, las personas con diabetes continúan teniendo un mayor riesgo de padecer, y muchas 40 padecen, una serie de complicaciones graves que afectan al corazón y a los vasos sanguíneos, los ojos, los riñones y los nervios debido a niveles altos de glucosa en sangre, colesterol alto y presión arterial alta. Las enfermedades cardiovasculares son la causa más común de muerte en personas con diabetes. La nefropatía diabética causada por daños en los pequeños vasos sanguíneos del riñón conduce a una disminución de la función renal o a una insuficiencia renal total. La neuropatía diabética es causada por daños en los nervios de todo el cuerpo cuando el 45 nivel de glucosa en sangre y la presión arterial son demasiado altos. La mayoría de las personas con diabetes desarrollan retinopatía diabética que causa reducción de la visión o ceguera. Los niveles constantemente altos de glucosa en sangre, junto con la presión arterial alta y el colesterol alto, son las principales causas de la retinopatía diabética. A pesar del desarrollo de una serie de agentes antidiabéticos, existen importantes necesidades terapéuticas no satisfechas que se pueden utilizar de forma eficaz para el tratamiento y la gestión de las 50 complicaciones de la diabetes.

El síndrome metabólico es una expresión que se refiere a un grupo de factores de riesgo que ocurren juntos (por ejemplo, obesidad abdominal (central), presión arterial elevada, glucosa plasmática en ayunas elevada, triglicéridos séricos altos y niveles bajos de colesterol de alta densidad (HDL)). Se ha demostrado que el síndrome metabólico incrementa el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares, en particular insuficiencia cardíaca y diabetes. Los estudios han estimado que la prevalencia de síndromes metabólicos en los Estados Unidos es de alrededor del 34 % en la población adulta. Si bien existen terapias disponibles, el tratamiento de primera línea es el cambio de estilo de vida. Las estatinas en dosis altas, recomendadas para reducir los riesgos cardiovasculares, se han relacionado con una mayor progresión a la diabetes, especialmente en pacientes con síndrome metabólico.

60 La dislipidemia es un trastorno del metabolismo de las lipoproteínas, que incluye la sobreproducción (hiperlipidemia) o la deficiencia de lipoproteínas. Las dislipidemias pueden manifestarse por la elevación del colesterol total, el colesterol de lipoproteínas de baja densidad "malo" y las concentraciones de triglicéridos, y una disminución de la concentración de colesterol de lipoproteínas de alta densidad "bueno" en la sangre. La dislipidemia se considera en muchas situaciones, incluida la diabetes, una causa común de dislipidemia. La hiperlipidemia es la elevación del colesterol plasmático (hipercolesterolemia), triglicéridos (hipertrigliceridemia) o ambos, o un nivel bajo de 65

- lipoproteínas de alta densidad que contribuye al desarrollo de la aterosclerosis. Las causas pueden ser primarias (genéticas) o secundarias. El diagnóstico se realiza midiendo los niveles plasmáticos de colesterol total, TG y lipoproteínas individuales. El tratamiento incluye cambios en la dieta, ejercicio y medicamentos para reducir los lípidos.
- 5 La enfermedad cardiovascular (CV), que a menudo se usa indistintamente con el término "enfermedad cardíaca", se refiere a una variedad de afecciones que afectan al corazón, como enfermedad de las arterias coronarias, arritmias, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad cerebrovascular, etc. puede prevenirse o tratarse con opciones de estilo de vida saludables, controlando afecciones como la aterosclerosis, la presión arterial alta, la diabetes o la obesidad con una variedad de medicamentos como antiagregantes plaquetarios, anticoagulantes, digitálicos, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), betabloqueantes y agentes reductores del colesterol LDL, etc. Debido a la comorbilidad, los pacientes a menudo necesitan tomar múltiples medicamentos, y sería deseable que una pastilla pudiera tratar múltiples anomalías.
- 10 15 Con capacidad demostrada para prevenir enfermedades cardiovasculares, las estatinas se encuentran entre uno de los medicamentos más recetados. Aunque las estatinas son generalmente bien toleradas, la intolerancia a las estatinas se da en algunos pacientes y requiere una cuidadosa consideración. Además, a los pacientes a veces les preocupa el riesgo potencial de que las estatinas causen diabetes mellitus, cáncer y pérdida de memoria y, a menudo, se preguntan si deben continuar con su medicación. Para los pacientes intolerantes a las estatinas, se pueden usar fármacos que reducen el LDL-C que no son estatinas; sin embargo, hasta que se aprueben los inhibidores de PCSK9, ninguno de los fármacos aprobados ha resultado tan eficaz como las estatinas. Es muy necesario desarrollar terapias alternativas y eficaces para estos pacientes.
- 20 25 La enfermedad neurodegenerativa es un término genérico para una variedad de afecciones que afectan principalmente a las neuronas del cerebro humano. Las neuronas son los componentes básicos del sistema nervioso que incluye el cerebro y la médula espinal. Las neuronas normalmente no se reproducen ni se reemplazan a sí mismas cuando se dañan o mueren. Los ejemplos de enfermedades neurodegenerativas incluyen la enfermedad de Parkinson, Alzheimer y Huntington. Las enfermedades neurodegenerativas son afecciones incurables y debilitantes que provocan la degeneración progresiva y/o la muerte de las células nerviosas. Las necesidades médicas no satisfechas de las enfermedades neurodegenerativas exigen desesperadamente el desarrollo de terapias eficaces.
- 30 35 40 La atrofia muscular es una disminución de la masa muscular, que puede implicar un desgaste total o parcial del músculo. La atrofia muscular ocurre debido a cambios en el equilibrio entre la síntesis y la degradación de proteínas. La atrofia muscular puede afectar significativamente la calidad de vida de un paciente, ya que el paciente se vuelve incapaz de realizar ciertas tareas o corre el riesgo de sufrir accidentes (por ejemplo, caídas). La atrofia muscular está asociada con el envejecimiento y puede ser una consecuencia grave de diferentes enfermedades, como el cáncer, el sida y la diabetes. En comparación con los adultos mayores no diabéticos, los ancianos con diabetes tipo 2 tienen menor fuerza del músculo esquelético y, a menudo, se asocian con una pérdida excesiva de masa muscular esquelética. Actualmente, no existen medicamentos aprobados para el tratamiento de la atrofia del músculo esquelético.
- 45 50 55 La sarcopenia se caracteriza, en primer lugar, por atrofia muscular, junto con una reducción en la calidad del tejido muscular, caracterizada por factores tales como reemplazo de las fibras musculares por grasa, aumento de la fibrosis, cambios en el metabolismo muscular, estrés oxidativo y degeneración la unión neuromuscular y que conduce a la pérdida progresiva de la función muscular y a la fragilidad, actualmente, no existe una terapéutica aprobada para la sarcopenia.
- 55 60 65 El cáncer es un grupo de enfermedades que implican un crecimiento celular anormal con el potencial de invadir o diseminarse a otras partes del cuerpo. En 2012, se produjeron alrededor de 14 millones de nuevos casos de cáncer en todo el mundo. Los tipos más comunes de cáncer incluyen cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer colorrectal y cáncer de estómago en los hombres, y cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón y cáncer de cuello uterino en las mujeres. Si bien existen muchas opciones de tratamiento para el cáncer, que incluyen cirugía, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, terapia dirigida y cuidados paliativos, el cáncer sigue siendo una de las principales amenazas para la salud y es responsable de aproximadamente el 15 % de todas las muertes humanas.
- 65 70 75 El hígado graso es una afección reversible en la que se acumulan grandes vacuolas de grasa de triglicéridos en las células del hígado mediante el proceso de esteatosis. A pesar de tener múltiples causas, el hígado graso puede considerarse una enfermedad única que se presenta en todo el mundo en personas con una ingesta excesiva de alcohol y en obesos. La enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD, por sus siglas en inglés) es una forma de enfermedad del hígado graso que se produce cuando se deposita un exceso de grasa en el hígado de pacientes sin una ingesta excesiva de alcohol. Generalmente se reconoce que la NAFLD está asociada con el síndrome metabólico, como la resistencia a la insulina, la hipertensión y la obesidad. La NAFLD afecta aproximadamente a un tercio de la población adulta en los países desarrollados. La esteatohepatitis no alcohólica (NASH, por sus siglas en inglés) es la forma más extrema de NAFLD con inflamación crónica que puede provocar fibrosis progresiva (cicatrización), cirrosis y, finalmente, insuficiencia hepática y muerte. La NASH se parece a la enfermedad hepática

alcohólica, pero se presenta en personas que beben poco o nada de alcohol. Una característica importante de NASH es la grasa en el hígado, junto con la inflamación y el daño. La mayoría de las personas con NASH, una enfermedad hepática a menudo "silenciosa", se sienten bien y no son conscientes de que tienen un problema hepático. Sin embargo, la NASH puede ser grave y provocar cirrosis, cuando el hígado está permanentemente dañado y con cicatrices y ya no funciona correctamente.

Actualmente, no hay medicamentos aprobados para el tratamiento de la NASH, que ocurre en aproximadamente una cuarta parte de los pacientes con NAFLD. El estándar actual de atención para la NASH implica la pérdida de peso y un aumento de las actividades físicas. La NASH afecta al 2-5 % de los estadounidenses y se está volviendo más común, posiblemente debido a la mayor cantidad de estadounidenses con obesidad. En los últimos 10 años, la tasa de obesidad se ha duplicado en los adultos y se ha triplicado en los niños.

PP Basu y col.: "P853 Berberine with alfa lipoic acid (ALA) in a non-alcoholic steato hepatitis (NASH), a randomized double blinded placebo control trial. A clinical pilot-the banish trial", Journal of Hepatology, vol. 60, n.º 1, 1 de abril de 2014, págs. S356-79233; documento US 2013/273175 A1 (Finley Jahahreeh [Estados Unidos]); documento WO 2006/029577 A1 (Emy of Medical Sciences Inst O [CN], Base de datos WPI, Semana 201158, Thomson Scientific, Londres, GB; documentos AN 2011-H91123 y CN 102 078 418 A (Univ Guangdong Pharm), 1 de junio de 2011; "Berberine Support / Wellness Works - Pharmacy Care. Naturally" 1 de abril de 2014, extraído de Internet: URL:<https://web.archive.org/web/20140401013834/http://www.wellness-works.com/blog/2013/12/06berberine-support/>; documento WO 2014/183184 A1 (Univ Prince Edward Island [CA]); e Inder Pal Singh y col.: "Berberine and its derivatives: a patent review (2009-2012)", Expert Opinion on therapeutic Patents, vol. 23, n.º 2, 12 de diciembre de 2012, págs. 215-231 describen combinaciones de berberina con una variedad de ácidos farmacéuticamente activos. Base de datos WPI, Semana 201220, Thomson Scientific, Londres, GB; documentos AN 2011-P6827 y CN 102 225 961 A (Li Q) describen un conjugado covalentemente unido de berberina con ácido ursodesoxicólico. Base de datos WPI, Semana 201317, Thomson Scientific, Londres, GB; documentos AN 2013-A79535 y CN 102702190 A (Northeast Pharm Group Co Ltd) describe la sal de adición de ácido de berberina con ácido desoxicólico para el tratamiento de un trastorno metabólico. El documento FR 2 796 551 A1 (Lipha [Fr]) describe la sal de adición de metformina con ácido cólico para el tratamiento de un trastorno metabólico. Base de datos WPI, Semana 198540, Thomson Scientific, Londres, GB; documentos AN 1985-247079 y JP S60 163897 A (Tokyo Tanabe Co); documento EP 0 065 666 A1 (Erregierrie Spa [IT]); Base de datos WPI, Semana 200865, Thomson Scientific, Londres, GB; documentos AN 2008-K98208 y CN 101 070 337 A (Univ. Huazhong Sci & Technology); Base de datos WPI, Semana 200668, Thomson Scientific, Londres, GB; AN 2006-654339 y KR 2005 0081477 A (Chemgen Co Ltd); el documento EP 0 510 404 A1 (Alfa Wassermann Spa [IT]) describe sales de ursodesoxicólico con una variedad de agentes de base orgánicos farmacéuticamente activos. Los documentos CN 101 935 319 A (Univ Shaanxi Sci&Technology); CN 103 319 479 A (Wang Congpin. y col.); y CN 101 113 149 A (Univ Fudan) describen otras sales de adición de berberina. El documento EP 2 221 313 A1 (Prodotti chimici e alimentari SPA) describe sales de sodio y amonio de ácido disulfato-ursodesoxicólico. El documento CN 103 989 677 A (Univ China Pharm) describe dimetilen berberina. Siqin Gaowa y col.: "The research progress of pharmacological activity of berberine from coptis", Journal of Medicine & Pharmacy of Chinese Minorities, n.º 1, 31 de enero de 2014 págs. 49-51 revisa la utilidad de la berberina.

Las terapias y los procedimientos actualmente disponibles para el manejo de enfermedades o trastornos tales como diabetes, complicaciones diabéticas, dislipidemia, obesidad, síndromes metabólicos, prediabetes, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, NAFLD, NASH, atrofia muscular, inflamación y cánceres no son óptimos. Sigue existiendo una necesidad urgente y actual de terapias y procedimientos novedosos y mejorados para tratar tales enfermedades o trastornos.

Sumario de la invención

La invención se basa en parte en diversas composiciones novedosas de berberina en combinación con ácido ursodesoxicólico y en procedimientos de su uso relacionados para el tratamiento y/o la prevención de diversas enfermedades o trastornos.

La invención también se basa en parte en varios compuestos novedosos preparados a partir de berberina y ácido ursodesoxicólico, varios compuestos novedosos preparados a partir de ácido ursodesoxicólico y berberina, y composiciones farmacéuticas de los mismos, y procedimientos de su preparación y uso terapéutico en el tratamiento y/o la prevención de diversas enfermedades o trastornos.

Los compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención se pueden utilizar para tratar diversas enfermedades o trastornos, tales como diabetes, complicaciones diabéticas, dislipidemia, dislipidemia en pacientes con intolerancia a las estatinas, hiperlipidemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, dislipidemia diabética, obesidad, síndromes metabólicos, prediabetes, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, sarcopenia, atrofia muscular, inflamación y cánceres, así como diversas enfermedades o trastornos hepáticos, como hígado graso, enfermedad del hígado graso no alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica, enfermedades hepáticas colestásicas o enfermedad de injerto contra huésped del hígado. Los compuestos de la presente invención también

son útiles para mejorar las funciones hepáticas en enfermedades hepáticas crónicas asociadas a virus y enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol.

En el presente documento se describe una composición que comprende: (a) berberina o un derivado o análogo de la misma; (b) uno o más ácidos orgánicos farmacológicamente activos; y (c) opcionalmente un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. La berberina y el o los ácidos orgánicos farmacológicamente activos están presentes en cantidades que, cuando se administran a un sujeto, son suficientes para tratar, prevenir o reducir una o más enfermedades o trastornos seleccionados de entre trastornos metabólicos, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, atrofia, inflamación y cáncer, o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos en un mamífero, incluyendo el ser humano.

En el presente documento se describe un procedimiento para tratar, reducir o prevenir un trastorno metabólico. El procedimiento incluye administrar a un sujeto que lo necesite una composición farmacéutica, que incluye: (a) berberina o un derivado o análogo de la misma; (b) uno o más ácidos orgánicos farmacológicamente activos, en una cantidad terapéuticamente eficaz, y (c) opcionalmente un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento se describe un kit que incluye: (i) un primer agente de berberina o un derivado o análogo de la misma; (ii) uno o más segundos agentes seleccionados entre ácido R-(+)-α-lipoico, ácido hidroxicítrico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido docosapentaenoico, ácido ursólico, ácido corosólico, ácido cinámico, ácido cárdenoico, ácido obeticólico, ácido ursodesoxicólico, ácido oleanólico, ácido salicílico, ácido betulínico, ácido clorogénico, ácido cafeíco, ácido báscico, acetil L-carnitina, sulfóxido de S-alil cisteína, sulfóxido de S-metil cisteína, ácido pantoténico, ácido ascórbico, ácido retinoico, reína, ácido nicotínico, biotina y otros ácidos orgánicos que generalmente se reconocen como farmacológicamente activos para una o más enfermedades o trastornos seleccionados entre trastornos metabólicos, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, atrofia muscular, inflamación y cáncer, o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos en un mamífero, incluyendo el ser humano por los expertos en la materia. El primer y segundo agentes pueden ser un ingrediente farmacéutico activo purificado o como un ingrediente activo de un extracto natural, por ejemplo: ácidos biliares (ácido cárdenoico, ácido desoxicólico, etc.), extractos de ruibarbo (reína), extracto de canela (ácido cinámico), extracto de banaba (ácido corosólico), etc.; e (iii) instrucciones para administrar los agentes combinados a un paciente que tiene o está en riesgo de tener una o más enfermedades o trastornos seleccionados entre trastornos metabólicos, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, atrofia muscular y cáncer.

En un aspecto, la invención se refiere a una sal de adición ácido-base en forma sustancialmente pura, que presenta la fórmula:



en la que

- (a) U^- es un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico;
- (b) X^+ es un resto catiónico de berberina; y
- (c) m es 1 y n es 1.

En otro aspecto más, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una sal de adición ácido-base que presenta la fórmula:



en la que

- (a) U^- es un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico;
- (b) X^+ es un resto catiónico de berberina; y
- (c) m es 1 y n es 1,

un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de una o más enfermedades o trastornos seleccionados de entre hígado graso, enfermedad del hígado graso no alcohólica (NAFLD) y esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedades hepáticas colestásicas, enfermedad de injerto contra huésped del hígado, enfermedades hepáticas crónicas asociadas a virus, enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol, enfermedades metabólicas o trastornos tales como prediabetes, diabetes, hiperlipidemia, dislipidemia diabética, dislipidemia en pacientes con intolerancia a las estatinas, obesidad o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos.

En el presente documento se describe un procedimiento para tratar, reducir o prevenir una enfermedad o trastorno. El procedimiento incluye administrar a un sujeto que lo necesite una composición farmacéutica que comprende una cantidad de una sal de adición de ácido-base que presenta la fórmula de:

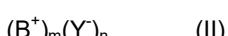


en la que

- (a) U^- es un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico o un derivado o análogo del mismo;
 - (b) X^+ es un resto catiónico de una base orgánica farmacológicamente activa; y
 - (c) m y n son números enteros seleccionados independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 para llegar a una sal de carga neutra.

eficaz para tratar, prevenir o reducir una o más enfermedades o trastornos seleccionados de hígado graso , EHGNA y NASH, enfermedades hepáticas colestásicas, enfermedad de injerto contra huésped del hígado, enfermedades hepáticas crónicas asociadas a virus, enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol, enfermedades o trastornos metabólicos como prediabetes, diabetes, dislipidemia diabética, dislipidemia en estatinas pacientes con intolerancia, hiperlipidemia, obesidad o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos en un mamífero, incluyendo el ser humano, y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento se describe una sal de adición ácido-base en forma sustancialmente pura, que presenta la fórmula de:



en la que

- (a) B^+ es un resto catiónico de berberina o un derivado o análogo de la misma;
 - (b) Y^- es un resto aniónico de un ácido orgánico farmacológicamente activo; y
 - (c) m y n son números enteros seleccionados independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 para llegar a una sal de carga neutra.

30 En el presente documento se describe una composición farmacéutica que comprende una cantidad de una sal de adición de ácido-base que presenta la fórmula de:



35 en la que

- (a) B^+ es un resto catiónico de berberina o un derivado o análogo de la misma;
(b) Y^- es un resto aniónico de un ácido orgánico farmacológicamente activo; y
(c) m y n son números enteros seleccionados independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 para llegar a una sal de carga neutra.

eficaz para tratar, prevenir o reducir una o más enfermedades o trastornos seleccionados de trastornos metabólicos, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, sarcopenia, atrofia muscular, inflamación y cáncer, o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos en un mamífero, incluyendo el ser humano, y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento se describe un procedimiento para tratar, reducir o prevenir una enfermedad o trastorno. El procedimiento incluye administrar a un sujeto que lo necesite una composición farmacéutica que comprende una cantidad de una sal de adición de ácido-base que presenta la fórmula de:



en la que

- 55 (a) B⁺ es un resto catiónico de berberina o un derivado o análogo de la misma;
(b) Y⁻ es un resto aniónico de un ácido orgánico farmacológicamente activo; y
(c) m y n son números enteros seleccionados independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 para llegar a una sal de carga neutra.

60 efectiva para tratar, prevenir o reducir una o más enfermedades o trastornos seleccionados de trastornos metabólicos, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, sarcopenia, atrofia muscular, inflamación y cáncer, o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos en un mamífero, incluyendo el ser humano, y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Breve descripción de los dibujos

FIGURA 1. Peso corporal de cada grupo de tratamiento el día 0 y el día 14.

FIGURA 2. Cambio de peso corporal de cada grupo de tratamiento después de 14 días de tratamiento.

FIGURA 3. Glucosa en sangre de cada grupo de tratamiento el día 2 y el día 15.

FIGURA 4. Cambio de glucosa en sangre de cada grupo de tratamiento el día 2 y el día 15.

FIGURA 5. ^1H RMN de ursodesoxicólico de metformina en DMSO-D₆.

FIGURA 6. Espectro de IR del ursodesoxicólico de metformina.

FIGURA 7. ^1H RMN de ursodesoxicólico de berberina (producto purificado).

FIGURA 8. ^1H RMN de una mezcla de clorhidrato de berberina (1,0 eq.) y ácido ursodesoxicólico (1,0 eq.) en DMSO-D₆.

FIGURA 9. Espectro IR del ursodesoxicólico de berberina (producto crudo).

La banda de vibración de estiramiento del carbonilo C=O del ácido ursodesoxicólico a aproximadamente 1721 cm⁻¹ desapareció en el espectro IR del ursodesoxicólico de berberina.

FIGURA 10. Espectro IR de la mezcla de clorhidrato de berberina (1,0 eq.) y ácido ursodesoxicólico (1,0 eq.). La banda de vibración de estiramiento de carbonilo C=O de ácido ursodesoxicólico aparece a aproximadamente 1719 cm⁻¹.

FIGURA 11. Espectroscopía de masas de ursodesoxicólico de berberina: en modo MS negativo, se identificó la masa molecular de UDCA [M-H]⁻ 391,28.

FIGURA 12. Espectroscopía de masas de ursodesoxicólico de berberina: en modo MS positivo, se identificó la masa molecular de BBR⁺ 336,14.

FIGURA 13. (A) Concentraciones de glucosa en plasma durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa (OGTT) y (B) el área bajo la curva de glucosa OGTT. Los datos se expresan como la media \pm S.E.M (n = 7~13). ** p <0,01 G2 frente a G1; # p <0,05 G4, G5, G6 o G7 frente a G2.

FIGURA 14. Imagen de tinción de hígado con Sultan III en varios grupos (n = 7~13).

FIGURA 15. ^1H RMN de sal ursólica de berberina (400 MHz, DMSO-D₆).

FIGURA 16. El efecto de BUDCA sobre el nivel de LDL-c sérico, el nivel de HDL-c sérico, TC/HDL-c y AI de hámsteres hiperlipidémicos.

FIGURA 17. El efecto de BUDCA sobre el nivel de AST en suero de hámsteres hiperlipidémicos.

FIGURA 18. El efecto de BUDCA sobre el nivel de ALT en suero de hámsteres hiperlipidémicos.

FIGURA 19. El efecto de BUDCA sobre el peso del hígado y el índice de hígado de los hámsteres hiperlipidémicos.

FIGURA 20. La observación general de la deposición de lípidos en el tejido hepático.

FIGURA 21. El efecto de BUDCA sobre el contenido de TC y TG en hígados de hámsteres hiperlipidémicos.

FIGURA 22. El efecto de BUDCA sobre el índice de inflamación y el área positiva para el rojo aceite O.

35 Definiciones

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. Los principios generales de la química orgánica, así como los restos funcionales específicos y la reactividad, se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 2006.

Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas geométricas o estereoisoméricas particulares. La presente invención contempla todos estos compuestos, incluidos los isómeros *cis* y *trans*, los enantiómeros R y S, los diastereómeros, los isómeros (D), los isómeros (L), las mezclas racémicas de los mismos y otras mezclas de los mismos, como pertenecientes al alcance de la invención. Puede haber presentes átomos de carbono asimétricos adicionales en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Se pretende que todos estos isómeros, así como sus mezclas, estén incluidos en la presente invención.

Pueden utilizarse mezclas isoméricas que contengan cualquiera de una variedad de proporciones de isómeros de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, en los casos en los que solo se combinan dos isómeros, las mezclas que contienen proporciones de isómeros 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10, 95:5, 96:4, 97:3, 98:2, 99:1 o 100:0 están contempladas por la presente invención. Los expertos en la materia apreciarán fácilmente que se contemplan proporciones análogas para mezclas de isómeros más complejas.

Si, por ejemplo, se desea un enantiómero particular de un compuesto de la presente invención, se puede preparar mediante síntesis asimétrica o mediante derivación con un auxiliar quiral, donde la mezcla diastereoisomérica resultante se separa y el grupo auxiliar se escinde para proporcionar los enantiómeros puros deseados. De manera alternativa, cuando la molécula contiene un grupo funcional básico, como el amino, o un grupo funcional ácido, como el carboxilo, las sales diastereoméricas se forman con un ácido o base ópticamente activo apropiado, seguido de la resolución de los diastereómeros así formados por cristalización fraccionada o procedimientos cromatográficos bien conocidos en la técnica, y la posterior recuperación de los enantiómeros puros.

Dadas las ventajas de la presente divulgación, un experto en la materia apreciará que los procedimientos sintéticos, tal como se describen en el presente documento, pueden utilizar una variedad de grupos protectores. Por la expresión "grupo protector", tal como se usa en el presente documento, se entiende que un resto funcional particular, por ejemplo, O, S o N, se bloquea temporalmente de modo que se pueda llevar a cabo una reacción de

- forma selectiva en otro sitio reactivo en un compuesto multifuncional. En realizaciones preferidas, un grupo protector reacciona de forma selectiva con buen rendimiento para dar un sustrato protegido que es estable a las reacciones proyectadas; el grupo protector debe poder eliminarse de forma selectiva con buen rendimiento mediante reactivos no tóxicos, de preferencia fácilmente disponibles, que no ataque a los otros grupos funcionales; el grupo protector forma un derivado fácilmente separable (más preferiblemente sin la generación de nuevos centros estereogénicos); y el grupo protector tiene un mínimo de funcionalidad adicional para evitar más sitios de reacción. Pueden utilizarse grupos protectores de oxígeno, azufre, nitrógeno y carbono. Se pueden encontrar ejemplos de una variedad de grupos protectores en *Protective Groups in Organic Synthesis*, Tercera Ed. Greene, T.W. y Wuts, P.G., Eds., John Wiley & Sons, Nueva York: 1999.
- Se apreciará que los compuestos, tal como se describen en el presente documento, pueden estar sustituidos con cualquier número de sustituyentes o restos funcionales. En todas las especificaciones, los grupos y sustituyentes de los mismos pueden seleccionarse para proporcionar restos y compuestos estables.
- Tal como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad efectiva" de un agente activo se refiere a una cantidad suficiente para provocar la respuesta biológica deseada. Como apreciarán los expertos en la materia, la cantidad efectiva de un compuesto de la invención puede variar dependiendo de factores tales como el punto final biológico deseado, la farmacocinética del compuesto, la enfermedad que se está tratando, el modo de administración, y el paciente.
- Tal como se usa en el presente documento, la expresión "tratar, reducir o prevenir una enfermedad o trastorno" se refiere a mejorar tal afección antes o después de que haya ocurrido. En comparación con un control equivalente no tratado, tal reducción o grado de prevención es de al menos 5 %, 10 %, 20 %, 40 %, 50 %, 60 %, 80 %, 90 %, 95 % o 100 %, medido por cualquier técnica estándar.
- Tal como se usa en el presente documento, la expresión "excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una carga, diluyente, excipiente, disolvente o material encapsulante líquido o sólido, involucrado en el transporte o el traslado del agente farmacéutico en cuestión desde un órgano, o parte del cuerpo, a otro órgano o parte del cuerpo. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la formulación y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones tampón de fosfato; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas. También pueden estar presentes en las composiciones, agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como lauril sulfato de sodio, estearato de magnesio y copolímero de óxido de polietileno-óxido de polipropileno, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes.
- Tal como se usa en el presente documento, los términos "aislado" o "purificado" se refieren a un material que está sustancialmente o esencialmente libre de componentes que normalmente lo acompañan en su estado nativo. La pureza y la homogeneidad se determinan normalmente usando técnicas de química analítica tales como electroforesis en gel de poliacrilamida o cromatografía líquida de alta resolución.
- Tal como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a cualquier animal (por ejemplo, un mamífero), incluyendo, entre otros, humanos, primates no humanos, roedores y similares, que va a ser el receptor de un trato particular. Normalmente, los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente en el presente documento con referencia a un sujeto humano.
- Tal como se usa en el presente documento, la expresión "una cantidad suficiente" se refiere a la cantidad de un compuesto, solo o en combinación con otro régimen terapéutico, necesaria para tratar, prevenir o reducir un trastorno metabólico como la diabetes de una manera clínicamente relevante. Una cantidad suficiente de un compuesto activo usado para poner en práctica la presente invención para el tratamiento terapéutico de afecciones causadas por, o que contribuyen a, la diabetes varía dependiendo de la forma de administración, la edad, el peso corporal y la salud general del mamífero o paciente. En última instancia, los prescriptores decidirán la cantidad y el régimen de dosificación adecuados. Además, una cantidad efectiva puede ser una cantidad de compuesto en la combinación de la invención que es segura y eficaz en el tratamiento de un paciente que tiene un trastorno metabólico como diabetes sobre cada agente por separado, según lo determine y apruebe una autoridad reguladora (tal como la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos).
- Tal como se usa en el presente documento, la expresión "dosis baja" se refiere a al menos un 5 % menos (por

ejemplo, al menos un 10 %, 20 %, 50 %, 80 %, 90 % o incluso 95 %) que la dosis estándar más baja recomendada. de un compuesto particular formulado para una vía de administración dada para el tratamiento de cualquier enfermedad o afección humana. Por ejemplo, una dosis baja de un agente que reduce los niveles de glucosa y que está formulado para la administración por inhalación diferirá de una dosis baja del mismo agente formulado para la administración oral.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "dosis alta" significa al menos 5 % (por ejemplo, al menos 10 %, 20 %, 50 %, 100 %, 200 % o incluso 300 %) más que la dosis estándar más alta recomendada de un compuesto particular para el tratamiento de cualquier enfermedad o afección humana.

Los compuestos marcados isotópicamente también están dentro del alcance de la presente divulgación. Tal como se usa en el presente documento, un "compuesto marcado isotópicamente" se refiere a un compuesto divulgado en el presente documento que incluye sales farmacéuticas y profármacos del mismo, cada uno tal como se describe en el presente documento, en el que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa que generalmente se encuentra en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los compuestos descritos actualmente incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente.

Mediante el marcaje isotópico de los compuestos divulgados en el presente documento, los compuestos pueden ser útiles en ensayos de distribución de fármacos y/o sustratos en tejidos. Los compuestos marcados con tritio (^3H) y carbono-14 (^{14}C) son particularmente preferidos por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados como el deuterio (^2H) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una vida media *in vivo* aumentada o requisitos de dosificación reducidos y, por lo tanto, puede ser preferible en algunas circunstancias. Los compuestos marcados isotópicamente divulgados en el presente documento, que incluyen sales farmacéuticas, ésteres y profármacos de los mismos, pueden prepararse por cualquier medio conocido en la técnica.

Además, la sustitución de hidrógeno (^1H) normalmente abundante con isótopos más pesados como el deuterio puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas, por ejemplo, como resultado de propiedades mejoradas de absorción, distribución, metabolismo y/o excreción (ADME), creando fármacos con eficacia, seguridad y/o tolerabilidad mejoradas. También se pueden obtener beneficios de la sustitución de ^{12}C normalmente abundante por ^{13}C . Véanse los documentos WO 2007/005643, WO 2007/005644, WO 2007/016361 y WO 2007/016431.

Los estereoísómeros (por ejemplo, Isómeros *cis* y *trans*) y todos los isómeros ópticos de un compuesto divulgado en el presente documento (por ejemplo, enantiómeros R y S), así como mezclas racémicas, diastereoméricas y otras mezclas de tales isómeros están dentro del alcance de la presente divulgación.

Los compuestos de la presente invención, después de su preparación, preferiblemente se aíslan y se purifican para obtener una composición que contiene una cantidad en peso igual o superior al 95 % ("sustancialmente puro"), que luego se usa o se formula tal como se describe en el presente documento. En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente invención tienen una pureza superior al 99 %.

También se contemplan en el presente documento solvatos y polimorfos de los compuestos de la invención. Los solvatos de los compuestos de la presente invención incluyen, por ejemplo, hidratos.

Las posibles formulaciones incluyen las adecuadas para administración oral, sublingual, bucal, parenteral (por ejemplo, subcutánea, intramuscular o intravenosa), rectal, tópica, incluida la administración transdérmica, intranasal y por inhalación. Los medios de administración más adecuados para un paciente particular dependerán de la naturaleza y gravedad de la enfermedad o afección que se esté tratando o de la naturaleza de la terapia que se use y de la naturaleza del compuesto activo.

Descripción detallada de la invención

La invención proporciona diversas composiciones novedosas de berberina en combinación con ácidos ursodesoxicólicos para su uso en el tratamiento y/o prevención de diversas enfermedades o trastornos. Una característica notable de la invención es el efecto único y sinérgico a que dan lugar a las combinaciones de berberina y ácido ursodesoxicólico.

En el presente documento se describen sales de ácido ursodesoxicólico y bases orgánicas, composiciones farmacéuticas de las mismas, así como procedimientos de preparación y uso relacionados para tratar y/o prevenir diversas enfermedades o trastornos hepáticos. Las sales de ácido ursodesoxicólico incluyen aquellas con bases orgánicas como berberina, metformina, carnitina, coptisina, palmatina, jatrorrizina.

La invención proporciona, además, sales de berberina y ácido ursodesoxicólico, composiciones farmacéuticas para su uso en el tratamiento de diversas enfermedades o trastornos. Se describen sales de berberina, incluidas las que

contienen ácidos orgánicos tales como ácido R-(+)- α -lipoico, ácido hidroxicítrico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido docosapentaenoico, ácido ursólico, ácido corosólico, ácido cinámico, ácido cónico, ácido obeticólico, ácido ursodesoxicólico, ácido oleanólico, ácido salicílico, ácido betulínico, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido bassico, acetil L-carnitina, sulfóxido de S-alil cisteína, sulfóxido de S-metil cisteína, ácido pantoténico, ácido ascórbico, ácido retinoico, reína, ácido nicotínico y biotina.

Una característica fundamental de la invención es el efecto único y sinérgico que genera cada una de las dos partes de las nuevas sales, es decir, una porción catiónica farmacéuticamente activa y una porción aniónica farmacéuticamente activa que, de manera colectiva y sinérgica, se dirigen a una enfermedad o trastorno con mecanismos de acción complementarios, proporcionando así una mayor eficacia.

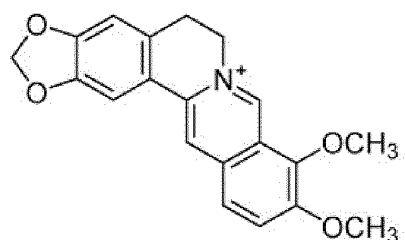
Las enfermedades y trastornos que pueden tratarse y/o prevenirse con los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los procedimientos divulgados en el presente documento incluyen diabetes, complicaciones diabéticas, dislipidemia, dislipidemia en pacientes con intolerancia a las estatinas, hiperlipidemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, dislipidemia diabética, obesidad, síndromes metabólicos, prediabetes, aterosclerosis, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, sarcopenia, atrofia muscular, inflamación, cáncer y enfermedades hepáticas y afecciones como hígado graso, enfermedad del hígado graso no alcohólico, esteatohepatitis no alcohólica, enfermedades hepáticas colestásicas o enfermedad de injerto contra huésped del hígado. Los compuestos de la presente invención también son útiles para mejorar las funciones hepáticas en enfermedades hepáticas crónicas asociadas a virus y enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol.

Combinaciones de berberina o derivado(s) y ácidos orgánicos farmacológicamente activos

La invención proporciona diversas composiciones novedosas de berberina en combinación con ácido ursodesoxicólico para su uso en el tratamiento de diversas enfermedades o trastornos. Por tanto, la invención incorpora un enfoque único que usa berberina en combinaciones sinérgicas con ácidos orgánicos farmacológicamente activos seleccionados.

En un aspecto, la invención se refiere generalmente a una composición que comprende: una sal de adición ácido-base de acuerdo con la reivindicación 1; y (c) opcionalmente un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. La berberina y el o los ácidos ursodesoxicólicos están presentes en cantidades que, cuando se administran a un sujeto, son suficientes para tratar, prevenir o reducir una o más enfermedades o trastornos seleccionados de entre trastornos metabólicos, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, atrofia muscular, enfermedades del hígado, inflamación y cáncer, o una enfermedad relacionada o trastorno de las mismas en un mamífero, incluyendo el ser humano.

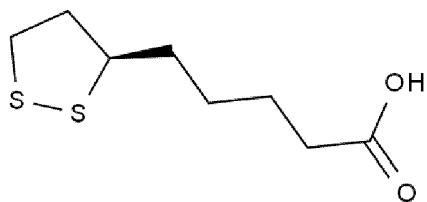
La berberina (5,6-dihidro-9,10-dimetoxibenzo[g]-1,3-benzodioxolo[5,6-a]quinolizinio), un alcaloide de isoquinolina aislado de *Rhizoma Coptidis*, ha tenido una larga historia de uso en China para tratar diversas enfermedades gastrointestinales. La berberina se encuentra en una variedad de plantas como *Berberis*, *Hydrastis canadensis*, *Xanthorhiza simplicissima*, *Phellodendron amurense*, *Coptis chinensis*, *Tinospora cordifolia*, *Argemone mexicana* y *Eschscholzia californica*. En las últimas dos décadas, los estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado la eficacia de la berberina cuando se usa sola o en combinación para la diabetes, dislipidemia, cáncer, neuroprotección y enfermedades cardiovasculares. Actualmente, la berberina se puede obtener comercialmente en forma de sal de cloruro, sulfato o tanato, habiéndose utilizado el clorhidrato de berberina en casi todos los estudios anteriores. La baja biodisponibilidad de la berberina en las formas disponibles actualmente hace que sus aplicaciones para el tratamiento de enfermedades crónicas y sistémicas sean muy difíciles.



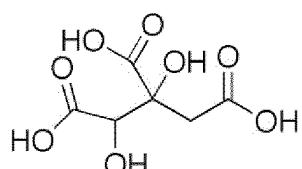
Berberina

El ácido R-(+)- α -lipoico (ácido(R)-6,8-ditiooctanoico, ácido (R)-6,8-tióctico, (R)-(+)1,2-ditolano-ácido 3-pentanoico) se identificó como un agente catalítico para la descarboxilación oxidativa de piruvato y α -cetoglutarato. En el ser humano, el ácido R-(+)- α -lipoico existe en el cuerpo como parte de varios complejos multienzimáticos involucrados en la formación de energía y es un componente esencial de las enzimas respiratorias mitocondriales. El ácido R-(+)- α -lipoico es más conocido por sus potentes efectos antioxidantes y se ha utilizado para el tratamiento de la

neuropatía diabética, la enfermedad neuronal degenerativa, la aterosclerosis y otras anomalías relacionadas con el estrés oxidativo.

Ácido R-(+)- α -lipoico

- 5 El ácido hidroxicítrico (ácido 1,2-dihidroxipropano-1,2,3-tricarboxílico) es un derivado del ácido cítrico que se encuentra en una variedad de plantas tropicales que incluyen *Garcinia cambogia* e *Hibiscus subdariffa*. El ácido hidroxicítrico es el componente activo del extracto de *Garcinia cambogia*, que se ha utilizado ampliamente como suplemento dietético para perder peso. Ha habido informes sobre los efectos del ácido hidroxicítrico para mejorar la tolerancia a la glucosa, proporcionar protección al hígado contra la toxicidad asociada con el etanol y la dexametasona y controlar la presión arterial. Además, se ha descubierto que el compuesto reduce los marcadores de inflamación en el cerebro, los intestinos, los riñones y el suero.

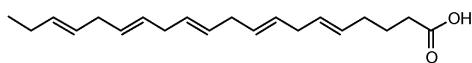


Ácido hidroxicítrico

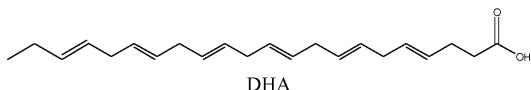
- 15 El ácido eicosapentaenoico (EPA o ácido (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-5,8,11,14,17 icosa-5,8,11,14,17-pentaenoico) y el ácido docosahexaenoico (DHA, ácido 4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenoico), son los dos ácidos grasos poliinsaturados omega-3 más investigados. El EPA es la molécula activa en dos agentes antihipertrigliceridémicos aprobados por la FDA. Se ha demostrado que EPA y DHA pueden reducir la síntesis de ácidos grasos libres y triglicéridos y aumentar su eliminación. También se ha demostrado que los efectos de EPA y DHA reducen la inflamación crónica, mejoran la resistencia a la insulina, mantienen la salud cardiaca y vascular y reducen el riesgo de enfermedad coronaria. Además de EPA y DHA, existen en la naturaleza muchos más ácidos grasos omega-3 con una variedad de beneficios terapéuticos, que incluyen, pero sin limitarse a, ácido docosapentaenoico (DPA), ácido α -linolénico (ALA), ácido eicosatrienoico (ETE), etc.

20

25

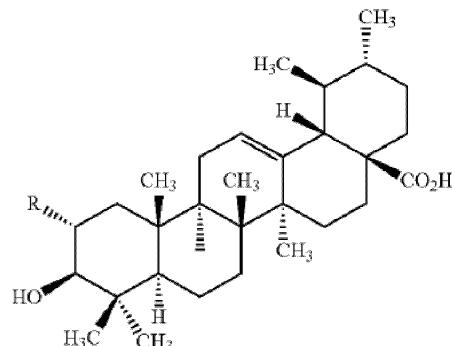


EPA



DHA

- El ácido ursólico (ácido (1S,2R,4aS,6aR,6aS,6bR,8aR,10S,12aR,14bS)-10-hidroxi-1,2,6a,6b,9,9,12a-heptametil-2,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahidro-1H-picen-4a-carboxílico) y el ácido corosólico (ácido (1S,2R,4aS,6aR,6aS,6bR,8aR,10R,11R,12aR,14bS)-10,11-dihidroxi-1,2,6a,6b,9,9,12a-heptametil-2,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahidro-1H-picen-4a-carboxílico) son miembros de la clase de compuestos del ácido triterpénico pentacíclico ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se ha demostrado que exhiben efectos farmacológicos favorables tanto *in vivo* como *in vitro*, que incluyen reducción de glucosa, antioedema, antiinflamatorio, reducción de la atrofia muscular, anticancerígeno, protección hepática, estrés antioxidativo.



El ácido cinámico, ácido cárlico, ácido obeticólico, ácido ursodesoxicólico, ácido oleanólico, ácido salicílico, ácido betulínico, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido bassico, acetil L-carnitina, sulfóxido de S-alil cisteína, sulfóxido de S-metil cisteína, ácido pantoténico, ácido ascórbico, ácido retinoico, reína, ácido nicotínico y biotina ya sea en forma purificada o en extracto activo (Tabla 1) son ácidos orgánicos adicionales con actividades farmacológicas demostradas en el tratamiento o la prevención de diabetes, complicaciones diabéticas, dislipidemia, obesidad, síndromes metabólicos, prediabetes, enfermedades cardíacas, hígado graso, NAFLD, NASH, atrofia muscular, inflamación y cánceres.

- 5 purificada o en extracto activo (Tabla 1) son ácidos orgánicos adicionales con actividades farmacológicas demostradas en el tratamiento o la prevención de diabetes, complicaciones diabéticas, dislipidemia, obesidad, síndromes metabólicos, prediabetes, enfermedades cardíacas, hígado graso, NAFLD, NASH, atrofia muscular, inflamación y cánceres.
- 10 En la **Tabla 1** se enumeran ácidos orgánicos farmacológicamente activos a modo de ejemplo.

Tabla 1. Ejemplos de ácidos orgánicos farmacológicamente activos

Nombre	Nombre IUPAC	Estructura
Ácido cinámico	Ácido (E)-3-fenilprop-2-enoico	
Ácido cárlico	Ácido (R)-4-((3R,5S,7R,8R,9S,10S,12S,13R,14S,17R)-3,7,12-trihidroxi-10,13-dimetilhexadecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantren-17-il)pentanoico	
Ácido obeticólico	Ácido (3α,5β,6α,7α)-6-etil-3,7-dihidroxicolan-24-oico	
Ácido ursodesoxicólico	Ácido 3α,7β-dihidroxi-5β-colan-24-oico ácido (R)-4 - ((3R,5S,7S,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-3,7-dihidroxi-10,13-dimetilhexadecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantren-17-il)pentanoico	

(continuación)

Nombre	Nombre IUPAC	Estructura
Ácido oleanólico	Ácido (4aS,6aR,6aS,6bR,8aR,10S,12aR,14bS)-10-hidroxi-2,2,6a,6b,9,9,12a-heptametil-1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahidropinen-4a-carboxílico	
Ácido salicílico	Ácido 2-hidroxibenzoico	
Ácido betulínico	Ácido (3β)-3-hidroxi-lup-20(29)-en-28-oico	
Ácido clorogénico	Ácido (1S,3R,4R,5R)-3-[(2Z)-3-(3,4-dihidroxifenil)prop-2-enoi]oxi]-1,4,5-trihidroxiciclohexanocarboxílico	
Ácido cafeico	Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil)-2-propenoico Ácido 3,4-dihidroxi-cinámico trans-cafeato 3,4-dihidroxi-trans-cinamato Ácido (E)-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-propenoico Ácido 3,4-dihidroxibencenocílico Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil)-2-propenoico	
Ácido bassico	Ácido (4aR,6bS,9R,10R,11S,12aR,14bS)-10,11-dihidroxi-9-(hidroximetil)-2,2,6b,9,12a-pentametil-1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,9,10,11,12,12a,12b,13,14b-octadecahidropinen-4a-carboxílico	
Acetil-L-carnitina	Butanoato de (R)-3-acetiloxy-4trimetilamonio	

(continuación)

Nombre	Nombre IUPAC	Estructura
Sulfóxido de S-alil-L-cisteína	Ácido (2R)-2-amino-3-[(S)-prop-2-enilsulfinil]propanoico	
Sulfóxido de S-metil-L-cisteína	3-(metilsulfinil)-L-alanina	
Ácido pantoténico	Ácido 3-[(2,4-dihidroxi-3,3-dimetilbutanoil)amino]propanoico	
Ácido ascórbico	Ácido (5R)-[(1S)-1,2-dihidroxietil]-3,4-dihidroxifuran-2(5H)-ona	
Ácido retinoico	Ácido (2E,4E,6E,8E)-3,7-dimetil-9-(2,6,6-trimetilciclohexen-1-il)nona-2,4,6,8-tetraenoico	
Reína	Ácido (4,5-dihidroxi-9,10-dioxoantracen-2-carboxílico	
Ácido nicotínico	Ácido piridin-3-carboxílico	
Biotina	Ácido 5-[(3aS,4S,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il]pentanoico	

En la **Tabla 2** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de berberina.

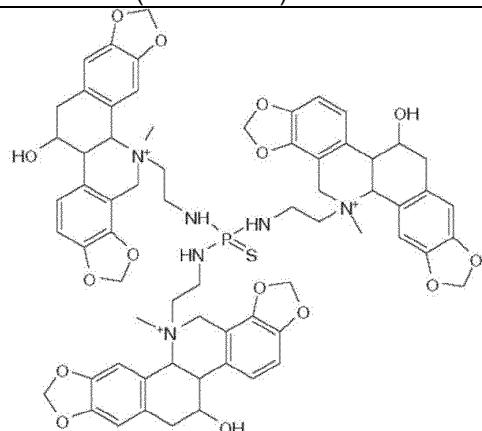
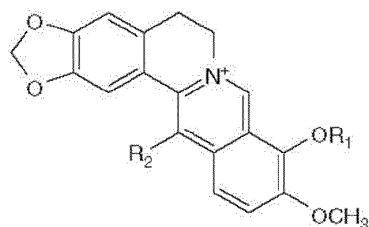
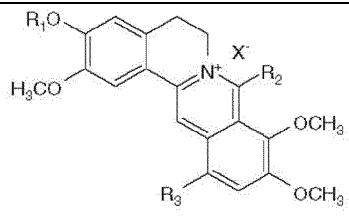
Tabla 2. Derivados o análogos de la berberina

 $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = CH_3$
 $R=H$
 $R = \text{alquilo } C_8 - C_{12}$
 $R_1 = \text{OH, carbonilo}; R_2, R_3 = \text{H, carbonilo}; n = 2 - 6; X = O$ $R_1 = \text{OH, carbonilo}; R_2, R_3 = \text{H, OH, carbonilo}; n = 2 - 6; X = NH$
 $R_1, R_3, R_2, R_4 = \text{OH, alcoxi } C_1-C_6, OCH_2O$ $G = Z-Ar, Y-Ar_2$ $Z = O(CH_2)_m, CONH(CH_2)_m, NHCO(CH_2)_m$ $Y = O(CH_2)_mCH, CONH(CH_2)_mCH, NHCO(CH_2)_mCH$ $n = 1-5; m = 1-3; Ar = \text{anillo insaturado o aromático de 5-15 miembros}$

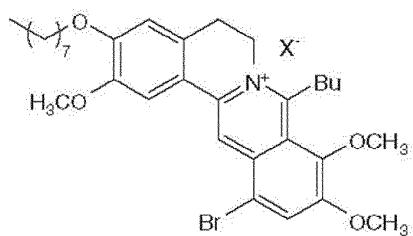
(continuación)

	$R_1, R_3, R_2, R_4 = OH, \text{alcoxi } C_1-C_6, OCH_2O$ $G = Z-Ar, Y-Ar_2$ $Z = O(CH_2)_m, CONH(CH_2)_m, NHCO(CH_2)_m$ $Y = O(CH_2)_mCH, CONH(CH_2)_mCH, NHCO(CH_2)_mCH$
	$n = 1-5; m = 1-3; Ar = \text{anillo insaturado o aromático de 5-15 miembros}$
	$R_1, R_3, R_2, R_4 = OH, \text{alcoxi } C_1-C_6, OCH_2O$ $= Z-Ar, Y-Ar_2$ $= O(CH_2)_m, CONH(CH_2)_m, NHCO(CH_2)_m$ $= O(CH_2)_mCH, CONH(CH_2)_mCH, NHCO(CH_2)_mCH$
	$n = 1-5; m = 1-3; Ar = \text{anillo insaturado o aromático de 5-15 miembros}$
	$R_1, R_3, R_2, R_4 = OH, \text{alcoxi } C_1-C_6, OCH_2O$ $G = Z-Ar, Y-Ar_2$ $Z = O(CH_2)_m, CONH(CH_2)_m, NHCO(CH_2)_m$ $Y = O(CH_2)_mCH, CONH(CH_2)_mCH, NHCO(CH_2)_mCH$
	$n = 1-5; m = 1-3; Ar = \text{anillo insaturado o aromático de 5-15 miembros}$
	$R_1, R_2, R_3, R_4 = OCH_3, OH, OCH_2O$

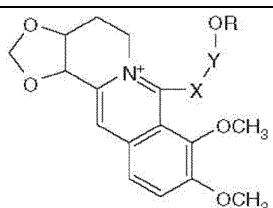
(continuación)

 $R_1 = H, Me$  $R_2 = Bn, 3,5\text{-dinitrobencilo}$ 

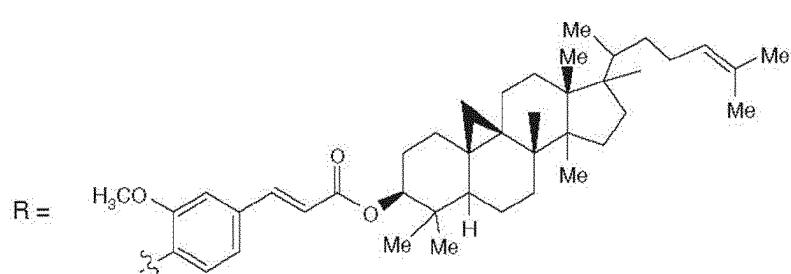
$X = F, Cl, Br, I, SO_4, NO_3, PO_4$, citrato, acetato, lactato
 R_1 y R_2 = independientemente alquilo; $R_3 = H, F, Cl, Br$ o I



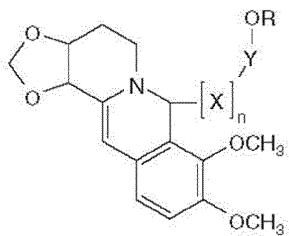
$X = F, Cl, Br, I, SO_4, NO_3, PO_4$, citrato, acetato, lactato
 R_1 y R_2 = independientemente alquilo; $R_3 = H, F, Cl, Br$ o I



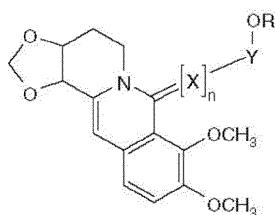
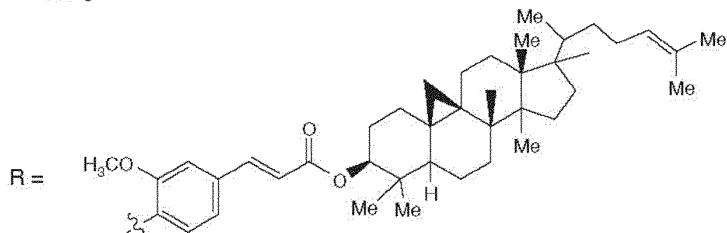
$Y = CH_2, -C = O, -C = S$; $X = C$ que tiene una estructura lineal
 saturada/insaturada, lineal, ramificada; $n = 1 - 10$



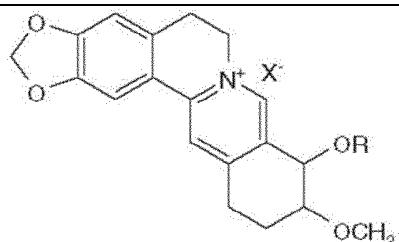
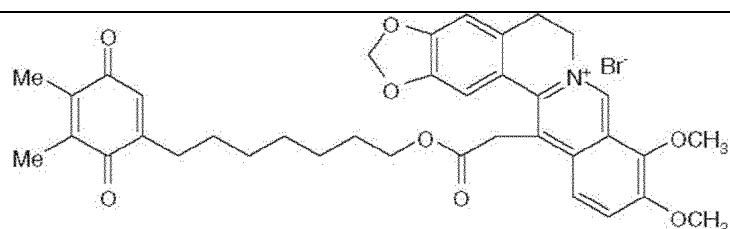
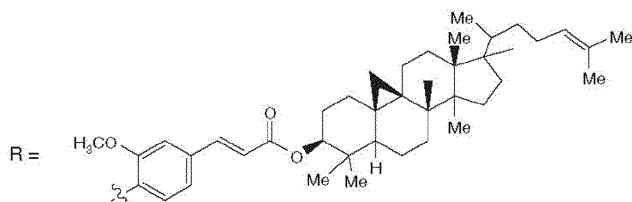
(continuación)



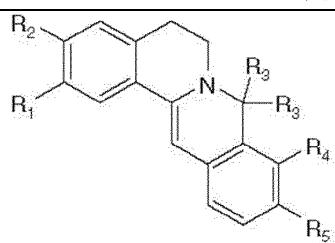
$Y = CH_2, -C=O, -C=S; X = C$ que tiene una estructura lineal saturada/insaturada, lineal, ramificada; $n = 1 - 10$



$Y = CH_2, -C=O, -C=S; X = C$ que tiene una estructura lineal saturada/insaturada, lineal, ramificada; $n = 1 - 10$



$R =$ glucosilo, manosilo, maltosilo, lactosilo, galactosilo, fructosilo, xilosilo, arabinosilo $X = Cl, Br, I$



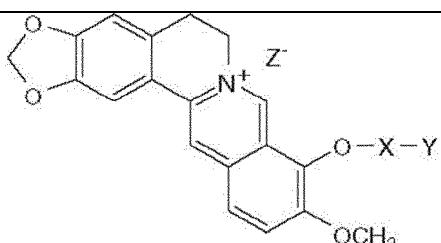
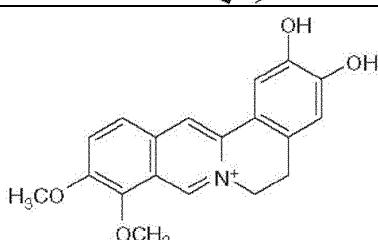
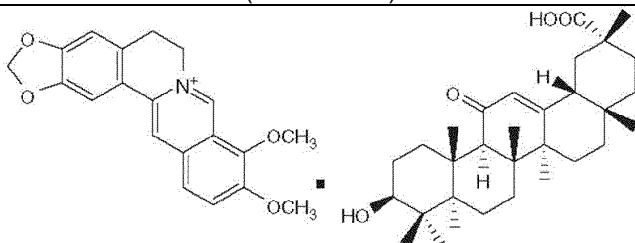
$R_1, R_2 = H, \text{alcoxi } C_1-C_4, OCH_2O$
 $R_3 = \text{alquilo } C_1-C_3$

$R_4, R_5 = \text{alcoxi } C_1-C_2$

(continuación)

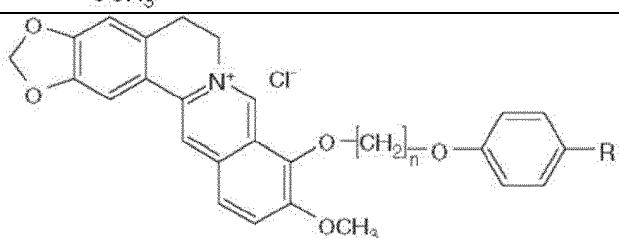
	$R_1, R_2 = H, \text{alcoxi } C_1-C_4, OCH_2O$ $R_3 = CN, COOR_6 (R_6 = \text{alquilo } C_1-C_2)$ $R_4, R_5 = \text{alcoxi } C_1-C_2$
	$R_1, R_2 = H, \text{alcoxi } C_1-C_4, OCH_2O$ $R_3 = \text{alquilo } C_1-C_2, \text{fenilo}$ $R_4, R_5 = \text{alcoxi } C_1-C_2$
	$R_1, R_2 = H, (CH_2)_{0-6}CO_2R', C(O)R'', OR', NR_{10}R_{11},$ $C(O)NR_{10}R_{11}, \text{alquilo } R_1R_2 = OCH_2CH_2O; R_3, R_8 = H, OH,$ $Cl, Br, F, I, CN, NH_2, (:O)NH_2, CO_2H, \text{alquilo}; R_3' = H;$ $R_3R_3 = O; R_4 = H, \text{halógeno}, OR', OSO_2R'', OC(:O) R'',$ $OCO_2R'' OC(O)NR'R'', O\text{-alquileno-NR'R''}, O\text{-alquileno-}$ $OSO_2R'', O\text{-alquileno-NR'SO}_2R'', O\text{-alquileno-NR'COR'}$, $\text{alquilo}; R_5, R_6 = H, \text{halógeno}, OH, \text{alcoxi } R_4R_5 = OCH_2O;$ $R_5R_6 = OCH_2O; R_7 = H, OH, \text{halógeno, alquilo o alcoxi}$ $R_{10}, R_{11} = H, CO_2R'', \text{alquilo}$
	H_3CO H_3CO $OCH_3 R = SO_2C_6H_4-3-F$

(continuación)



X = $(CH_2)_n$, $(CH_2)_mCO$; n = 2-10; m = 1-9
 Y = NR₁Ar, OAr; Ar = arilo sustituido

$R_1 \equiv H, Me, Et, Pr, i-Pr; Z \equiv F, Cl, Br, I$



R = éster Me de ácido 2-acético, éster Me de 3-acético, éster Me de 4-acético, éster Et de Me 2-acético, éster Me Et de 3-acético, éster Me Et de 4-acético, 2-acetato, 3-acetato, 4-acetato, 2-acetato de potasio, 3-acetato de potasio, 4-acetato de potasio; n = 2-6

En determinadas realizaciones, el ácido o ácidos orgánicos es(son) farmacológicamente activo(s).

- 5 En determinadas realizaciones, la composición incluye además uno o más agentes adicionales seleccionados del grupo que consiste en vitamina D, vitamina C, vitamina E, vitamina B12, vitamina A, benfotiamina, picolinato de cromo y vanadio.

10 En determinadas realizaciones, la enfermedad o trastorno es un trastorno metabólico y se selecciona de entre diabetes, complicaciones diabéticas, dislipidemia, obesidad, síndromes metabólicos, prediabetes, hígado graso, NAFLD y NASH.

15 En determinadas realizaciones, la composición incluye además un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

20 Se describe una composición que incluye berberina y ácido R-(+)-α-lipoico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido R-(+)-α-lipoico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido R-(+)-α-lipoico y vitamina B12. Se describe una composición que incluye berberina, ácido R-(+)-α-lipoico, vitamina B12 y benfotiamina. Se describe una composición que incluye berberina, ácido R-(+)-α-lipoico, vitamina B12, benfotiamina y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.

25 Se describe una composición que incluye berberina y ácido hidroxicítrico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido hidroxicítrico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido hidroxicítrico, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3. Se describe una composición que incluye berberina, extractos de *Garcinia cambogia* o *Hibiscus subdariffa* (ácido hidroxicítrico), vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.

- Se describe una composición que incluye berberina y uno o ambos de EPA y DHA. Se describe una composición que incluye berberina, uno o ambos de EPA y DHA y vitamina D.
- 5 Se describe una composición que incluye berberina y ácido ursólico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido ursólico y/o ácido corosólico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido ursólico y/o ácido corosólico, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3. Se describe una composición que incluye berberina, extractos de banaba (ácido corosólico), extractos de albahaca sagrada o cáscaras de manzana (ácido ursólico), vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 10 Se describe una composición que incluye berberina y ácido cinámico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido cinámico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido cinámico, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 15 La composición incluye la adición ácido-base de acuerdo con la reivindicación 1. En determinadas realizaciones preferidas, la composición incluye la adición ácido-base de acuerdo con la reivindicación 1 y vitamina D. En determinadas realizaciones preferidas, la composición incluye la adición ácido-base según a la reivindicación 1, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 20 Se describe una composición que incluye berberina y ácido oleanólico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido oleanólico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido oleanólico, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 25 Se describe una composición que incluye berberina y ácido salicílico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido salicílico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido salicílico, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 30 Se describe una composición que incluye berberina y ácido betulínico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido betulínico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido betulínico, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 35 Se describe una composición que incluye berberina y ácido clorogénico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido clorogénico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido clorogénico, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 40 Se describe una composición que incluye berberina y ácido cafeico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido cafeico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido cafeico, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 45 Se describe una composición que incluye berberina y ácido bassico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido bassico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido bassico, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 50 Se describe una composición que incluye berberina y acetil L-carnitina. Se describe una composición que incluye berberina, acetil L-carnitina y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, acetil L-carnitina, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 55 Se describe una composición que incluye berberina y sulfóxido de S-alil cisteína y/o sulfóxido de S-metil cisteína. Se describe una composición que incluye berberina, sulfóxido de S-alil cisteína y/o sulfóxido de S-metil cisteína y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, sulfóxido de S-alil cisteína y/o sulfóxido de S-metil cisteína, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 60 Se describe una composición que incluye berberina y ácido pantoténico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido pantoténico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido pantoténico, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 65 Se describe una composición que incluye berberina y ácido ascórbico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido ascórbico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido ascórbico, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- Se describe una composición que incluye berberina y reína. Se describe una composición que incluye berberina, reína y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, reína, vitamina D y ácidos grasos

- poliinsaturados omega-3. Se describe una composición que incluye berberina, extractos de ruibarbo (reína), vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 5 Se describe una composición que incluye berberina y ácido nicotínico. Se describe una composición que incluye berberina, ácido nicotínico y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, ácido nicotínico, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- 10 Se describe una composición que incluye berberina y biotina. Se describe una composición que incluye berberina, biotina y vitamina D. Se describe una composición que incluye berberina, biotina, vitamina D y ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- En otro aspecto, la invención se refiere en general al objeto de la reivindicación 2
- 15 En determinadas realizaciones, el trastorno metabólico se selecciona de entre diabetes, complicaciones diabéticas, dislipidemia, dislipidemia diabética, dislipidemia en pacientes con intolerancia a las estatinas, hiperlipidemia, obesidad, síndromes metabólicos, prediabetes, hígado graso, NAFLD y NASH.
- En determinadas realizaciones preferidas, el trastorno metabólico es la diabetes de tipo 2.
- 20 En determinadas realizaciones preferidas, las complicaciones diabéticas son neuropatía diabética, retinopatía diabética o nefropatía diabética.
- En determinadas realizaciones preferidas, la hiperlipidemia es hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia o ambas.
- 25 El ácido orgánico farmacológicamente activo es el ácido ursodesoxicólico. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además un tercer agente seleccionado del grupo que consiste en vitamina D, vitamina C, vitamina E, vitamina B12, vitamina A, benfotiamina, picolinato de cromo y vanadio.
- 30 Se describe un sujeto que padece diabetes y complicaciones diabéticas y la composición farmacéutica que comprende berberina y ácido R-(+)- α -lipoico. Se describe un sujeto que padece nefropatía diabética y la composición farmacéutica que comprende berberina y reína (o extractos de ruibarbo). Se describe un sujeto que padece diabetes y obesidad y la composición farmacéutica que comprende berberina y ácido hidroxicítrico (o extractos de *Garcinia Cambogia*). Se describe un sujeto que padece diabetes y dislipidemia y la composición farmacéutica que comprende berberina y uno o más de EPA, DHA y DPA.
- 35 Se describe un sujeto que padece diabetes y atrofia muscular y se describe la composición farmacéutica que comprende berberina y uno o ambos de ácido ursólico y ácido corosólico. Se describe un sujeto que padece diabetes y atrofia muscular, y la composición farmacéutica que comprende berberina y uno o ambos extractos de albahaca sagrada o cáscara de manzana (ácido ursólico) y extractos de banaba (ácido corosólico).
- 40 Se describe un sujeto que padece hígado graso, NAFLD y NSAH, y se describe la composición farmacéutica que comprende berberina y uno o más de ácido cólico, ácido obeticólico y ácido ursodesoxicólico. Se describe un sujeto que padece hígado graso, NAFLD y NSAH, y se describe la composición farmacéutica que comprende berberina y ácidos biliares.
- 45 En determinadas realizaciones preferidas del método, la composición farmacéutica incluye además vitamina D
- En determinadas realizaciones preferidas del método, la composición farmacéutica incluye además vitamina E.
- 50 En determinadas realizaciones preferidas del método, la composición farmacéutica incluye además vitamina B12.
- En determinadas realizaciones preferidas del método, la composición farmacéutica incluye además benfotiamina.
- 55 En determinadas realizaciones preferidas del método, la composición farmacéutica incluye además vitamina C.
- En determinadas realizaciones preferidas del método, la composición farmacéutica incluye además vitamina A.
- En determinadas realizaciones preferidas del método, la composición farmacéutica incluye además benfotiamina.
- 60 En determinadas realizaciones preferidas del método, la composición farmacéutica incluye además picolinato de cromo.
- En determinadas realizaciones preferidas del método, la composición farmacéutica incluye además vanadio.
- 65 Tal como se describe en el presente documento, el tratamiento, la reducción o la prevención de un trastorno metabólico se realiza reduciendo los niveles de glucosa en sangre del sujeto. Tal como se describe en el presente

documento, el tratamiento, la reducción o la prevención de un trastorno metabólico se lleva a cabo reduciendo los niveles de colesterol total (TC), triglicéridos (TG) y colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL-c), aumentando los niveles de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) del sujeto. Tal como se describe en el presente documento, el tratamiento, la reducción o la prevención de un trastorno metabólico se lleva a cabo normalizando los niveles de enzimas hepáticas del sujeto. Tal como se describe en el presente documento, el tratamiento, la reducción o la prevención de un trastorno metabólico se lleva a cabo alterando la vía de señalización de la insulina de modo que se reducen los niveles de glucosa. Tal como se describe en el presente documento, el tratamiento, la reducción o la prevención de un trastorno metabólico se lleva a cabo mediante la regulación de múltiples vías metabólicas, tales como el aumento de la secreción de insulina, la mejora de la sensibilidad a la insulina, la reducción de la gluconeogénesis en el hígado, la reducción de la absorción de glucosa, la mejora de la dislipidemia, la antiinflamación para lograr los efectos farmacológicos deseados.

Se describe un kit que incluye: (i) un agente de berberina o un derivado o análogo de la misma; (ii) uno o más agentes seleccionados de entre ácidos orgánicos farmacéuticamente activos; e (iii) instrucciones para administrar los agentes combinados a un paciente que padece, o tiene riesgo de padecer, una o más enfermedades o trastornos seleccionados de entre trastornos metabólicos, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades hepáticas, atrofia muscular y cáncer.

Se describe el derivado o análogo de berberina que se selecciona de la **Tabla 2**. Se selecciona un agente adicional entre uno o más de los agentes de ácido R-(+)-α-lipoico, ácido hidroxicítrico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido docosapentaenoico, ácido ursólico, ácido corosólico, ácido cólico, ursodesoxicólico u otros enumerados en la **Tabla 1**.

Sales de ácido ursodesoxicólico o derivados

La invención también proporciona la sal de adición de base de ácido ursodesoxicólico de acuerdo con la reivindicación 1 y sus composiciones farmacéuticas, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de diversas enfermedades o trastornos hepáticos y trastornos metabólicos. Las sales de ácido ursodesoxicólico incluyen aquellas con bases orgánicas como la berberina.

En otro aspecto más, la presente invención se refiere generalmente a una sal de adición ácido-base en forma sustancialmente pura, que presenta la fórmula:

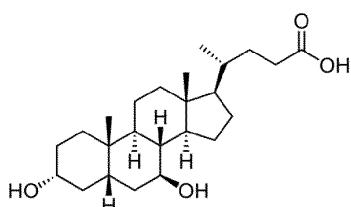


en la que

- (a) U^- es un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico;
- (b) X^+ es un resto catiónico de berberina; y
- (c) m es 1 y n es 1.

U^- es un resto aniónico de ursodesoxicólico.

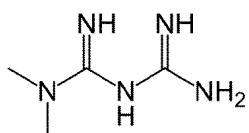
X^+ es un resto catiónico de berberina



Ácido ursodesoxicólico

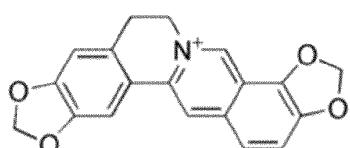
El ácido ursodesoxicólico (UDCA o ursodiol, con los nombres químicos de ácido 3α,7β-dihidroxi-5β-colan-24-oico o (R)-4-((3R,5S,7S,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-3,7-dihidroxi-10,13-dimetilhexadecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantrén-17-il)pentanoico) es un ácido biliar secundario, una sustancia producida naturalmente por el cuerpo que se almacena en la vesícula biliar. El ursodiol se usa para disolver los cálculos biliares en pacientes como alternativa a la cirugía. El ursodiol también se usa para prevenir la formación de cálculos biliares en pacientes con sobrepeso que están perdiendo peso muy rápidamente. El ursodiol actúa disminuyendo la producción de colesterol y disolviendo el colesterol en la bilis para que no pueda formar cálculos. El ursodiol es también la terapia de primera línea para el tratamiento de la PBC, la PSC y las enfermedades hepáticas colestásicas. Se han realizado estudios limitados del ursodiol sobre la NASH, pero los resultados fueron contradictorios y no concluyentes. Por tanto, el efecto del ursodiol sobre la NASH sigue sin estar claro.

La metformina (diamida N, N-dimetilimidodicarbonimídica) es un potente agente antihiper glucémico recomendado ahora como terapia oral de primera línea para la diabetes tipo 2 (T2D). El principal efecto de este fármaco es disminuir de forma aguda la producción de glucosa hepática, principalmente mediante una inhibición leve y transitoria del complejo 1 de la cadena respiratoria mitocondrial. Además, la disminución resultante en el estado energético hepático activa la proteína quinasa activada por AMP (AMPK), un sensor metabólico celular, que proporciona un mecanismo generalmente aceptado para la acción de la metformina en el programa gluconeogénico hepático. Más allá de su efecto sobre el metabolismo de la glucosa, se observó que la metformina restablece la función ovárica en el síndrome de ovario poliquístico, reduce el hígado graso y disminuye las complicaciones microvasculares y macrovasculares asociadas con la diabetes tipo 2. Recientemente también se sugirió su uso como tratamiento adyuvante para el cáncer o la diabetes gestacional y para la prevención en poblaciones prediabéticas. Los estudios de metformina para la NAFLD y la NASH se han multiplicado en los últimos años, sin embargo, su eficacia para la NAFLD y la NASH aún no ha sido aprobada.

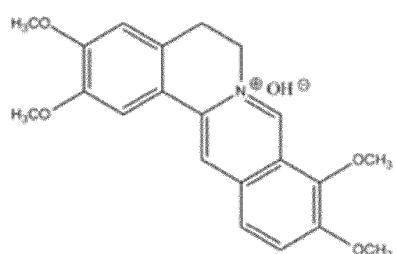


Metformina

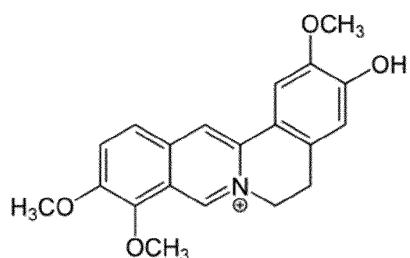
La coptisina [6,7-dihidro-bis(1,3)benzodioxolo (5,6-a:4',5'-g)quinolizinio], la palmatina [2,3,9,10-tetrametoxi-5, 6-dihidroisoquinolino[2,1-b]isoquinolin-7-ol] y la jatrorrizina [2,9,10-trimetoxi-5,6-dihidroisoquinolino[2,1-b]isoquinolin-7-ol] son alcaloides naturales que han demostrado propiedades farmacológicas similares a las de la berberina en estudios anteriores.



Coptisina



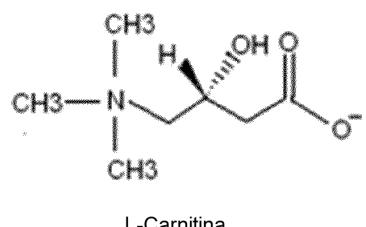
Palmitina



Jatrorrhizina

La L-carnitina es un aminoácido de origen natural. Se biosintetiza en el hígado y los riñones a partir de lisina y

metionina. La L-Carnitina desempeña un papel importante en el metabolismo de las grasas, funcionando como transportador de ácidos grasos hacia las mitocondrias.



L-Carnitina

5

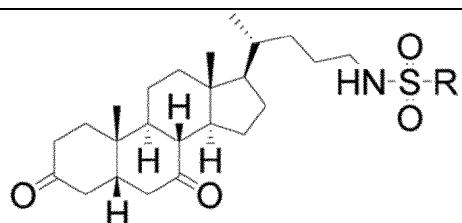
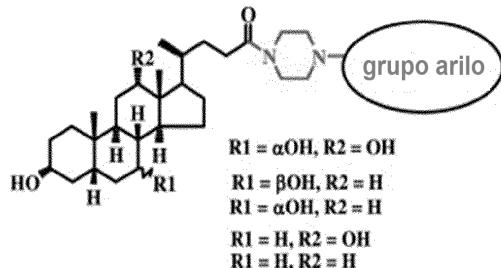
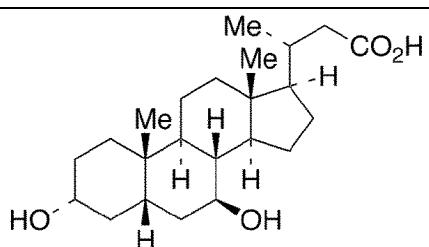
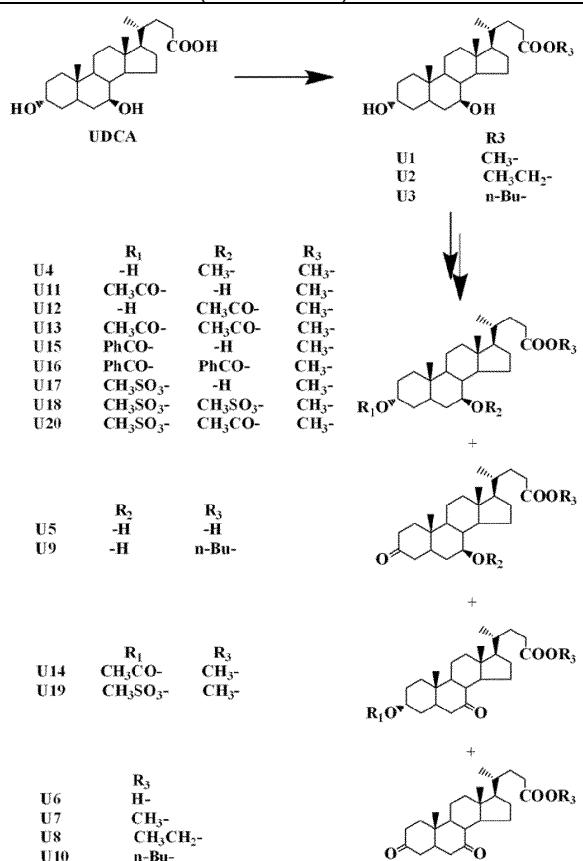
En la **Tabla 3** se enumeran derivados o análogos del ácido ursodesoxicólico a modo de ejemplo.

Tabla 3. Derivados o análogos del ácido ursodesoxicólico

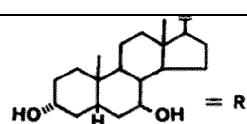
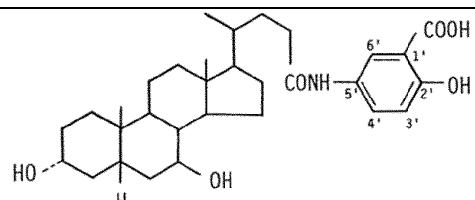
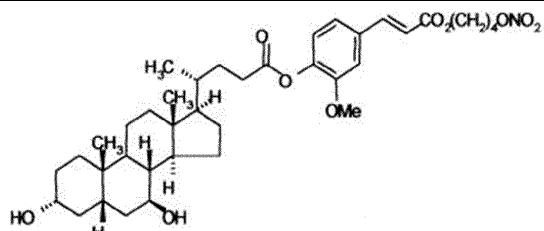
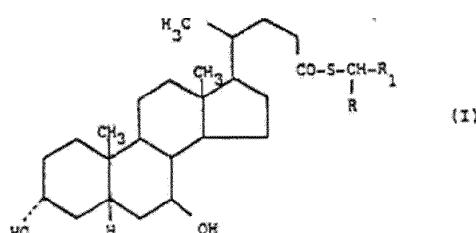
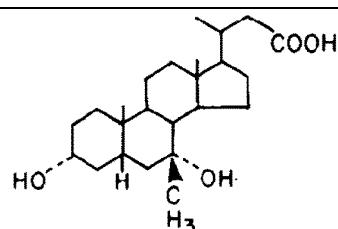
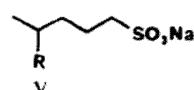
<p>Ursodeoxycholic acid (UDCA) is a bile acid derivative. It has a triterpenoid nucleus with a hydroxyl group at C-3 and a carboxylic acid group at C-24.</p>
<p>A derivative of UDCA where the C-24 side chain is replaced by a longer, branched chain ending in a carboxylic acid group (COOH).</p>
<p>A derivative of UDCA where the C-24 side chain is replaced by a longer chain containing a carboxylic acid group (COOH) and an R_1 group. The R_1 group is defined in the caption below.</p>
<p>A derivative of UDCA where the C-24 side chain is branched and ends in a carboxylic acid group (COOH).</p>

R_1 se selecciona del grupo que consiste en alquilo $\text{C}_1\text{-}\text{C}_4$ o un halógeno; o un éster

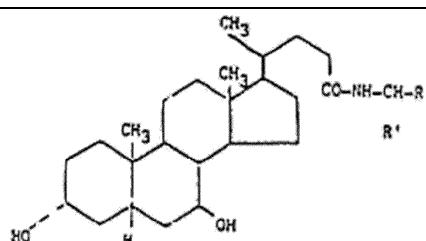
(continuación)



(continuación)

a: 7α b: 7β 

en la que R representa -H, $-HC_3$ o $-COOH$ y R_1 representa $-CONHCH_2COOH$, $-CH_2COOH$ o
 $-CH_2-COOH$
 $NH-COCH_3$

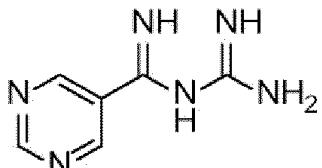


R es un radical seleccionado de $-CH_2-SO_3H$ y $-COOH$ y R' es un radical seleccionado de -H y $-(CH_2)_2-CONH$, $-CH_2-CONH_1$, $-(CH_2)_2-SCH_3$, $-CH_2-S-CH_2-COOH$, respectivamente

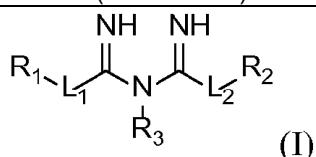
U^- es un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, X^+ es un resto catiónico de berberina, y $m = 1$ y $n = 1$. Los derivados o análogos de berberina a modo de ejemplo se enumeran en la **Tabla 2**.

- 5 Se describe U^- como un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de metformina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 4** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de metformina. Se describe U^- como un resto aniónico del ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de metformina, y $m = 1$ y $n = 1$.
- 10 Se describe U^- como un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de carnitina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 5** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de carnitina. Se describe U^- como un resto aniónico del ácido ursodesoxicólico siendo X^+ un resto catiónico de carnitina, y $m = 1$ y $n = 1$.
- 15 Se describe U^- como un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de coptisina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$.
- Se describe U^- como un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de palmatina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$.
- 20 Se describe U^- como un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de jatorrizina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$.
- Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de berberina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 2** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de berberina.
- 25 Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de berberina, y $m = 1$ y $n = 1$.
- 30 Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de metformina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 4** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de metformina. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de metformina y $m = 1$ y $n = 1$.
- 35 Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de carnitina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 5** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de carnitina.
- Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de carnitina, y $m = 1$ y $n = 1$.
- 40 Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de palmatina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$.
- Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de jatorrizina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$.

45

Tabla 4. Derivados o análogos de metformina

(continuación)



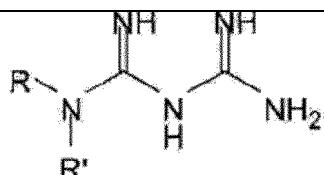
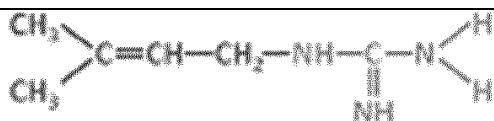
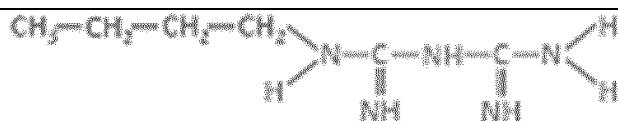
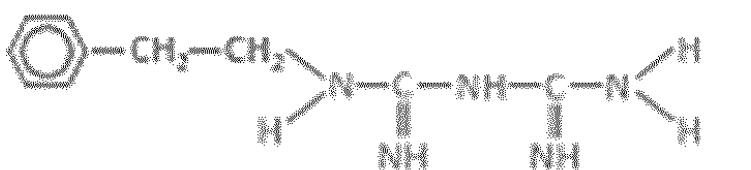
L^1 y L^2 son independientemente un enlace o $-\text{NH}-\text{C}(\text{NH})-$; R^1 es $-\text{NR}^{1A}\text{R}^{1B}$, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, o heteroarilo sustituido o no sustituido, en el que R^{1A} y R^{1B} están opcionalmente unidos entre sí para formar un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido;

R^2 es $-\text{NR}^{2A}\text{R}^{2B}$, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido o heteroarilo sustituido o no sustituido, en el que R^{2A} y R^{2B} están opcionalmente unidos entre sí para formar un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido;

R^1 , R^{1B} , R^{2A} y R^{2B} son independientemente hidrógeno, $-\text{OR}^4$, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, o heteroarilo sustituido o no sustituido;

R^3 es hidrógeno o alquilo C1-C5 no sustituido;

R^4 es hidrógeno, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido o heteroarilo sustituido o no sustituido



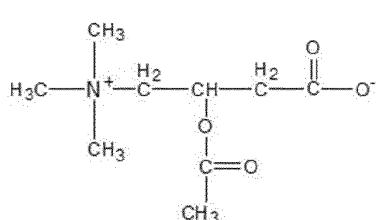
$\text{R}' = -\text{H}, -\text{Ph}, -\text{Ph}$ sustituido

$\text{R} = \text{R}_1 - \text{Ph}$ sustituido

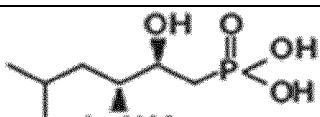
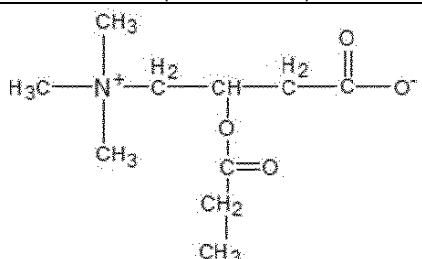
R_1 = alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₄, alquilo fluorado, acilo, éster, arilo, halógeno, NO₂, NH₂, -H, -OR₂, -SR₂

R_2 = alquilo C₁-C₆, alquilo fluorado C₁-C₄, acilo

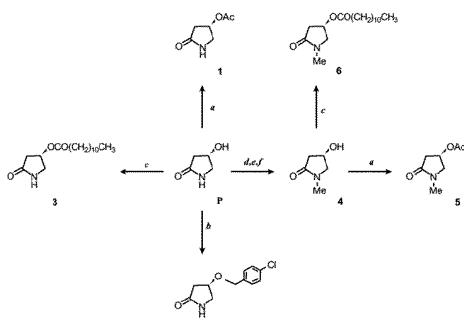
Tabla 5. Derivados o análogos de L-carnitina



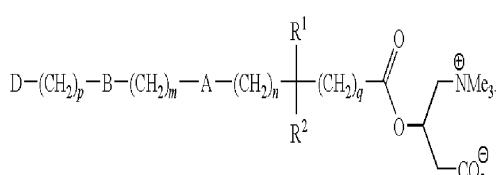
(continuación)



Análogo 2

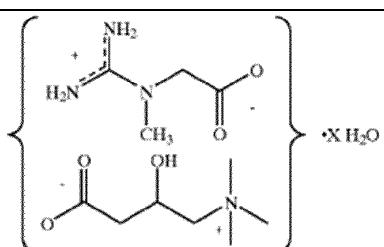


Fórmula 1



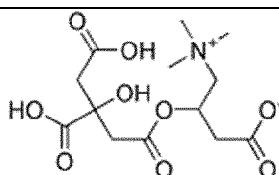
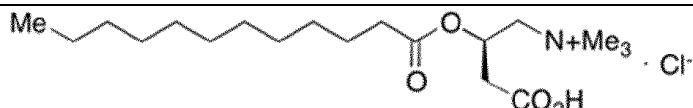
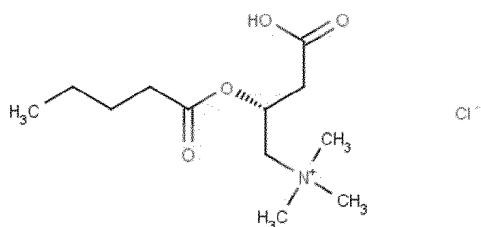
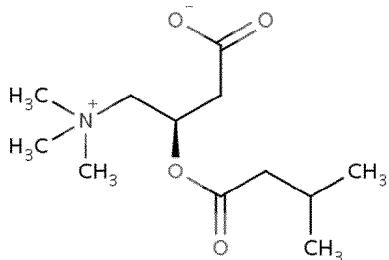
En la que A se selecciona del grupo que consiste en un enlace sencillo, 'Of o iCH₂i; m y n varían independientemente y son un número entero de 1 a 15; p y q varían independientemente y son un número entero de 0 a 1; B es iCR₃R₄; D se selecciona del grupo que consiste en iCOzRs, ADR₆, ADCOR₇, iSO3R₈, iSO2NH₂, iOPO (OR₉)(OR₁₀), A)PO(OR₉)(NH₂), iOPO(OR₉)i

OiPO₃ (OR₁₀)(OR₁₁), en el que R1 a R4 se seleccionan independientemente de alquilo C1-C6; y R5 a R11 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo C1-C6; cicloalquilo C3-C6; alquenilo C2-C6; alquinilo C6; arilo C5-C10 no sustituido o sustituido con alquilo C1-C6, hidroxilo, alcoxilo C1-C6, 1,3-dioxolanilo, ciano, halo, nitro, trihaloalquilo, carboxilo, acilo C1-C6, hidroxialquilo C1-C6, amino, alquilamino C1-C6, dialquilamino C1-C6, acilamino C1-C6, alcoxilcarbonilo C1-C6; arilalquilo C5-C6 no sustituido o sustituido con alquilo C1-C6, hidroxilo, alcoxilo C1-C6, 1,3-dioxolanilo, ciano, halo, trihaloalquilo, carboxilo, acilo C1-C6, hidroxialquilo C1-C6, amino, alquilamino C1-C6, dialquilamino C1-C6, acilamino C1-C6; sulfonatoalquilo C1-C6; sulfamilalquilo C1-C6; y fosfonatoalquilo C1-C6.



- En la que X es un número entero entre aproximadamente 0 y 5

(continuación)



Se describe una composición farmacéutica que comprende una cantidad de una sal de adición ácido-base que presenta la fórmula:



en la que

- (a) U^- es un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico o un derivado o análogo del mismo;
 (b) X^+ es un resto catiónico de una base orgánica farmacológicamente activa; y
 (c) m y n son números enteros seleccionados independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 para llegar a una sal de carga neutra,

eficaz para tratar, prevenir o reducir una o más enfermedades o trastornos seleccionados de hígado graso, NAFLD y NASH, enfermedades hepáticas colestásicas, enfermedad de injerto contra huésped del hígado, enfermedades hepáticas crónicas asociadas a virus, enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol, enfermedades o trastornos metabólicos como prediabetes, diabetes, dislipidemia diabética, dislipidemia en estatinas pacientes intolerantes, hiperlipidemia, obesidad o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos en un mamífero, incluido un ser humano, y se describe un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Se describe una composición farmacéutica que se usa para tratar, prevenir o reducir NASH. En ciertas realizaciones preferidas, la composición farmacéutica de la invención se usa para tratar, prevenir o reducir NAFLD. En ciertas realizaciones preferidas, la composición farmacéutica de la invención se usa para tratar, prevenir o reducir el hígado graso. En ciertas realizaciones preferidas, la composición farmacéutica de la invención se usa para tratar, prevenir o reducir una enfermedad o trastorno seleccionado entre enfermedades hepáticas colestásicas, enfermedad de injerto contra huésped del hígado, enfermedades hepáticas crónicas asociadas a virus, hígado relacionado con el alcohol. Se describen enfermedades, enfermedades o trastornos metabólicos tales como prediabetes, diabetes, dislipidemia diabética, dislipidemia en pacientes intolerantes a las estatinas, hiperlipidemia u obesidad.

En el contexto de la composición farmacéutica de la invención, U^- es un resto aniónico de ursodesoxicólico, por ejemplo, mostrado en la Tabla 3. X^+ puede ser un resto catiónico de berberina.

Se describe U^- como un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de berberina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 2** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de berberina. En determinadas realizaciones preferidas, U^- es un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, X^+ es un resto catiónico de berberina y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de metformina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 4** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de metformina. Se describe U^- como un resto aniónico del ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de metformina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de coptisina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico del ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de palmatina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico del ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de jatrorrizina, y $m = 1$ y $n = 1$.

Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de berberina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 2** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de berberina. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de berberina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de metformina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 4** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de metformina. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de metformina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de coptisina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de palmatina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de jatrorrizina, y $m = 1$ y $n = 1$.

En determinadas realizaciones preferidas, la composición farmacéutica incluye además un compuesto seleccionado del grupo que consiste en vitamina E, ácidos grasos omega-3, S-adenosilmetionina, N-acetilcisteína, silimarina, polienilfosfatidilcolina, resveratrol o vitamina D.

En otro aspecto más, la invención generalmente se refiere a una composición farmacéutica que comprende una sal de adición de ácido-base que presenta la fórmula:



en la que

- (a) U^- es un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico;
- (b) X^+ es un resto catiónico de berberina; y
- (c) m es 1 y n es 1,

un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento o reducción de una o más enfermedades o trastornos seleccionados entre hígado graso, enfermedad del hígado graso no alcohólica (NAFLD) y esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedades hepáticas colestásicas, enfermedad de injerto contra huésped del hígado, enfermedades hepáticas crónicas asociadas a virus, enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol, enfermedades o trastornos metabólicos tales como prediabetes, diabetes, dislipidemia diabética, dislipidemia en pacientes intolerantes a las estatinas, hiperlipidemia, obesidad o una enfermedad relacionada o trastorno de las mismas.

En determinadas realizaciones preferidas, la composición se utiliza para tratar, prevenir o reducir la NASH. En determinadas realizaciones preferidas, la composición se usa para tratar, prevenir o reducir la NAFLD. En determinadas realizaciones preferidas, la composición se utiliza para tratar, prevenir o reducir el hígado graso. En determinadas realizaciones preferidas, la composición se utiliza para tratar, prevenir o reducir una enfermedad o trastorno seleccionado entre enfermedades hepáticas colestásicas, enfermedad de injerto contra huésped del hígado, enfermedades hepáticas crónicas asociadas a virus, enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol, enfermedades o trastornos metabólicos tales como prediabetes, diabetes, dislipidemia diabética, dislipidemia en pacientes intolerantes a las estatinas, hiperlipidemia, obesidad o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos.

En el contexto de la composición para el uso de la invención, U^- es un resto aniónico de ursodesoxicólico, por ejemplo, tal como se muestra en la **Tabla 3**. X^+ es un resto catiónico de berberina. También se describe X^+ como un resto catiónico de otra base orgánica que generalmente se reconoce como farmacológicamente activa para una o más enfermedades o trastornos seleccionados entre hígado graso, NAFLD y NASH, enfermedades hepáticas colestásicas, enfermedad de injerto contra huésped del hígado, enfermedades hepáticas crónicas asociadas a virus, enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol, enfermedades o trastornos metabólicos tales como prediabetes, diabetes, dislipidemia diabética, dislipidemia en pacientes intolerantes a las estatinas, hiperlipidemia, obesidad o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos en un mamífero, incluyendo un humano.

En el contexto de la composición, se describe U^- como un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de berberina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 2** se enumeran

ejemplos de derivados o análogos de berberina. Se describe U^- como un resto aniónico del ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de berberina y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de metformina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 4** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de metformina. Se describe U^- como un resto aniónico del ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de metformina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de carnitina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 5** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de carnitina. Se describe U^- como un resto aniónico del ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de carnitina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico del ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de coptisina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico del ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de palmatina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico del ácido ursodesoxicólico, siendo X^+ un resto catiónico de jatorrizina, y $m = 1$ y $n = 1$. En determinadas realizaciones preferidas, la composición farmacéutica incluye, además, un compuesto seleccionado del grupo que consiste en vitamina E, ácidos grasos omega-3, S-adenosilmetionina, N-acetilcisteína, silimarina, polienilfosfatidilcolina, resveratrol o vitamina D. Se describe el tratamiento, la reducción o la prevención de una enfermedad o trastorno normalizando los niveles de enzimas hepáticas del sujeto.

En el contexto de la composición, se describe U^- como es un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de berberina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 2** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de berberina. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de berberina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de metformina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 4** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de metformina. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de metformina y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de carnitina o un derivado o análogo de la misma, y $m = 1$ y $n = 1$. En la **Tabla 5** se enumeran ejemplos de derivados o análogos de carnitina. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de carnitina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de coptisina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de palmatina, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe U^- como un resto aniónico de ácido obeticólico, siendo X^+ un resto catiónico de jatorrizina, y $m = 1$ y $n = 1$. En determinadas realizaciones preferidas, la composición farmacéutica incluye además un compuesto seleccionado del grupo que consiste en vitamina E, ácidos grasos omega-3, S-adenosilmetionina, N-acetilcisteína, silimarina, polienilfosfatidilcolina, resveratrol o vitamina D. En determinadas realizaciones preferidas, se describe el tratamiento, la reducción o la prevención de una enfermedad o trastorno normalizando los niveles de enzimas hepáticas del sujeto.

Sales de Berberina o Derivados

La invención proporciona además una sal de adición ácido-base de acuerdo con la reivindicación 1 y composiciones farmacéuticas de la misma para su uso en el tratamiento de diversas enfermedades o trastornos.

Las sales de berberina incluyen aquellas con ácido ursodesoxicólico.

Se describe una sal de adición ácido-base en forma sustancialmente pura, que presenta la fórmula:



en la que

- (a) B^+ es un resto catiónico de berberina o un derivado o análogo de la misma;
- (b) Y^- es un resto aniónico de un ácido orgánico farmacológicamente activo; y
- (c) m y n son números enteros seleccionados independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 para llegar a una sal de carga neutra.

El derivado o análogo de la berberina se muestra en la **Tabla 2**.

Los ácidos orgánicos farmacológicamente activos se seleccionan del grupo que consiste en ácido R-(+)- α -lipoico, ácido hidroxicítrico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido docosapentaenoico, ácido ursólico, ácido corosólico, ácido cinámico, ácido cónico, ácido obeticólico ácido, ácido ursodesoxicólico, ácido oleanólico, ácido salicílico, ácido betulínico, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido bassico, acetil L-carnitina, sulfóxido de S-alil cisteína, sulfóxido de S-metil cisteína, ácido pantoténico, ácido ascórbico, ácido retinoico, nicotínico ácido, biotina y otros ácidos orgánicos que generalmente se reconocen como farmacológicamente activos para una o más enfermedades o trastornos seleccionados entre trastornos metabólicos, enfermedades cardíacas, aterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades hepáticas, sarcopenia, atrofia muscular, inflamación y cáncer o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos en un mamífero, incluyendo el ser humano por los expertos en la materia.

Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- es un resto aniónico de ácido R-(+)- α -lipoico y m = 1 y n = 1.

5 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- resto aniónico de ácido hidroxicítrico, y m = 1 y n = 1, o m = 2, n = 1 o m = 3, n = 1.

Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de EPA, y m = 1 y n = 1.

10 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de DHA, y m = 1 y n = 1.

10 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de DPA, y m = 1 y n = 1.

15 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de ácido ursólico, y m = 1 y n = 1.

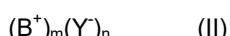
15 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de ácido corosólico, y m = 1 y n = 1.

Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de ácido cólico, y m = 1 y n = 1.

20 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, y m = 1 y n = 1.

25 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de ácido obeticólico, y m = 1 y n = 1.

25 Se describe una composición farmacéutica que comprende una cantidad de una sal de adición ácido-base que presenta la fórmula:



30 en la que

(a) B^+ es un resto catiónico de berberina o un derivado o análogo de la misma;

(b) Y^- es un resto aniónico de un ácido orgánico farmacológicamente activo; y

35 (c) m y n son números enteros seleccionados independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 para llegar a una sal de carga neutra,

efectiva para tratar, prevenir o reducir una o más enfermedades o trastornos seleccionados de trastornos metabólicos, enfermedades cardíacas, aterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades hepáticas, 40 sarcopenia, atrofia muscular, inflamación y cáncer, o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos en un mamífero, incluyendo el ser humano, y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

45 La enfermedad o trastorno es un trastorno metabólico que se selecciona de diabetes, complicaciones diabéticas, dislipidemia, dislipidemia diabética, dislipidemia en pacientes con intolerancia a las estatinas, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, síndromes metabólicos y prediabetes. En determinadas realizaciones, se describe que el trastorno metabólico es diabetes de tipo 1 o tipo 2.

50 Se describe la enfermedad o trastorno que es cáncer. Se describe el cáncer que se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, carcinoma hepatocelular, cáncer de páncreas, carcinoma gástrico, cáncer colorrectal, leucemia, mieloma múltiple, melanoma y glioblastoma.

Se describe la enfermedad o trastorno que son enfermedades del corazón.

Se describe la enfermedad o trastorno que es la aterosclerosis.

55 Se describe la enfermedad o trastorno que es sarcopenia.

Se describe la enfermedad o trastorno que es la atrofia muscular. Se describe la enfermedad o trastorno que es la atrofia muscular que se selecciona de la atrofia del músculo esquelético.

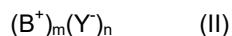
60 Se describe el derivado o análogo de berberina seleccionado de la **Tabla 2**.

65 En la composición farmacéutica, se describe la selección del ácido orgánico farmacológicamente activo del grupo que consiste en ácido R-(+)- α -lipoico, ácido hidroxicítrico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido docosapentaenoico, ácido ursólico y ácido corosólico, cinámico, ácido, ácido cólico, ácido obeticólico, ácido ursodesoxicólico, ácido oleanólico, ácido salicílico, ácido betulínico, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido bassico,

5 acetil L-carnitina, sulfóxido de S-alil cisteína, sulfóxido de S-metil cisteína, ácido pantoténico, ascórbico ácido, ácido retinoico, ácido nicotínico, biotina y otros ácidos orgánicos que generalmente se reconocen como farmacológicamente activos para una o más enfermedades o trastornos seleccionados entre trastornos metabólicos, enfermedades cardíacas, aterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades hepáticas, sarcopenia, atrofia muscular, inflamación y cáncer, o una enfermedad relacionada o trastorno relacionado con el mismo en un mamífero, incluyendo el humano, por los expertos en la técnica.

10 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo X^- un resto aniónico de ácido R-(+)- α -lipoico, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo X^- un resto aniónico de ácido hidroxicítrico, y $m = 1$ y $n = 1$, o $m = 2$, $n = 1$, o $m = 3$, $n = 1$. Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo X^- un resto aniónico de EPA, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo X^- un resto aniónico de DHA, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo X^- un resto aniónico de DPA, y $m = 1$ y $n = 1$. Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo X^- un resto aniónico de ácido ursólico, y $m = 1$ y $n = 1$.

15 15 Se describe una composición farmacéutica que comprende una cantidad de una sal de adición ácido-base que presenta la fórmula de:



20 en la que

(a) B^+ es un resto catiónico de berberina o un derivado o análogo de la misma;

(b) Y^- es un resto aniónico de un ácido orgánico farmacológicamente activo; y

25 (c) m y n son números enteros seleccionados independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 para llegar a una sal de carga neutra,

30 efectiva para tratar, prevenir o reducir una o más enfermedades o trastornos seleccionados de trastornos metabólicos, enfermedades cardíacas, aterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades hepáticas, sarcopenia, atrofia muscular, inflamación y cáncer, o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos en un mamífero, incluyendo el ser humano, y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

35 Se describe un trastorno metabólico que se selecciona de entre diabetes, complicaciones diabéticas, dislipidemia, dislipidemia diabética, dislipidemia en pacientes intolerantes a las estatinas, obesidad, síndromes metabólicos, prediabetes, hígado graso, NAFLD y NASH. Se describe que el trastorno metabólico es diabetes tipo 1 o tipo 2.

Se describe el derivado o análogo de berberina que se selecciona de la **Tabla 2**.

40 Se describe que el ácido orgánico farmacológicamente activo se selecciona del grupo que consiste en ácido R-(+)- α -lipoico, ácido hidroxicítrico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido docosapentaenoico, ácido ursólico y ácido coróslico, ácido cinámico, ácido cónico, ácido obeticólico, ácido ursodesoxicólico, ácido oleanólico, ácido salicílico, ácido betulínico, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido bassico, acetil L-carnitina, sulfóxido de S-alil cisteína, sulfóxido de S-metil cisteína, ácido pantoténico, ácido ascórbico, ácido retinoico, ácido nicotínico, biotina y otros ácidos orgánicos que generalmente se reconocen como farmacológicamente activos para una o más enfermedades o trastornos seleccionados entre trastornos metabólicos, enfermedades cardíacas, aterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades hepáticas, sarcopenia, atrofia muscular, inflamación y cáncer, o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos en un mamífero, incluyendo el ser humano, por los expertos en la técnica.

50 50 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de ácido R-(+)- α -lipoico, y $m = 1$ y $n = 1$, padeciendo el sujeto diabetes y complicaciones diabéticas.

55 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de ácido hidroxicítrico, y $m = 1$ y $n = 1$, o $m = 2$, $n = 1$ o $m = 3$, $n = 1$, padeciendo el sujeto diabetes y obesidad.

55 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de EPA, y $m = 1$ y $n = 1$, padeciendo el sujeto diabetes y dislipidemia, o enfermedades cardíacas, aterosclerosis o enfermedades neurodegenerativas.

60 60 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de DHA, y $m = 1$ y $n = 1$, padeciendoo el sujeto padece diabetes y dislipidemia, o enfermedades cardíacas, aterosclerosis o enfermedades neurodegenerativas.

Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de DPA, y $m = 1$ y $n = 1$, padeciendo el sujeto diabetes y dislipidemia, o enfermedades cardíacas, aterosclerosis o enfermedades neurodegenerativas.

5 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de ácido ursólico, y $m = 1$ y $n = 1$, padeciendo el sujeto diabetes y sarcopenia o atrofia muscular.

10 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de ácido corosólico, y $m = 1$ y $n = 1$, padeciendo el sujeto diabetes y sarcopenia o atrofia muscular.

10 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de ácido cólico, y $m = 1$ y $n = 1$, padeciendo el sujeto dislipidemia, hígado graso, hígado graso no alcohólico o NASH.

15 Se describe B^+ como un resto catiónico de berberina, siendo Y^- un resto aniónico de ácido obeticólico, y $m = 1$ y $n = 1$, padeciendo el sujeto dislipidemia, hígado graso, NAFLD o NASH.

En determinadas realizaciones del método, B^+ es un resto catiónico de berberina e Y^- es un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico, y $m = 1$ y $n = 1$, y el sujeto padece dislipidemia, hígado graso, NAFLD o NASH

20 Tal como se describe en el presente documento, el tratamiento, la reducción o la prevención de un trastorno metabólico se lleva a cabo reduciendo los niveles de glucosa en sangre del sujeto. Tal como se describe en el presente documento, el tratamiento, la reducción o la prevención de un trastorno metabólico se lleva a cabo reduciendo los niveles de colesterol total (TC), triglicéridos (TG) y colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL-c), aumentando los niveles de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) del sujeto. Tal como se describe en el presente documento, el tratamiento, la reducción o la prevención de un trastorno metabólico se lleva a cabo normalizando los niveles de enzimas hepáticas del sujeto. Tal como se describe en el presente documento, el tratamiento, la reducción o la prevención de un trastorno metabólico se lleva a cabo normalizando los niveles de lípidos hepáticos del sujeto. Tal como se describe en el presente documento, el tratamiento, la reducción o la prevención de un trastorno metabólico se lleva a cabo alterando la vía de señalización de la insulina de modo que se reducen los niveles de glucosa. Tal como se describe en el presente documento, el tratamiento, la reducción o la prevención de un trastorno metabólico se lleva a cabo mediante la regulación de múltiples vías metabólicas tales como el aumento de la secreción de insulina, la mejora de la sensibilidad a la insulina, la reducción de la gluconeogénesis en el hígado, la reducción de la absorción de glucosa, la mejora de la dislipidemia, la antiinflamación para lograr los efectos farmacológicos deseados.

35 Se pretende que los siguientes ejemplos sean ilustrativos de la práctica de la invención y no limiten en modo alguno la misma.

Ejemplos

40 **Ejemplo 1. Eficacia de la combinación de berberina y ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA); o berberina y ácido ursólico (UA) en modelo de ratones diabéticos inducidos por una dieta rica en grasas/estreptozocina**

45 Este ejemplo describe un estudio de eficacia *in vivo* de las combinaciones descritas en la presente invención usando una dieta rica en grasas (HFD) y un modelo de ratones diabéticos inducidos por estreptozotocina (STZ).

50 Se adquirieron sesenta ratones macho NIH de 4 semanas de edad del Instituto de Animales de Laboratorio de Guangzhou. Después de la aclimatación durante una semana, se seleccionaron cinco ratones como grupo de control normal (Grupo 1), a los cincuenta y cinco ratones restantes se les administró una dosis única de STZ a una dosis de 40 mg/kg y se les alimentó con HFD (en la cual el 40 % de calorías proviene de la grasa) durante 7 días para establecer un modelo animal diabético que se asemeje a la fisiopatología de la diabetes tipo 2 en humanos. A los ratones del grupo de control normal no se les administró STZ y se les alimentó con una dieta de pienso normal.

55 Para los cincuenta y cinco ratones inducidos con STZ y HFD, se seleccionaron cuarenta de ellos con glucosa en sangre en ayunas superior a 12,0 mmol/L en el séptimo día después de la administración de STZ y se asignaron al azar en 4 grupos ($n = 10$ por grupo):

- 60 Grupo 2: Control con vehículo (solución salina normal)
- Grupo 3: Control positivo (Metformina 300 mg/kg)
- Grupo 4: Combinación de berberina (150 mg/kg) y UA (150 mg/kg)
- Grupo 5: combinación de berberina (150 mg/kg), EPA (75 mg/kg) y DHA (75 mg/kg)

65 Los ratones del Grupo 2 al 5 se trajeron con los artículos de prueba correspondientes indicados anteriormente una vez al día mediante sonda intragástrica. La HFD continuó durante la duración del tratamiento de 28 días. Los ratones normales (Grupo 1) se trajeron con solución salina normal mediante sonda intragástrica. Durante todo el estudio se

midieron los niveles de glucosa en sangre en ayunas, colesterol total (TC) y triglicéridos (TG), ingesta de alimentos, ingesta de agua y peso corporal.

- 5 El día 28 del tratamiento, se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) en animales en ayunas de 12 horas. Para la OGTT, después de la medición de la concentración basal de glucosa ($T = -30$ min), los ratones recibieron una prueba de glucosa oral a 2,5 g/kg y los valores de glucosa se determinaron mediante glucómetro (ACCU-CHEK Active, Roche) a los 0, 30, 60 y 120 min.
- 10 Después de la OGTT, se recogieron muestras de sangre para medir la glucosa en sangre, TC y TG. Los ratones se sacrificaron y se recogieron el páncreas, el hígado, el riñón y la grasa para el análisis histopatológico.

Los resultados experimentales se enumeraron en la Tabla 6 y la Tabla 7.

Tabla 6. Peso corporal promedio, ingesta de alimentos e ingesta de agua en diferentes grupos de tratamiento*

Grupo		Peso (g)		Ingesta de alimentos (g)		Ingesta de agua (mL)		
		Día 0	Día 27	Día 3	Día 27	Día 3	Día 6	Día 27
n.º 1	Normal	27,80±1,45 (n=5)	34,20±2,84 (n=5)	3,69 (n=5)	4,88 (n=5)	7,60 (n=5)	8,40 (n=5)	7,20 (n=5)
n.º 2	Control con vehículo	27,20±1,47 (n=10)	34,70±3,32 (n=10)	7,46 (n=10)	13,78 (n=10)	19,20 (n=10)	24,40 (n=10)	32,00 (n=10)
n.º 3	Metformina	26,30±2,54 (n=10)	36,99±3,90 (n=10)	8,66 (n=10)	9,37 (n=10)	19,40 (n=10)	23,60 (n=10)	34,40 (n=10)
n.º 4	Berberina+ UA	26,20±1,77 (n=10)	26,13±2,95 (n=8)^{a,b}	9,08 (n=10)	6,59 (n=8)^e	19,40 (n=10)	19,00 (n=10)	13,25 (n=8)^{a,b}
n.º 5	Berberina+ EPA/DHA	25,90±2,04 (n=10)	29,76±4,89 (n=10)^{c,d}	8,35 (n=10)	5,79 (n=10)^f	19,40 (n=10)	20,00 (n=10)	14,20 (n=10)^{c,d}

* 1) El peso corporal se midió el día 0 y el día 27 el día anterior al sacrificio, para minimizar las variaciones causadas por el ayuno de 12 horas.

2) La ingesta de alimentos y la ingesta de agua se midieron dos veces por semana durante todo el estudio y se presentan datos representativos.

3) Se encontraron muertos dos animales del Grupo 4 durante todo el estudio. Los resultados de la autopsia indicaron una manipulación inadecuada al administrar la dosis por sonda nasogástrica.

^{a, b} diferencia significativa entre G4 y G2, G3 ($p < 0,001$)

^{c, d} diferencia significativa entre G5 y G2, G3 ($p < 0,01$)

^e diferencia significativa entre G4 y G2 ($p < 0,05$)

^f diferencia significativa entre G5 y G2 ($p < 0,01$)

Tabla 7. Promedio de glucosa en sangre, colesterol total y triglicéridos en ayunas en diferentes grupos de tratamiento

Grupo	Glucosa en sangre en ayunas (mmol/L)		Colesterol total (mg/dL)		Triglicéridos (mmol/L)	
	Día 0	Día 28	Día 0	Día 28	Día 0	Día 28
n.º 1 Normal	11,59±1,12 (n=5)	3,84±0,26 (n=5)	222,93±16,17 (n=5)	234,63±57,65 (n=5)	1,02±0,31 (n=5)	1,94±0,33 (n=5)
n.º 2 Control con vehículo	24,74±8,47 (n=10)	24,58±6,01 (n=10)	303,90±65,51 (n=10)	335,49±103,95 (n=10)	2,16±0,78 (n=10)	4,99±6,01 (n=10)
n.º 3 Metformina	24,08±5,44 (n=10)	21,66±4,71 (n=10)	297,96±67,09 (n=10)	436,99±159,73 (n=10)	2,40±1,03 (n=10)	6,06±6,71 (n=10)
n.º 4 Berberina + UA	23,78±8,56 (n=10)	14,70±7,22 (n=8)^a	327,52±55,60 (n=10)	264,30±81,49 (n=8)^b	2,15±0,87 (n=10)	2,87±1,28 (n=8)^d
n.º 5 Berberina + EPA / DHA	24,36±7,43 (n=10)	18,20±8,71 (n=10)	303,07±47,27 (n=10)	242,39±53,82 (n=10)^c	2,56±1,01 (n=10)	4,16±3,66 (n=10)

^a diferencia significativa entre G4 y G2 ($p < 0,01$)^{b,c} diferencia significativa entre G4, G5 y G3 ($p < 0,001$)^d diferencia significativa entre G4 y G3 ($p < 0,05$)

Estos resultados demostraron que las combinaciones de berberina y EPA/DHA, y berberina y UA mejoraron eficazmente los síntomas de diabetes inducida por HFD/STZ en el modelo de ratones diabéticos. Por el contrario, aunque se utilizó en la dosis terapéutica sugerida, la metformina, un fármaco antidiabético oral utilizado como primera línea de elección para el tratamiento de la diabetes tipo 2, no demostró una eficacia clara en este estudio.

5 Se están realizando más estudios para verificar las observaciones realizadas en este estudio.

Ejemplo 2. Efectos sinérgicos de la combinación de berberina y ácido hidroxicítrico en un modelo de ratones con obesidad inducida por una dieta rica en grasas

10 Este ejemplo describe un estudio de eficacia *in vivo* de las combinaciones descritas en la presente invención usando un modelo de ratones con obesidad inducida por dieta rica en grasas (HFD).

15 Se adquirieron cincuenta ratones macho NIH de 4 semanas de edad (Instituto de Animales de Laboratorio de Guangzhou). Después de la aclimatación durante una semana, se seleccionaron ocho ratones como control normal; los cuarenta y dos ratones restantes fueron alimentados con HFD (en la que el 40 % de las calorías proviene de la grasa) durante 14 días para establecer un modelo de ratones con obesidad inducida por HFD que se asemeja a la fisiopatología del síndrome metabólico en humanos. Los ratones de control normales se alimentaron con una dieta de pienso normal. Para los cuarenta y dos ratones alimentados con HFD durante 14 días, se seleccionaron treinta y dos de ellos con un peso corporal entre un 15 % y un 20 % por encima del control normal y se asignaron al azar en 4 grupos ($n = 8$ por grupo):

20 Grupo 1: Control con vehículo (solución de carboximetilcelulosa (CMC) al 1 %)

25 Grupo 2: Berberina (50 mg/kg en solución de CMC al 1 %)

25 Grupo 3: Ácido hidroxicítrico (50 mg/kg en solución de CMC al 1 %)

30 Grupo 4: Combinación (berberina (50 mg/kg) y ácido hidroxicítrico (50 mg/kg) en una solución de CMC al 1 %)

35 Los ratones del Grupo 1 al 4 se trajeron con los artículos de prueba correspondientes indicados anteriormente una vez al día mediante sonda intragástrica. La HFD continuó durante la duración del tratamiento de 28 días. Durante todo el estudio se midieron los niveles de glucosa en sangre (en ayunas y no), colesterol total (TC) y triglicéridos (TG), ingesta de alimentos, ingesta de agua y peso corporal.

40 El día 28 del tratamiento, se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) en animales con ayuno de 12 horas. Para el OGTT, después de la medición de la concentración basal de glucosa ($T = -30$ min), los ratones recibieron una prueba de glucosa oral a 2,5 g/kg y los valores de glucosa se determinaron mediante glucómetro (ACCU-CHEK Active, Roche) a los 0, 30, 60 y 120 min.

45 Despues de la OGTT, se recogieron muestras de sangre para la medición de glucosa en sangre, TC y TG. Los ratones se sacrificaron y se recogieron el páncreas, el hígado, el riñón y la grasa para el análisis histopatológico.

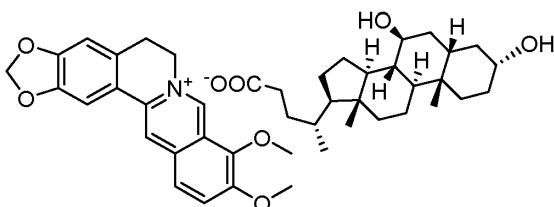
El estudio se llevó a cabo durante 15 días y los resultados experimentales intermedios se presentaron en las Figuras 1-4.

50 Estos resultados demostraron que la tendencia de los efectos sinérgicos de la combinación de berberina y ácido hidroxicítrico. En particular, cuando se usa individualmente a la dosis de 50 mg/kg, ni la berberina (Grupo 2) ni el ácido hidroxicítrico (Grupo 3) demostraron ningún efecto farmacológico en comparación con el grupo de control con vehículo (Grupo 1); sin embargo, cuando se usaron juntos (Grupo 4), se observó una reducción en el aumento de peso corporal y una normalización del nivel de glucosa en sangre. Se recopilarán datos adicionales una vez finalizado el estudio.

Ejemplo 3. Síntesis y análisis de la sal ursodesoxicólico de metformina

55 Se disolvieron 5 mmol de clorhidrato de metformina en una solución acuosa de NaOH y se dejó reaccionar a temperatura ambiente hasta que se obtuvo una solución transparente e incolora. El disolvente se evaporó para producir un polvo blanco. El polvo blanco se añadió a etanol absoluto y luego la suspensión obtenida se filtró para eliminar el precipitado blanco (NaCl). El filtrado se evaporó en un rotavapor y luego se secó al vacío para producir un polvo blanco de Met-OH. El Met-OH se disolvió en etanol absoluto y se hizo reaccionar con UDCA a temperatura ambiente para producir una solución transparente de color amarillo claro. La solución se evaporó en un rotavapor y el residuo se secó al vacío (temperatura ambiente). El polvo blanco resultante se caracterizó luego con ^1H RMN e IR (Figuras 5-6), que indicaron la formación de la sal ursodesoxicólico de metformina con estequiometría 1:1 de Met: UDCA.

65 **Ejemplo 4. Síntesis y análisis de la sal ursodesoxicólico de berberina**



Ursodesoxicoloate de berberina

- Se disolvió BBR-Cl (1,0 eq.) en agua destilada caliente y luego la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Al mismo tiempo, se disolvió ácido ursodesoxicólico (0,9-1,5 eq.) en etanol anhidro. La solución acuosa de NaCO₃ (0,9-1,5 eq.) se añadió gota a gota a la solución de etanol obtenida del ácido ursodesoxicólico. Luego, la mezcla de reacción resultante se agitó durante 15-45 minutos y se obtuvo una solución de sal de sodio de ácido ursodesoxicólico.
- 5 La solución de BBR-Cl se añadió gota a gota a la anterior solución de sal de sodio de ácido ursodesoxicólico a 60-80 °C. Se dejó agitar la mezcla a la misma temperatura durante 2 horas y luego se enfrió a temperatura ambiente. El sólido precipitado se filtró y la torta húmeda se recogió y se secó al vacío por debajo de una temperatura de 40 °C para producir ursodesoxicoloate de berberina crudo.
- 10 Se purificó el ursodesoxicoloate de berberina crudo mediante cristalización con etanol y acetato de etilo. Se dejó agitar la mezcla durante 7-8 horas y luego se centrifugó para eliminar el disolvente y recoger el polvo amarillo. El polvo amarillo se enjuagó de nuevo con acetato de etilo y se repitieron dos veces los procedimientos anteriores. El polvo amarillo resultante final se secó al vacío a una temperatura de 40 °C para obtener ursodesoxicoloate de berberina purificado.
- 15 Se purificó el ursodesoxicoloate de berberina crudo mediante cristalización con etanol y acetato de etilo. Se dejó agitar la mezcla durante 7-8 horas y luego se centrifugó para eliminar el disolvente y recoger el polvo amarillo. El polvo amarillo se enjuagó de nuevo con acetato de etilo y se repitieron dos veces los procedimientos anteriores. El polvo amarillo resultante final se secó al vacío a una temperatura de 40 °C para obtener ursodesoxicoloate de berberina purificado.
- 20 El polvo amarillo resultante se caracterizó luego con ¹H-NMR, IR y MS (Figuras 7-12). A partir de la ¹H-NMR (Figuras 7-8) y la IR (Figuras 9-10) se pueden ver claras distinciones entre la mezcla simple de berberina y UDCA (1:1) frente al ursodesoxicoloate de berberina, lo que indica la formación de sal ursodesoxicoloate de berberina con estequiométría 1:1 de BBR:UDCA. Los espectros de MS (Figuras 11-12) indicaron que, en el modo MS negativo, se identificó la masa molecular de UDCA [M-H]⁻ 391,28. Y en el modo MS positivo, se identificó la masa molecular de BBR⁺ 336,14.
- 25 Un método sintético alternativo aprovecha la alta solubilidad en EtOH del ursodesoxicoloate de berberina junto con la solubilidad de BBR en MeOH y la solubilidad del UDCA sódico en EtOH. Por ejemplo:
- 30 1) Disolver BBR (1,5 eq.) en MeOH a TA. (Solución A)
2) Disolver UDCA (0,9 – 1,5 eq.) en EtOH a TA, agregar solución de etóxido de sodio (Solución B)
3) Agregar la Solución A a la Solución B a temperatura ambiente y agitar durante 2-5 horas. Eliminar el NaCl mediante filtración al vacío y concentrar el filtrado (T <40 °C).
4) Purificar el ursodesoxicoloate de berberina crudo disolviendo el producto crudo en EtOH (u otro disolvente adecuado) y eliminando el NaCl residual por filtración. De manera alternativa, puede ser posible purificar el producto crudo por "cristalización" en un disolvente adecuado
- 35 **Ejemplo 5. Eficacia del ursodesoxicoloate de berberina (BUDCA) en el modelo de ratones con hígado graso no alcohólico inducido por una dieta rica en grasas**
- 40 Este ejemplo describe un estudio de eficacia *in vivo* de BUDCA descrito en la presente invención usando un modelo de ratones con hígado graso no alcohólico inducido por una dieta rica en grasas (HFD).
- 45 Se obtuvieron 91 ratones macho NIH de 4 semanas de Vital River Laboratories (Beijing, China). Despues de la aclimatación durante una semana, se seleccionaron 13 ratones como grupo de control (Grupo 1, G1) con una dieta de pienso normal, y los otros 78 ratones se alimentaron con HFD (en la que el 40 % de las calorías proviene de la grasa) durante 4 semanas para establecer un modelo animal que se asemeja a la fisiopatología del hígado graso no alcohólico en humanos.
- 50 Despues de 4 semanas de intervención dietética alta en grasas, los 78 ratones se dividieron en 6 grupos según el peso corporal (n = 13 por grupo):
- 55 Grupo 2, G2: Control de vehículos (solución de CMC-Na al 0,5 %)
 Grupo 3, G3: grupo de dosis baja de BUDCA (30 mg/kg)
 Grupo 4, G4: grupo de dosis media de BUDCA (100 mg/kg)
 Grupo 5, G5: grupo de dosis alta de BUDCA (300 mg/kg)
 Grupo 6, G6: grupo de control con BBR (Berberina HCl, 150 mg/kg)
 Grupo 7, G7: grupo control con UDCA (ácido ursodesoxicólico, 150 mg/kg)

A los ratones de G2 a G7 se les administraron los correspondientes artículos de prueba indicados anteriormente una vez al día mediante sonda intragástrica. La HFD continuó durante la duración del tratamiento de 6 semanas. Los ratones normales (G1) se trataron con vehículo (solución de CMC-Na al 0,5 %) mediante sonda intragástrica. Al final del experimento, se midieron los siguientes parámetros bioquímicos y se realizaron las pruebas:

- Peso corporal, la proporción de peso del hígado.
- Niveles de colesterol total (TC) y triglicéridos (TG), colesterol de lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) y colesterol de lipoproteínas de baja densidad (C-LDL)
- Niveles de alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST)
- Actividad de superóxido dismutasa (SOD) y nivel de malondialdehído (MDA)
- Prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT)
- Examen histopatológico del hígado (tinción con Sultan III)

Después de 6 semanas de tratamiento, se extrajo sangre mediante sangrado retroorbital de cada animal con ayuno de 12 horas. El hígado se extrajo mediante cirugía para el análisis histopatológico después de la medición del peso. Luego se aisló el suero para la determinación de TC, TG, HDL-C, LDL-C, ALT, AST, SOD y MDA.

Una semana antes del sacrificio (semana 5 de tratamiento), se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) en animales con ayuno de 12 horas. Para la OGTT, todos los ratones recibieron una prueba de glucosa oral a 2,0 g/kg y las concentraciones de glucosa en sangre se determinaron mediante glucómetro (ACCU-CHEK Active, Roche) a los 0, 30, 60, 90 y 120 min.

El tejido hepático se evaluó histopatológicamente mediante tinción con Sultan III después de la sección congelada.

Los resultados experimentales se enumeraron a continuación.

Tabla 8. Peso corporal y parámetros bioquímicos en varios grupos

GRUPO	Peso corporal (g)	Relación en peso del hígado (%)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
G1	42,6±0,82	3,77±0,12	4,76±0,18	0,75±0,07	2,74±0,11	0,61±0,05
G2	45,7±0,68**	4,41±0,15**	7,60±0,76**	2,03±0,19**	2,65±0,26	1,79±0,24**
G3	40,3±1,18##	4,33±0,13	5,49±0,25#	1,18±0,20##	2,33±0,15	1,05±0,09##
G4	41,7±1,59#	4,15±0,09	5,28±0,50#	0,92±0,06##	2,26±0,22	1,06±0,11#
G5	41,5±1,16##	4,27±0,10	5,95±0,54	0,85±0,06##	2,48±0,15	1,03±0,22#
G6	42,4±1,37#	4,26±0,12	5,97±0,47	1,00±0,08##	2,47±0,20	1,42±0,21
G7	42,0±1,16#	4,77±0,26	4,77±0,70#	1,20±0,22#	2,13±0,33	1,37±0,26

Los datos se expresan como la media ± S.E.M (n = 7~13).

* p <0,05, ** p <0,01 G2 frente a G1

p <0,05, ## p <0,01 G3, G4, G5, G6 o G7 frente a G2

Tabla 9. Función hepática en varios grupos

GRUPO	ALT (U/L)	AST (U/L)
G1	32,7±2,88	154,6±10,01
G2	37,4±7,28	250,4±36,73*
G3	30,6±4,37	148,3±7,15#
G4	29,0±3,95	140,2±16,32#
G5	27,8±3,08	163,5±11,63#
G6	37,1±4,08	198,7±18,93
G7	30,6±5,73	162,86±29,42

Los datos se expresan como la media ± S.E.M (n = 7~13).

* p <0,05, G2 frente a G1

p <0,05, G3, G4 o G5 frente a G2

Tabla 10. Índice de estrés oxidativo en varios grupos

GRUPO	SOD (U/L)	MDA (mmol/L)
G1	84,53±5,64	5,67±0,70
G2	38,23±11,61**	24,11±6,50**
G3	61,05±11,59	12,34±2,89
G4	91,83±4,90##	8,02±1,08#
G5	97,54±4,88##	7,78±1,66#
G6	77,03±8,98#	9,30±2,14#
G7	44,75±11,99	18,94±4,42

Los datos se expresan como la media ± S.E.M (n = 7~13).

** p <0,01 G2 frente a G1

p <0,05, ## p <0,01 G3, G4, G5 o G6 frente a G2

5 Estos resultados demostraron que el compuesto iónico ursodesoxicolato de berberina mejoraba de manera dependiente de la dosis los síntomas del hígado graso no alcohólico en el modelo de ratones inducido por HFD. En contraste, aunque se usó en la dosis terapéutica sugerida normalmente, la monoterapia con berberina o ácido ursodesoxicólico no fue tan efectiva como el ursodesoxicolato de berberina. También se observó que, en el momento del sacrificio, no se observaron efectos secundarios gastrointestinales en los animales tratados con ursodesoxicolato de berberina, mientras que el 50 % de los animales en el grupo de tratamiento con berberina mostraron efectos secundarios gastrointestinales.

Ejemplo 6. Eficacia de BUDCA en modelo de hámster dorado de hígado graso inducido por una dieta rica en grasas

10 Este ejemplo describe un estudio de eficacia *in vivo* de la sal de BUDCA descrita en la presente invención usando un modelo de hámster dorado de hígado graso inducido por una dieta rica en grasas (HFD).

15 Se adquirieron cuarenta y dos hámsteres dorados SPF con un peso corporal de 90-100 g de Vital River Laboratory Animal Technology Co., Ltd. Después de la aclimatación durante una semana, se seleccionaron ocho hámsteres como grupo de control normal (Grupo 1), que fueron alimentados con una dieta de pienso normal. Los treinta y cuatro hámsteres restantes fueron alimentados con HFD durante dos semanas para establecer un modelo animal de hígado graso que se asemejara a la fisiopatología de NAFLD en humanos.

20 Para los treinta y cuatro hámsteres inducidos con HFD, se seleccionaron veinticuatro de ellos con un nivel de TC de 17,96 ± 1,70 mmol/L en el decimocuarto día después de la HFD y se asignaron al azar en tres grupos (n = 8 por grupo):

25 Grupo 2: Modelo de control (solución de tragacanto al 0,5 % 10 ml/kg);

30 Grupo 3: dosis baja (BUDCA 50 mg/kg);

35 Grupo 4: dosis alta (BUDCA 200 mg/kg)

40 Los hámsteres del Grupo 2 a 4 se trataron con los artículos de prueba correspondientes indicados anteriormente una vez al día mediante sonda intragástrica, y la HFD continuó durante toda la duración de la administración de 7 semanas. Los hámsteres normales del Grupo 1 se trataron con una solución de tragacanto al 0,5 % (10 ml/kg) mediante sonda intragástrica. Durante todo el estudio se midieron el nivel de lípidos y glucosa en sangre, el índice de función hepática, la ingesta de alimentos y el peso corporal. Después de la administración de 7 semanas, los hámsteres fueron sacrificados y disecados para la observación general y el análisis histopatológico del tejido hepático. Los resultados experimentales se muestran de la siguiente manera:

45 Ingesta de alimentos y peso corporal: No hay diferencia significativa en la ingesta de alimentos entre el grupo de control modelo y los grupos medicados ($P>0,05$). El peso corporal del grupo de dosis alta se redujo significativamente en la primera semana de tratamiento ($P <0,05$) y no se observaron cambios significativos en el tiempo de descanso del tratamiento ($P > 0,05$). No se observaron cambios significativos en el peso corporal del grupo de dosis baja durante todo el estudio ($P > 0,05$).

50 Nivel de glucosa en sangre y lípidos en suero: en el grupo de control modelo, el nivel de TC, el nivel de TG, el nivel de LDL-c, el valor de TC/HDL-c y el índice de rigidez arterial (AI) aumentaron significativamente en comparación con los de los grupo de control normal ($P <0,01$), y el aumento compensatorio del nivel de HDL-c también se observó significativamente ($P <0,01$) mientras que no hubo diferencia significativa en el nivel de glucosa en sangre entre el grupo de control modelo y el grupo de control normal ($P > 0,05$). En comparación con el grupo de control modelo, el nivel de TC tanto del grupo de dosis baja como del grupo de dosis alta se redujo significativamente ($P <0,01$), y la amplitud decreciente en el grupo de dosis alta fue mayor que en el grupo de dosis baja (Tabla 11).

Tabla 11. Efecto de BUDCA sobre el nivel de TC en suero de hámsteres hiperlipidémicos (mmol·L⁻¹, X± s, n=8)

Grupo	Dosificación	Nivel de TC en suero en el Día 0	Periodo de tratamiento			
			Semana 1	Semana 3	Semana 5	Semana 7
Grupo 1	10 ml·kg ⁻¹ de solución de tragacanto al 0,5 %	4,17±0,30	3,03±0,94	4,14±0,32	4,21±0,34	4,05±0,33
Grupo 2	10 ml·kg ⁻¹ de solución de tragacanto al 0,5 %	17,56±2,59Δ Δ	15,98±2,93Δ Δ	14,21±4,56Δ Δ	17,01±4,65Δ Δ	21,74±6,44Δ Δ
Grupo 3	50 mg·kg ⁻¹ de BUDCA	18,14±1,13	9,33±1,52**	7,58±2,01**	10,50±2,89**	9,78±2,58**
Grupo 4	200 mg·kg ⁻¹ de BUDCA	18,18±1,10	7,51±0,71**	6,75±1,00**	5,38±1,24**	4,95±0,84**

Nota: En comparación con el grupo de control normal, ^Δ = P <0,05, ^{ΔΔ} = P <0,01; en comparación con el grupo de control del modelo, * = P <0,05, ** = P <0,01

En comparación con el grupo de control modelo, el nivel de TG del grupo de dosis baja en la semana 1 y el nivel de TG del grupo de dosis alta en la semana 1 y la semana 7 disminuyeron significativamente (P <0,01), y la amplitud decreciente en el grupo de dosis alta también fue mayor que el del grupo de dosis baja (Tabla 12).

Tabla 12. Efecto de BUDCA sobre el nivel de TG en suero de hámsteres hiperlipidémicos (mmol·L⁻¹, X± s, n=8)

Grupo	Dosificación	Nivel de TG en suero en el Día 0	Periodo de tratamiento			
			Semana 1	Semana 3	Semana 5	Semana 7
Grupo 1	10 ml·kg ⁻¹ de solución de tragacanto al 0,5 %	2,21±0,27	2,04±0,85	1,13±0,27	1,47±0,47	1,07±0,20
Grupo 2	10 ml·kg ⁻¹ de solución de tragacanto al 0,5 %	5,87±1,38Δ Δ	5,77±1,17Δ Δ	2,74±0,94Δ Δ	3,98±1,35Δ Δ	4,79±2,21Δ Δ
Grupo 3	50 mg·kg ⁻¹ de BUDCA	5,97±1,19	3,60±0,78**	2,98±1,31	4,51±3,10	3,88±1,21
Grupo 4	200 mg·kg ⁻¹ de BUDCA	6,31±1,75	3,00±0,67**	2,68±1,09	3,04±1,68	1,90±0,66**

Nota: En comparación con el grupo de control normal, ^Δ = P <0,05, ^{ΔΔ} = P <0,01; en comparación con el grupo de control del modelo, * = P <0,05, ** = P <0,01

En comparación con el grupo de control modelo, el nivel de LDL-c en suero, el valor de TC/HDL-c y el valor de AI tanto del grupo de dosis alta como del grupo de dosis baja disminuyeron significativamente (P <0,01), y el nivel de HDL-c del grupo de dosis alta también se redujo significativamente (P <0,01). Además, el nivel de LDL-c en suero, el valor de TC/HDL-c y el valor de AI del grupo de dosis alta fueron muy similares a los del grupo de control normal después de la administración de 7 semanas (Figura 16).

Índice de función hepática: en el grupo de control modelo, el nivel de AST y ALT en suero aumentaron significativamente en comparación con los del grupo de control normal (P <0,01), y la ALP en suero también tuvo una tendencia a aumentar (P > 0,05). En comparación con el grupo de control modelo, el nivel de AST se redujo significativamente (P <0,01) en ambos grupos medicados después de la administración de 7 semanas (Figura 17). En comparación con el grupo de control modelo, el nivel de ALT se redujo significativamente (P <0,01) en ambos grupos medicados después de la administración de 7 semanas (Figura 18).

Observación general de tejido hepático, índice hepático e índice de grasa: en el grupo de control modelo, se observó que el volumen del hígado de los hámsteres aumentó de forma obvia y la superficie del hígado estaba grasosa. El color de los hígados también era anormal, que era amarillo grisáceo o blanco grisáceo. La forma del hígado se volvió

roma. Se pudo observar claramente la deposición de lípidos. Además, tanto el peso del hígado como el índice de hígado aumentaron significativamente ($P < 0,01$).

En comparación con el grupo de control modelo, no se observó ningún cambio significativo en el peso corporal del grupo de dosis baja o del grupo de dosis alta ($P > 0,05$). Sin embargo, el peso del hígado de ambos grupos medicados disminuyó significativamente ($P < 0,01$). Los resultados detallados se muestran en la Figura 19.

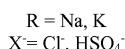
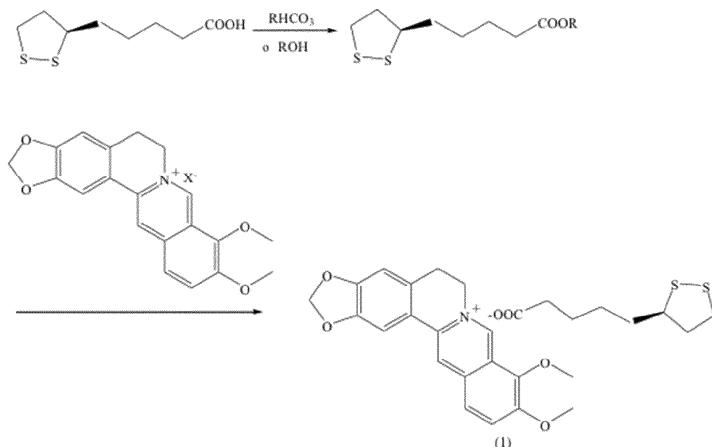
En comparación con el grupo de control modelo, el color del hígado mejoró en ambos grupos medicados. Especialmente en el grupo de dosis alta, el color del hígado era rojizo, que era similar al caso del grupo de control normal. Los resultados detallados se muestran en la Figura 20.

Basándose en los resultados de la observación patológica, el contenido de TC y TG en el hígado, el nivel de inflamación del tejido hepático y el área positiva para el rojo aceite aumentaron significativamente en el grupo de control modelo en comparación con los del grupo de control normal ($P < 0,01$). En comparación con el grupo de control modelo, el contenido de TC y TG, el nivel de inflamación del tejido hepático y el área positiva para el rojo aceite disminuyó significativamente en ambos grupos medicados ($P < 0,01$). Los resultados detallados se muestran en las Figuras 21-22.

Los resultados experimentales anteriores indicaron que BUDCA podría disminuir significativamente el nivel de TG, TC, LDL-c en suero y podría reducir el TC/HDL-c y el índice de rigidez arterial (AI) ambulatoria. Podría reducir el riesgo de aterosclerosis. Podría reducir significativamente los depósitos de grasa y mejorar la inflamación en el hígado. Los efectos de BUDCA fueron relativamente dependientes de la dosis. Y BUDCA sería un candidato potencial para ser aplicado en el tratamiento o la prevención de NAFLD/NASH e hiperlipidemia.

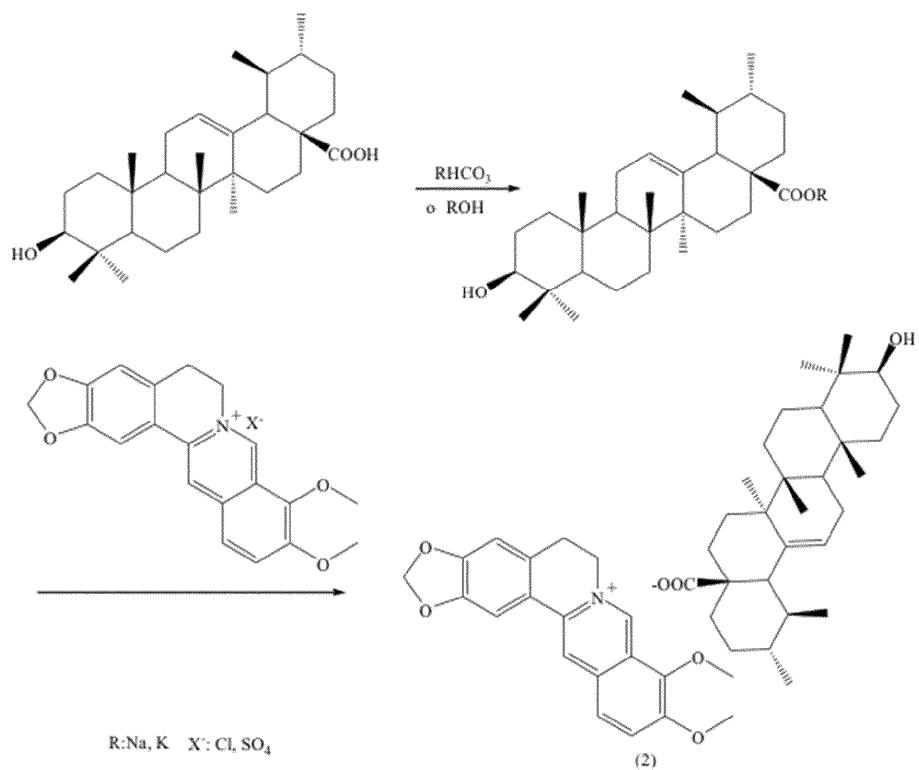
25 **Ejemplo 7. Esquemas de síntesis de sales de berberina a modo de ejemplo**

(1) Sal de ácido R-(+)- α -lipoico de berberina



30

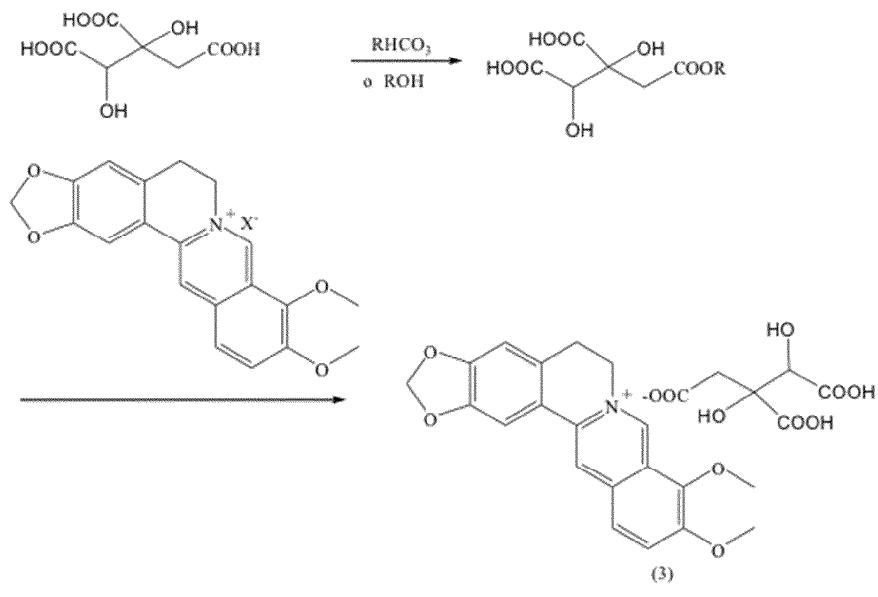
(2) Sal de ácido ursólico de berberina



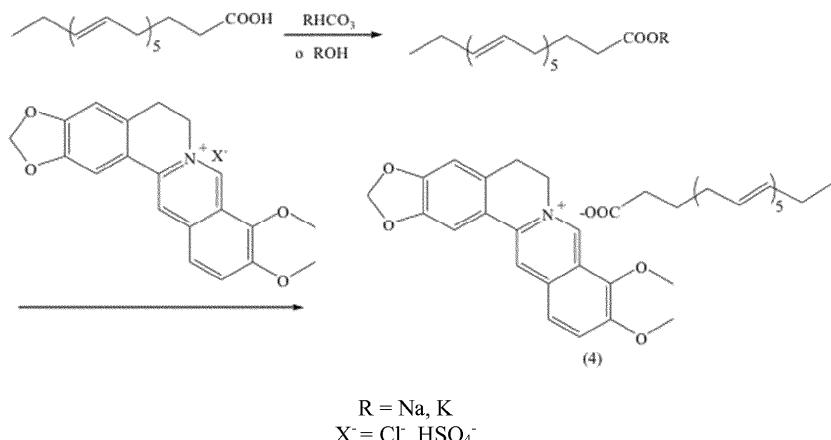
R = Na, K
 $\text{X}^- = \text{Cl}^-, \text{HSO}_4^-$

(3) Sal de ácido hidroxicítrico de berberina ($m = 1, n = 1$)

5

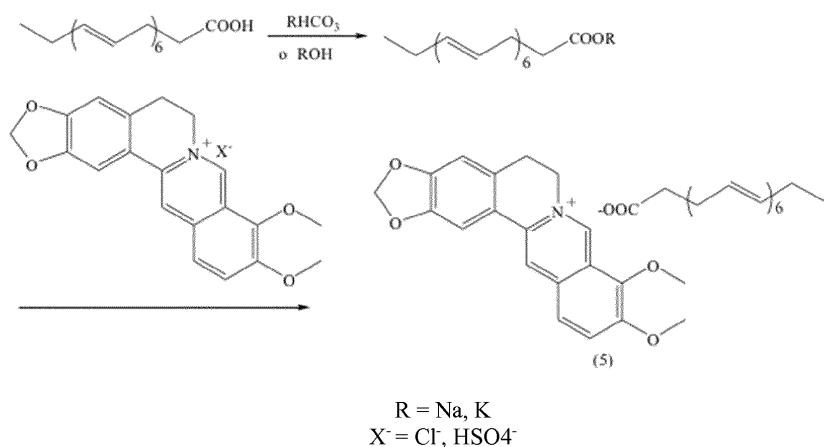


R = Na, K
 $\text{X}^- = \text{Cl}^-, \text{HSO}_4^-$



(5) Sal DHA de berberina

5

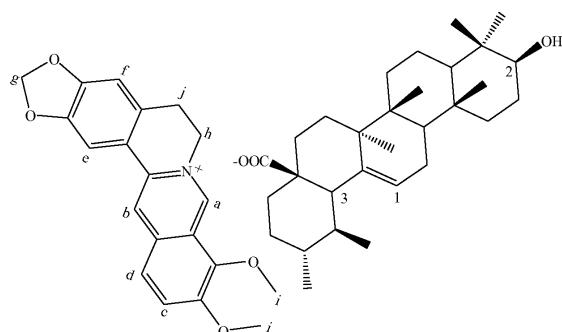


(6) Preparación de sal ursólica de berberina

10

Se trató una solución de ácido ursólico (0,9-1,5 eq.) en metanol con una solución de bicarbonato de sodio (0,9-1,5 eq.) en agua. La solución se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente y luego se añadió gota a gota a una solución de cloruro de berberina (1,0 eq.) en agua. Un sólido amarillo precipitó inmediatamente después de la adición. La mezcla se agitó durante 1 hora y luego se enfrió a temperatura ambiente. Se obtuvo un sólido amarillo por filtración con un rendimiento del 30 % (se muestra la RMN en la Figura 15).

15

Ejemplo 8. Modelos animales para determinar los efectos farmacológicos de las sales de berberina

20

(1) Pruebas de actividades antidiabéticas

Se colocaron ratas Sprague-Dawley macho sanas, de 8 semanas de edad, en una habitación con iluminación controlada (ciclo luz/oscuridad de 12 horas) y temperatura (18 °C -25 °C) y humedad reguladas. Todas las ratas fueron alimentadas con pienso regular (21 % de proteína, 55 % de carbohidratos, 6% de grasa y energía total 15,36 KJ/g) durante 1 semana para adaptarse al medio ambiente. Se seleccionaron al azar seis ratas como grupo de control normal (NC), que fueron alimentadas con una dieta de pienso regular durante todo el estudio. Las ratas restantes se alimentaron con una dieta rica en grasas (proteínas 16 %, carbohidratos 38 %, grasas 46 % y energía total 20,54 KJ/g). Después de una alimentación con una dieta rica en grasas durante 8 semanas, la diabetes fue inducida por una única inyección intraperitoneal de estreptozotocina recién preparada (STZ, 30 o 50 mg/kg de peso corporal) (Sigma, St. Louis, Missouri, EE. UU.) en tampón de citrato (pH 4,5) a ratas en ayunas durante la noche.

Después de 2 semanas de administración de STZ, los animales con niveles de glucosa en sangre en ayunas >11,1 mM se seleccionaron para el estudio y se asignaron al azar a los siguientes grupos: vehículo (agua), dosis baja, dosis media y dosis alta de sales de berberina, respectivamente, mediante administración intragástrica una vez al día durante 28 días consecutivos. Se registraron los niveles de glucosa, insulina, colesterol total, LDL-c, HDL-c y triglicéridos en ayunas de todos los animales el día antes de la primera dosis (día 0) y los días 7, 14, 21 y 28 de la dosis.

(2) Pruebas de actividades de complicación antidiabética (nefropatía diabética)

Se mantuvieron ratas Sprague-Dawley macho de cinco semanas de edad, con un peso de 120 a 130 g, en jaulas con fondo de alambre y se expusieron a un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 h. La temperatura ambiente se mantuvo a aproximadamente 25 °C con humedad relativa constante. Se les permitió el libre acceso al agua y al pienso regular de laboratorio. Después de 1 semana de adaptación, las ratas se sometieron primero a la resección de la mitad del riñón izquierdo, seguida de la escisión total del riñón derecho 10 días después. A continuación, se les inyectó por vía intraperitoneal STZ (25 mg/kg de peso corporal) en tampón citrato, pH 4,5. Los niveles de glucosa en sangre y nitrógeno ureico se determinaron después de la recuperación de la inyección, y las ratas se dividieron en cuatro grupos (un grupo de control y tres grupos de tratamiento), evitando cualquier diferencia entre grupos en estos índices sanguíneos. También se incluyó un grupo normal de ratas que se sometieron a una operación simulada. Cada grupo experimental contenía 10 ratas. Mientras que se realizó el experimento de 50 días, los grupos normal y de control recibieron agua. Los otros tres grupos recibieron sales de berberina en dosis baja, media y alta por sonda intragástrica respectivamente. Al final de este experimento, se recolectaron muestras de orina de 24 h utilizando jaulas metabólicas y se obtuvieron muestras de sangre mediante punción cardiaca. El suero se separó inmediatamente de las muestras de sangre mediante centrifugación. Después de la perfusión renal a través de la arteria renal con solución salina fisiológica enfriada con hielo, se extrajo el riñón restante de cada rata y se sumergió una parte del tejido en formalina para examen histológico. La otra parte se congeló a -80 °C hasta el análisis. Los niveles séricos de glucosa, proteína total, albúmina, colesterol total, triglicéridos, nitrógeno ureico y creatinina se examinaron utilizando reactivos comerciales.

(3) Pruebas de actividades contra la dislipidemia y/o la obesidad

Los ratones con obesidad inducida por dieta (DIO) se establecieron con una dieta rica en grasas (40 % de Kcal de grasa) a partir de las 4 semanas de edad de ratones NIH sanos. Los ratones se alojaron tres por grupo en jaulas de policarbonato mantenidas a temperatura normal (22 ± 4 °C) con humedad normal y expuestos a un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 h. Después de una dieta rica en grasas durante 2 semanas, los ratones fueron pesados y asignados al azar en grupos de 10 ratones cada uno: grupos de control, dosis baja, media y alta de sal de berberina por sonda intragástrica una vez al día durante un total de 4 semanas con la dieta rica en grasas durante todo el tratamiento, y seis ratones normales se incluyeron como grupo normal con una dieta de pienso regular. La ingesta de alimentos y agua, el peso corporal y la glucosa no en ayunas se analizaron para todos los animales el día antes de la primera dosis (día 0) y la dosis de los días 7, 14, 21 y 28. Se analizaron la glucosa con ayuno de 6 horas, la insulina, el colesterol total, LDL-c, HDL-c, y los triglicéridos para todos los animales el día antes de la primera dosis (día 0) y la dosis del día 28. La prueba de tolerancia oral a la glucosa (OGTT) se evaluó después de 12 horas de ayuno el día 28. Después de la prueba de OGTT, todos los animales fueron sacrificados y el páncreas, hígado, riñón y grasa se pesaron y recolectaron para análisis histológico.

(4) Pruebas de eficacia en el modelo de atrofia del músculo esquelético

Se alojaron individualmente treinta y dos ratas macho Sprague-Dawley (de 8 semanas de edad) a 25 ± 1 °C con luz de 8:00-20:00 y acceso libre a agua y pienso comercial regular para ratas. Después de 1 semana de aclimatación, las ratas se asignaron al azar en 4 grupos. Al grupo de control ($n = 8$) se les inyectó 2 ml/kg/día de solución salina y a los otros tres grupos se les inyectaron 2 mg/kg/día de prednisolona, un glucocorticoide adquirido de SIGMA-Aldrich (MO, EE. UU.). Los tres grupos a los que se les inyectó glucocorticoides se trataron con agua, dosis baja o dosis alta de sales de berberina mediante sonda intragástrica respectivamente ($n = 8$ por grupo) durante un total de 4 semanas. Se analizaron la ingesta de agua y alimentos, el peso corporal y la glucosa de todos los animales el día anterior a la primera dosis (día 0) y la dosis de los días 7, 14, 21 y 28. Al final del experimento, las ratas se sacrificaron por decapitación después de ayunar durante la noche. Se recogió sangre y se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min para obtener suero. El suero se almacenó a -20 °C. El hígado, el corazón y los músculos

esqueléticos (sóleo, plantar, gastrocnemio, tibial anterior y extensor largo de los dedos) se extrajeron rápidamente, se pesaron y se almacenaron a -80 °C hasta que se realizó el análisis.

(5) Pruebas de eficacia en la atenuación de NAFLD

Se asignaron al azar sesenta y seis ratas Sprague-Dawley hembras sanas en dos grupos: grupo de dieta rica en grasas ($n = 56$, alimentadas con dieta rica en grasas) y grupo normal ($n = 10$, alimentadas con dieta regular). Al final de la semana 12, se seleccionaron aleatoriamente 6 ratas del grupo de dieta rica en grasas para el examen de histopatología hepática y se confirmó que el modelo de rata de NAFLD se había establecido con éxito. Las 50 ratas restantes se subdividieron en 5 subgrupos iguales: dosis baja, media y alta de sales de berberina mediante sonda intragástrica, grupo de control con vehículo y grupo de recuperación. Las ratas del grupo de control con vehículo se alimentaron con agua mediante sonda. 20 semanas más tarde, todas las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico al 3 % mediante inyección intraperitoneal. Se determinaron los contenidos plasmáticos de insulina y TG, TC, LDL-c, AST y ALT en suero. Tras el sacrificio, se recolectaron tejidos de hígado para examen histopatológico.

(6) Pruebas de eficacia en la atenuación de NASH

En este estudio se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley, que pesaban 160-170 g y seis semanas de edad. Se alojaron en una habitación con temperatura controlada (22 ± 1 °C) con humedad normal y un ciclo de luz/oscuridad de 12 h.

Las ratas se alimentaron con pienso estándar (grupo de control, $n = 8$) o con dietas ricas en grasas y deficientes en colina (CDHF) durante el periodo del experimento de 10 semanas. El hígado graso fue inducido por la alimentación con CDHF durante 4 semanas. En la quinta semana, las ratas en CDHF se asignaron al azar en seis grupos. El grupo de CDHF ($n = 8$) fue alimentado con dieta CDHF solamente; las ratas del grupo NASH ($n = 8$) fueron alimentadas con dieta CDHF, seguido de inyecciones i.p. de nitrito de sodio (NaNO_2), un oxidante, 50 mg/kg/día (Nacalai Tesque Inc., Kyoto, Japón) diariamente para inducir metahemoglobinemia (estrés por hipoxia intermitente) a partir de la quinta semana de CDHF durante 6 semanas; NASH más dosis baja, media y alta de sales de berberina ($n = 8$ por grupo) mediante sonda intragástrica simultáneamente durante el periodo de inyección de nitrito.

Al final del periodo experimental de 10 semanas, los animales se sacrificaron mediante anestesia con éter dietílico. Se recogieron muestras de sangre mediante punción en la vena cava inferior con una jeringa que contenía heparina y se realizó una perfusión de todo el cuerpo al ventrículo izquierdo con 0,1 M de potasio que contenía 5 mM de benzamidina antes de obtener muestras de tejido. El plasma se obtuvo mediante centrifugación a $1.000 \times g$ durante 10 min a 4 °C y se utilizó para análisis bioquímico. La alanina aminotransferasa (ALT) y la aspartato aminotransferasa (AST) en plasma se determinaron con kits comerciales.

Se usó hígado fresco para el fraccionamiento del hígado y para la observación de la peroxidación de lípidos, y una porción para la observación histopatológica se sumergió en formalina al 10 % durante 3 días y luego se incluyó en parafina. Y el resto del hígado se congeló instantáneamente con nitrógeno líquido, y se almacenó a -80 °C para su posterior análisis.

(7) Prueba de actividades antiateroscleróticas

Los ratones con aterosclerosis (AS) se establecen con una composición de manteca de cerdo al 15 %, dieta de colesterol al 4,5 % a partir de las 4 semanas de edad de ratones C57/BL 6J sanos. Los ratones son alojados tres por grupo en jaulas de policarbonato mantenidas a temperatura normal (22 ± 4 °C) con humedad normal y expuestos a un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 h.

Después de una dieta rica en grasas durante 16 semanas, se lleva a cabo la histopatología del corazón de 3-5 ratones del grupo modelo para evaluar el establecimiento del modelo. Las lesiones ateroscleróticas en ratones predisponentes alimentados con colesterol son más pronunciadas en la aorta ascendente en la unión de las válvulas aórticas a la pared del seno. En los animales de control, existe una única capa de células endoteliales que recubre una capa delgada de tejido conectivo y elástico. No se ven gotitas de lípidos. Los ratones modelo se pesan y se asignan al azar en grupos de 10 ratones cada uno: grupos de control, dosis baja, media y alta de sal de berberina por sonda intragástrica una vez al día durante un total de 8 semanas con la dieta rica en grasas durante todo el tratamiento, y seis ratones normales se incluyen como grupo normal con una dieta de pienso regular. La ingesta de alimentos y agua y el peso corporal se analizan para todos los animales el día antes de la primera dosis (Día 0) y la dosificación de los días 14, 28, 42 y 56. Se analizan el colesterol total, LDL-c, HDL-c, los triglicéridos de todos los animales el día antes de la primera dosificación (Día 0) y la dosificación del día 56. Se sacrifican todos los animales y se pesan y recogen la aorta, el corazón, el hígado y la grasa para el análisis histológico.

(8) Pruebas para el tratamiento de la insuficiencia cardiaca

La eficacia de la sal de berberina para la insuficiencia cardiaca se evalúa con un modelo de rata de miocardiopatía dilatada inducida por adriamicina. Se inyecta adriamicina en ratas Wistar macho por vía intraperitoneal a la dosis de 2 mg/g cada 3 días durante 5 veces, luego a una dosis de 2 mg/kg cada 7 días durante 5 veces para establecer el modelo de insuficiencia cardiaca. El grupo de modelo de vehículo se inyecta con solución salina al 0,9 % utilizando los mismos métodos. Las ratas son alojadas tres por grupo en jaulas de policarbonato mantenidas a temperatura normal ($22 \pm 4 ^\circ\text{C}$) con humedad normal y expuestas a un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 h con alimentación regular. Se recogen al azar cuatro ratas para evaluar la función cardiaca con ecocardiografía transtorácica y la morfología del miocardio con microscopio electrónico al final de la semana 10. Los parámetros de diámetro diastólico final del VI (LVEDD) y diámetro sistólico final del VI (LVESD), fracción de eyección del VI (FE) y acortamiento de la facción del VI (FS) muestran que se establece la insuficiencia cardiaca de tipo miocardiopatía dilatada.

Las ratas se pesan y se distribuyen al azar en grupos de 6 ratas cada uno: grupos de control, dosis baja, media y alta de sal de berberina mediante sonda intragástrica una vez al día durante un total de 8 semanas de tratamiento. Y seis ratas de modelo con vehículo se incluyen como grupo normal. La ingesta de alimentos y agua y el peso corporal se analizan para todos los animales el día antes de la primera dosis (Día 0) y la dosis de los días 14, 28, 42 y 56. Los parámetros de diámetro diastólico final del VI (LVEDD) y diámetro sistólico final del VI (LVESD), fracción de eyección LV (EF) y acortamiento de facción LV (FS) se prueban el día 56. Después de la prueba, todos los animales se sacrifican y el corazón, hígado y riñón se pesan y se recogen para análisis histológico.

20 (9) Pruebas para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas

La eficacia de la sal de berberina para la enfermedad de Parkinson se evalúa con ratones C57/BL6 inducidos por 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP). Los ratones son alojados tres por grupo en jaulas de policarbonato mantenidas a temperatura normal ($22 \pm 4 ^\circ\text{C}$) con humedad normal y expuestos a un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 h con alimentación regular. A ratones de 8 semanas de edad se les inyecta por vía intraperitoneal MPTP a una dosis de 20 mg/kg/día durante 7 días consecutivos, mientras que el mismo volumen de solución salina se inyecta en ratas del modelo con vehículo mediante el mismo método. Los ratones se pesan y se distribuyen al azar en grupos de 6 cada uno: grupos de control, dosis baja, media y alta de sal de berberina mediante sonda intragástrica una vez al día durante un total de 8 semanas de tratamiento. Y seis ratas modelo con vehículo se incluyen como grupo normal. La inyección de MPTP indujo la muerte neuronal dopamínérgica en la sustancia negra y la pérdida de fibra en el cuerpo estriado, lo que da como resultado un deterioro del equilibrio motor y la coordinación, según lo evaluado por la prueba de marcha en barra. Por el contrario, el tratamiento con berberina mejora el equilibrio motor y la coordinación al prevenir el daño neuronal dopamínérgico. El tratamiento con berberina también mejora la memoria a corto plazo al inhibir la apoptosis en el hipocampo.

35 En la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "uno", y "el", "a", incluyen la referencia en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la materia. Si bien es posible utilizar también, en la práctica o ensayo de la presente divulgación, cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento, se han descrito los métodos y materiales preferidos. Los métodos enumerados en el presente documento se pueden llevar a cabo en cualquier orden que sea lógicamente posible, además de un orden particular divulgado.

45 Equivalentes

Los ejemplos representativos divulgados en el presente documento tienen por objeto ayudar a ilustrar la invención y no pretenden, ni deben interpretarse como una limitación del alcance de la invención. De hecho, varias modificaciones de la invención y muchas otras realizaciones de la misma, además de las mostradas y descritas en el presente documento, resultarán evidentes para los expertos en la materia a partir del contenido completo de este documento, incluyendo los ejemplos y las referencias a los documentos científicos y a la literatura de patentes citados en el presente documento. Los ejemplos contienen importante información adicional, ejemplificaciones y orientaciones que se pueden adaptar a la práctica de la presente invención en sus diversas realizaciones y equivalentes.

REIVINDICACIONES

1. Sal de adición ácido-base en forma sustancialmente pura, que presenta la fórmula:

5 $(X^+)_m(U^-)_n$ (I)

en la que

- 10 (a) U^- es un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico;
 (b) X^+ es un resto catiónico de berberina; y
 (c) m es 1 y n es 1.

15 2. Composición farmacéutica que comprende
 una sal de adición ácido-base que presenta la fórmula:

15 $(X^+)_m(U^-)_n$ (I)

en la que

- 20 (a) U^- es un resto aniónico de ácido ursodesoxicólico;
 (b) X^+ es un resto catiónico de berberina; y
 (c) m es 1 y n es 1, y

25 un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable
 para su uso en el tratamiento o la reducción de una o más enfermedades o trastornos seleccionados de entre hígado graso, enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) y esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedades hepáticas colestásicas, enfermedad de injerto contra huésped del hígado, enfermedades hepáticas crónicas asociadas a virus, enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol, enfermedades o trastornos metabólicos tales como prediabetes, diabetes, hiperlipidemia, dislipidemia diabética, dislipidemia en pacientes intolerantes a las estatinas, obesidad o una enfermedad o trastorno relacionado con los mismos.

30 3. Composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la enfermedad o el trastorno es prediabetes, diabetes o hiperlipidemia, dislipidemia diabética o dislipidemia en pacientes intolerantes a las estatinas, enfermedades hepáticas colestásicas, enfermedad de injerto contra huésped del hígado, enfermedades hepáticas crónicas asociadas a virus o enfermedades hepáticas relacionadas con el alcohol.

35 4. Composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que el trastorno es la NASH.

40 5. Composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que el trastorno es la NAFLD.

40 6. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que el trastorno son las enfermedades hepáticas colestásicas.

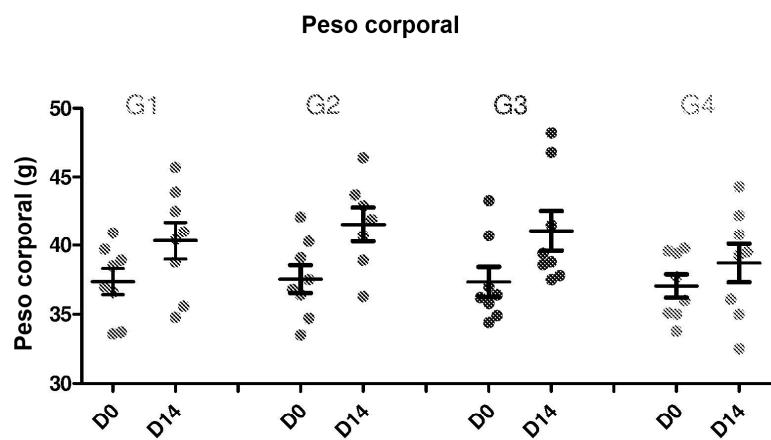


FIG. 1. Peso corporal de cada grupo de tratamiento el día 0 y el día 14.

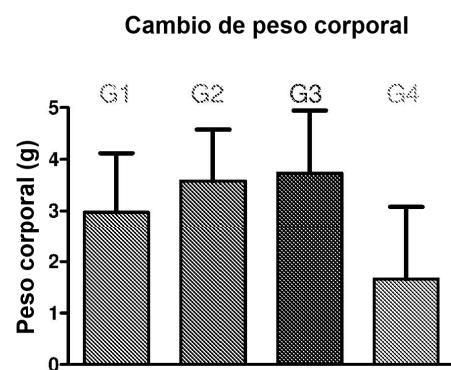


FIG. 2. Cambio de peso corporal de cada grupo de tratamiento después de 14 días de tratamiento.

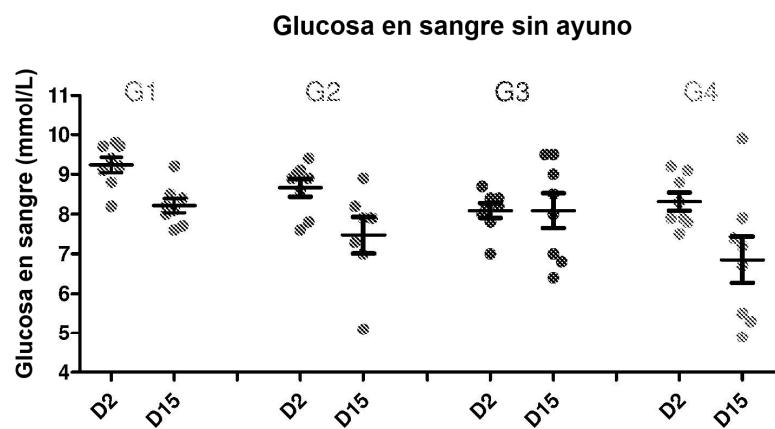


FIG. 3. Glucosa en sangre de cada grupo de tratamiento el día 2 y el día 15.

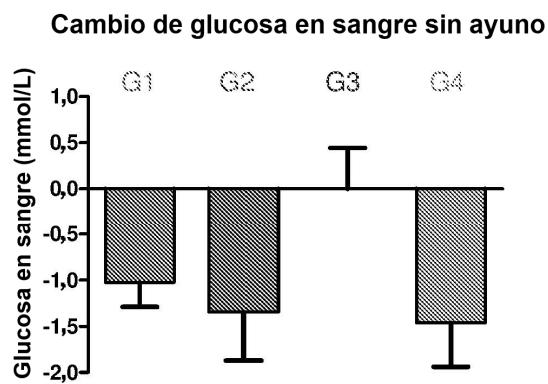


FIG. 4. Cambio de glucosa en sangre de cada grupo de tratamiento el día 2 y el día 15.

ES 2 835 874 T3

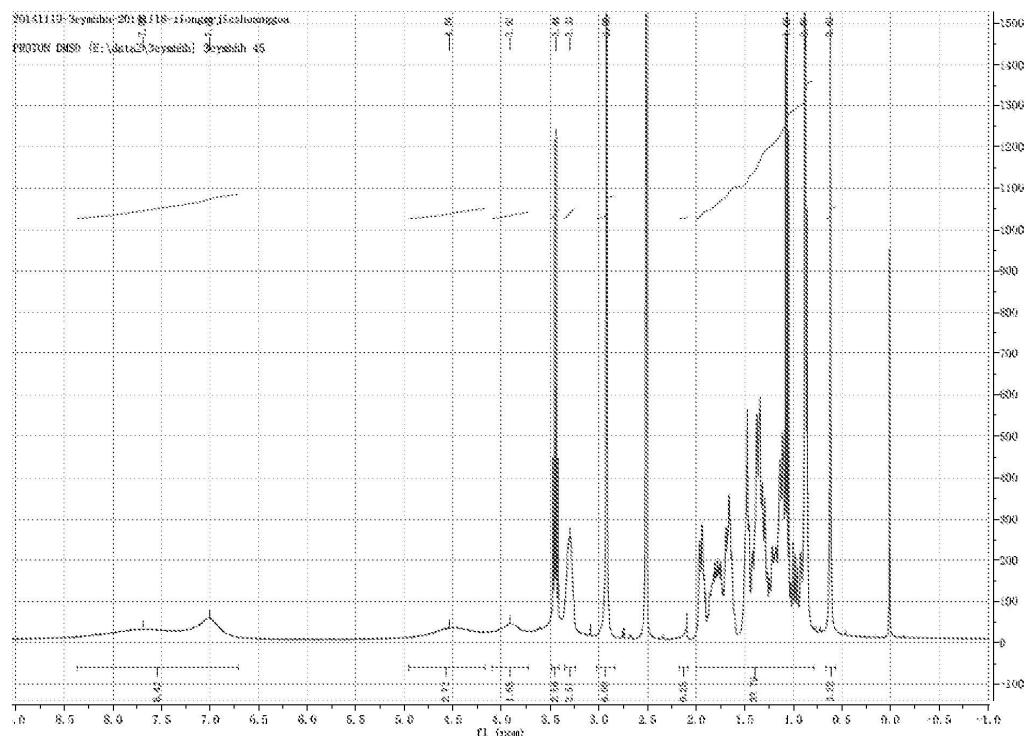


FIG. 5. ¹H RMN de ursodesoxicoloate de metformina en DMSO-D6.

ES 2 835 874 T3

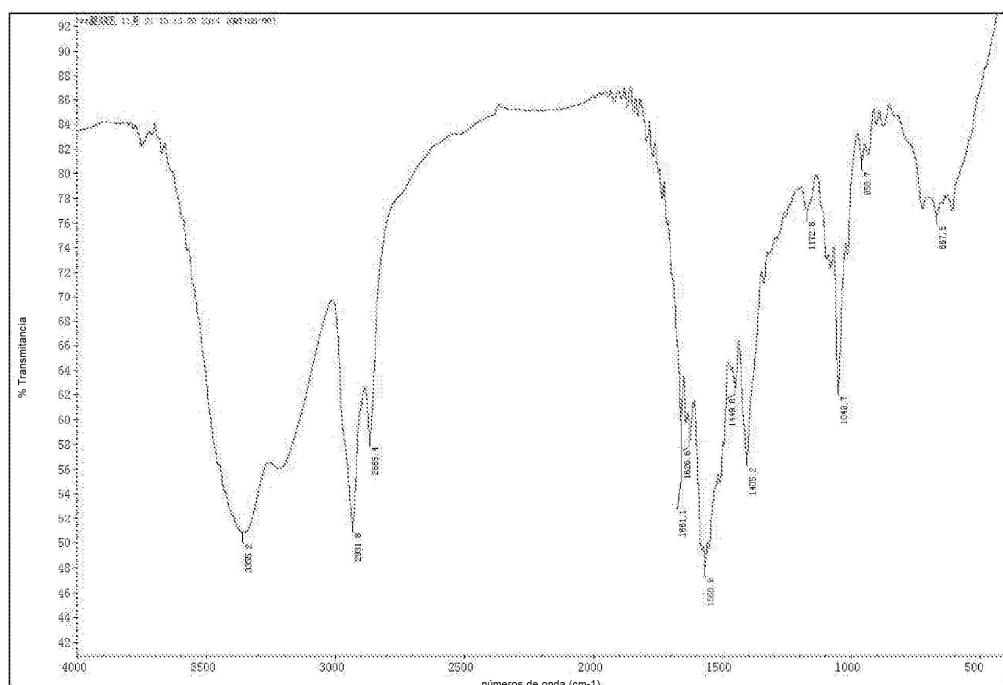


FIG. 6. Espectro de IR del ursodesoxicolato de metformina.

ES 2 835 874 T3

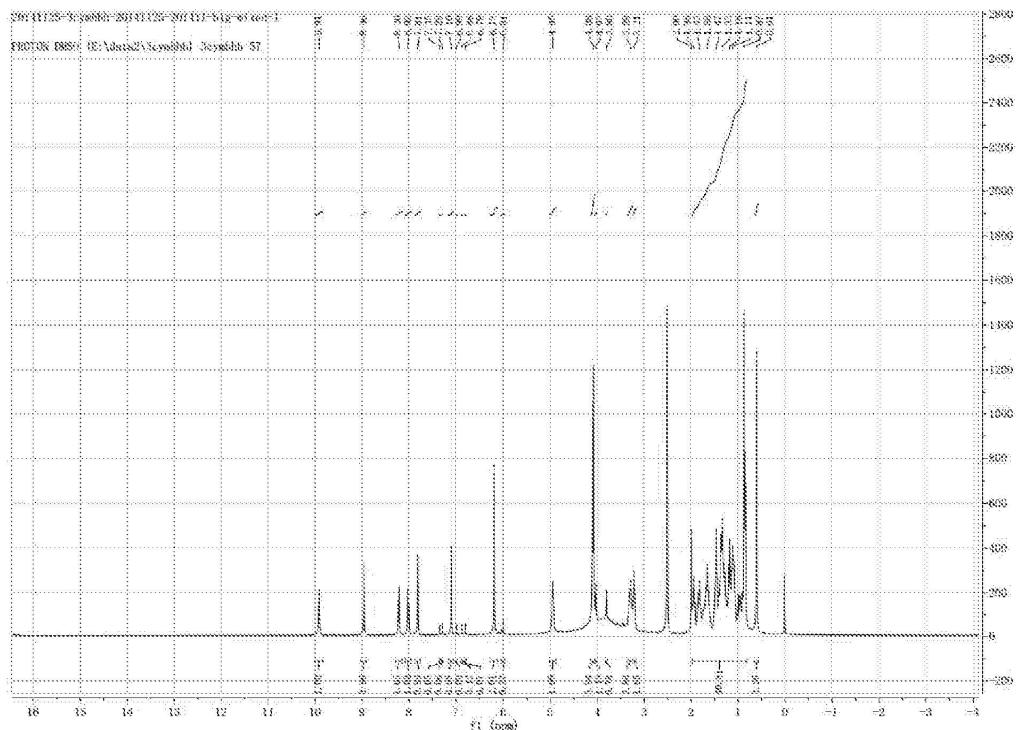


FIG. 7. ¹H RMN de ursodesoxicoloate de berberina (producto purificado).

ES 2 835 874 T3

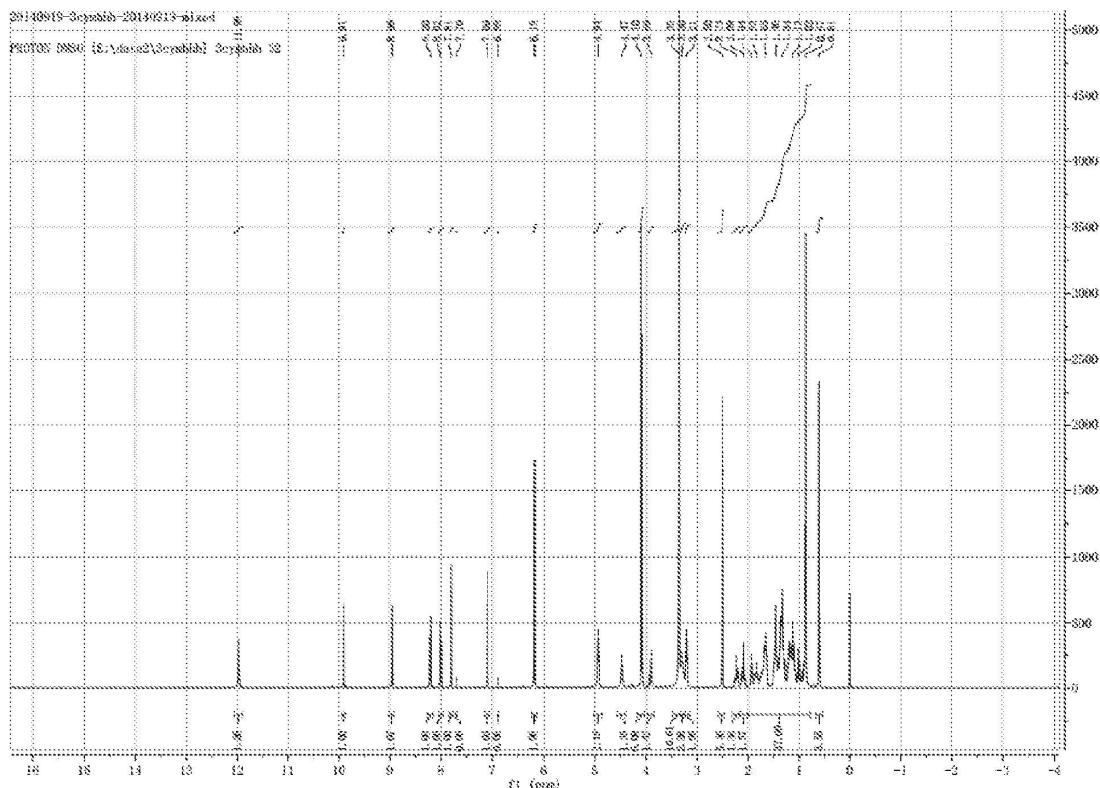


FIG. 8. ^1H RMN de una mezcla de clorhidrato de berberina (1,0 eq.) y ácido ursodesoxicólico (1,0 eq.) en DMSO-D6.

ES 2 835 874 T3

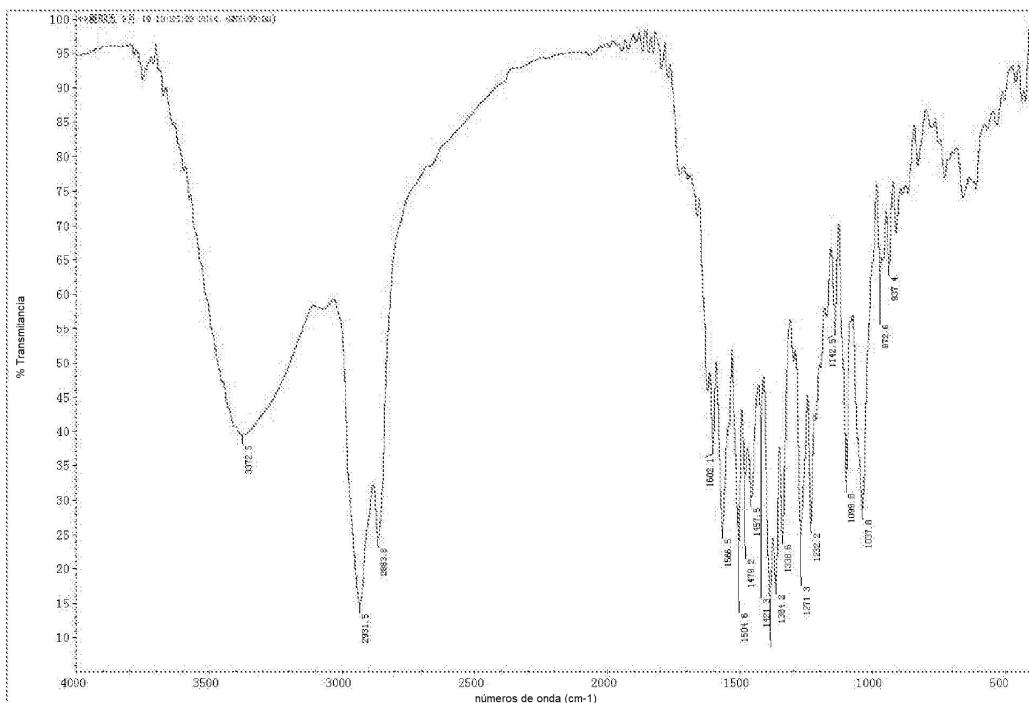


FIG. 9. Espectro IR del ursodesoxicoloate de berberina (producto crudo). La banda de vibración de estiramiento del carbonilo C=O del ácido ursodesoxicólico a aproximadamente 1721 cm⁻¹ desapareció en el espectro IR del ursodesoxicoloate de berberina.

ES 2 835 874 T3

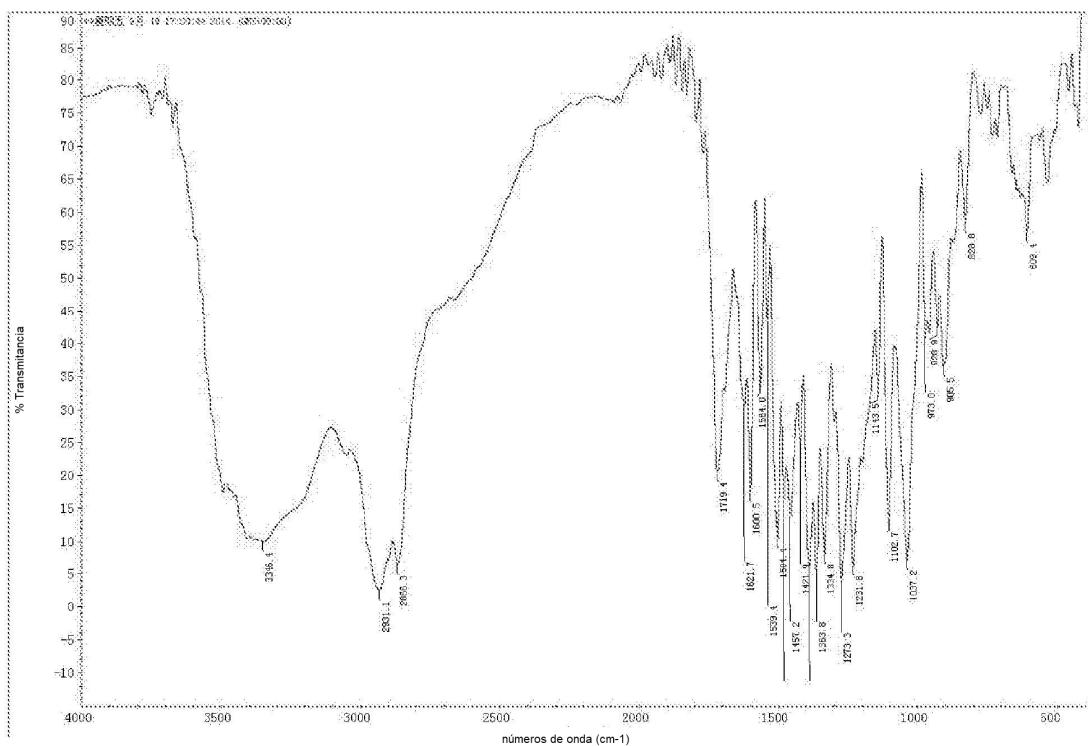


FIG. 10. Espectro IR de la mezcla de clorhidrato de berberina (1,0 eq.) y ácido ursodesoxicólico (1,0 eq.). La banda de vibración de estiramiento de carbonilo C=O de ácido ursodesoxicólico aparece a aproximadamente 1719 cm⁻¹.

ES 2 835 874 T3

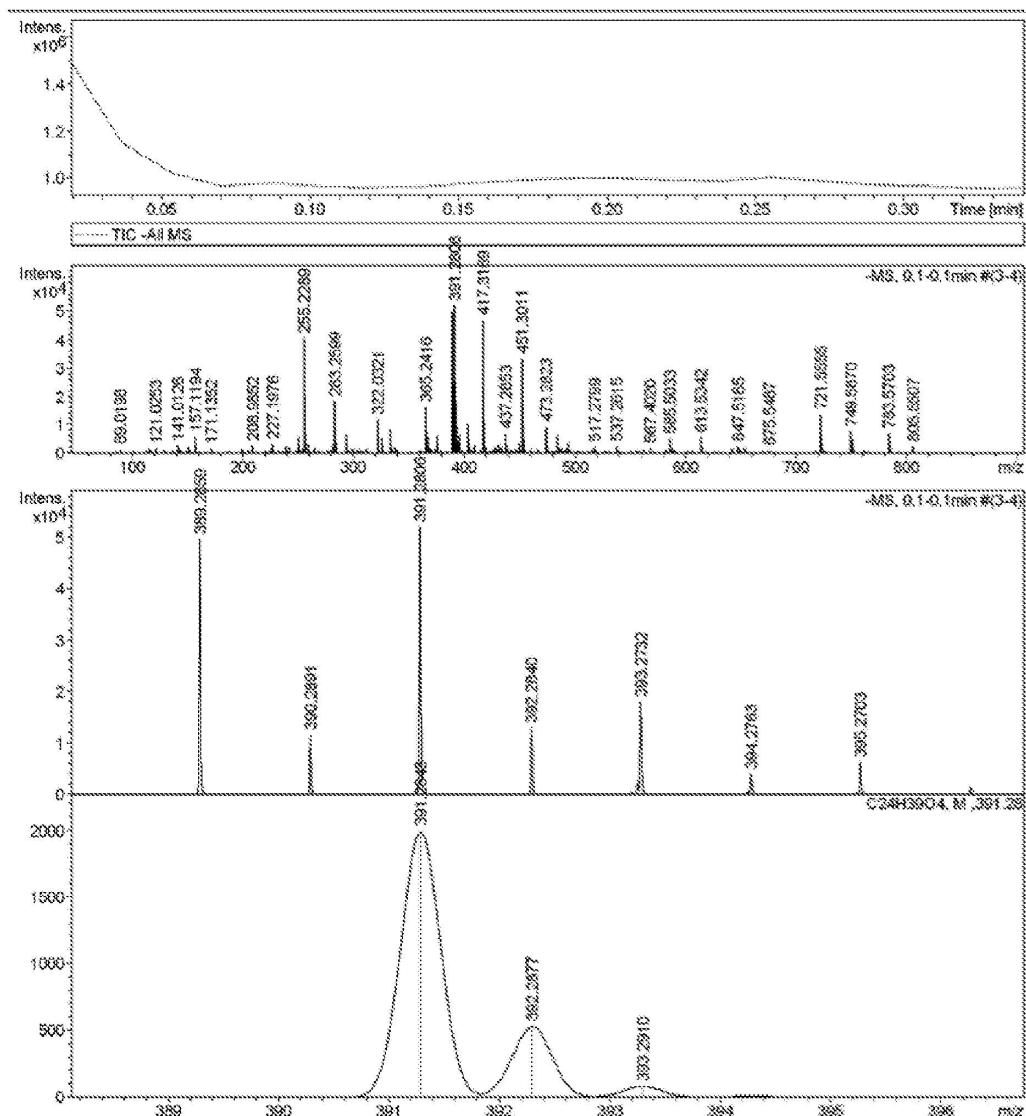


FIG. 11. Espectroscopía de masas de ursodesoxicoloate de berberina: en modo MS negativo, se identificó la masa molecular de UDCA [M-H]⁻ 391,28.

ES 2 835 874 T3

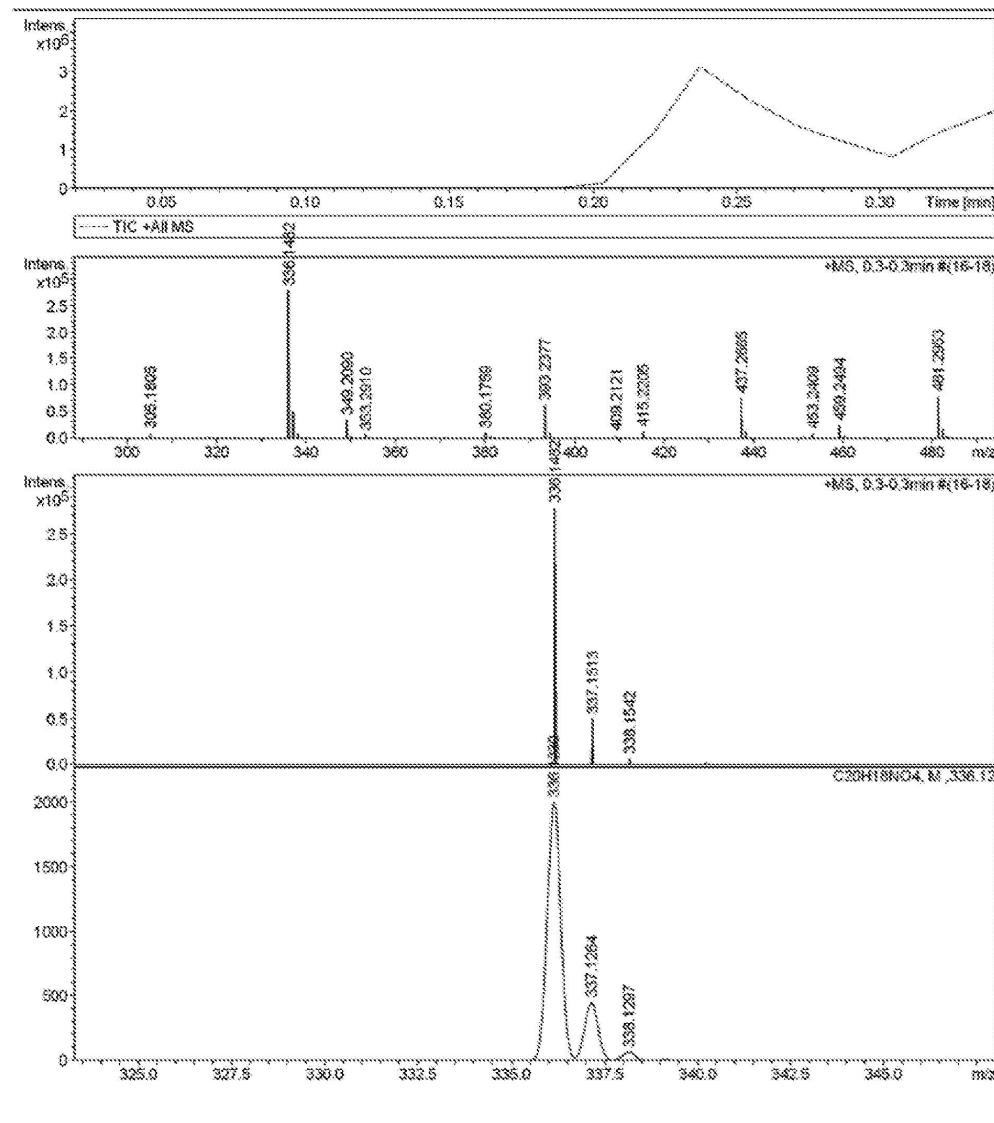


FIG. 12. Espectroscopía de masas de ursodesoxicoloato de berberina: en modo MS positivo, se identificó la masa molecular de BBR^+ 336,14.

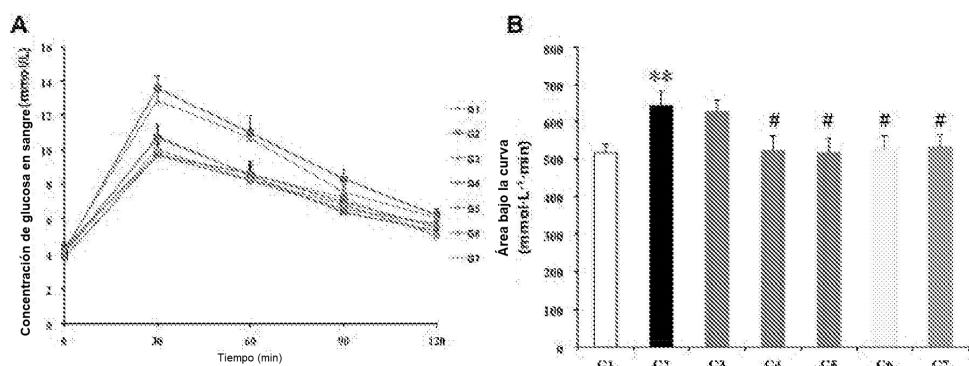


FIG. 13. (A) Concentraciones de glucosa en plasma durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa (OGTT) y (B) el área bajo la curva de glucosa OGTT. Los datos se expresan como la media \pm S.E.M ($n = 7\sim 13$). ** $p < 0,01$ G2 frente a G1; # $p < 0,05$ G4, G5, G6 o G7 frente a G2.

ES 2 835 874 T3

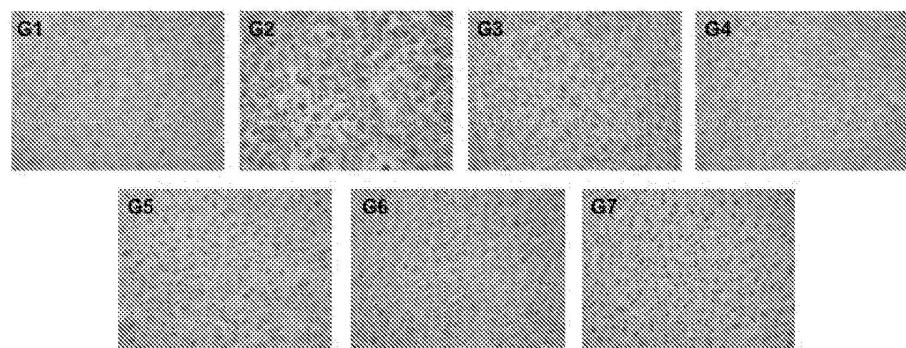


FIG. 14. Imagen de tinción de hígado con Sultan III en varios grupos ($n = 7 \sim 13$).

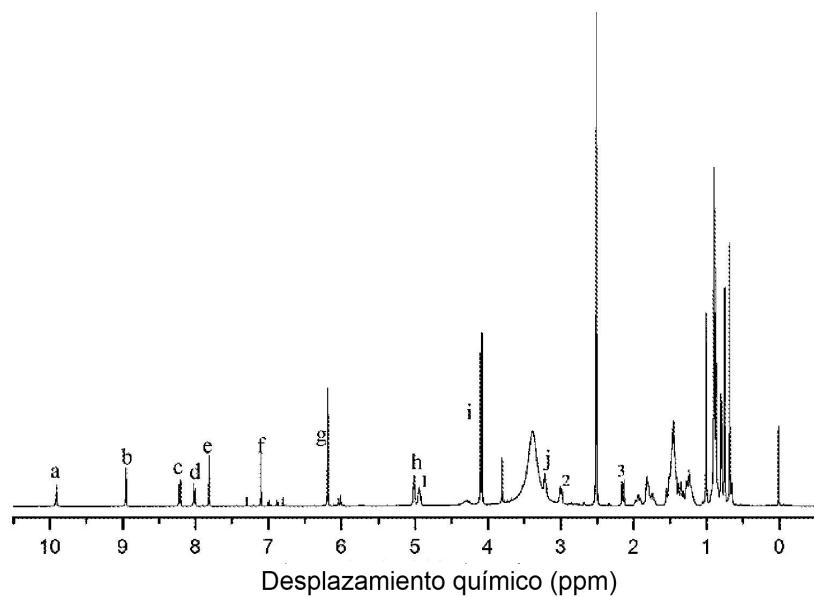


FIG. 15. ^1H RMN de sal ursólica de berberina (400 MHz, DMSO- D_6).

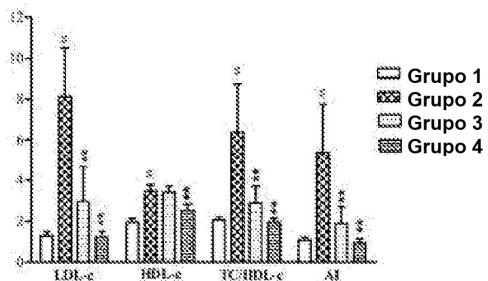


FIG. 16. El efecto de BUDCA sobre el nivel de LDL-c sérico, el nivel de HDL-c sérico, TC/HDL-c y AI de hámsteres hiperlipidémicos.

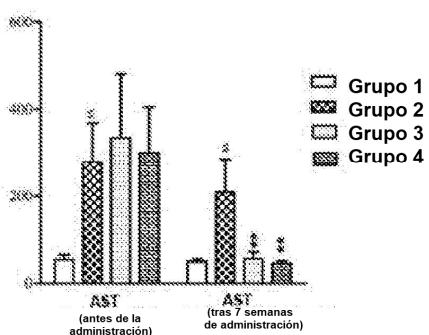


FIG. 17. El efecto de BUDCA sobre el nivel de AST en suero de hámsteres hiperlipidémicos.

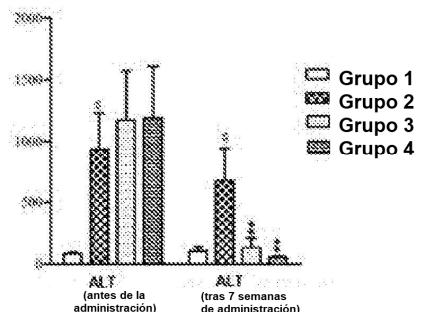


FIG. 18. El efecto de BUDCA sobre el nivel de ALT en suero de hámsteres hiperlipidémicos.

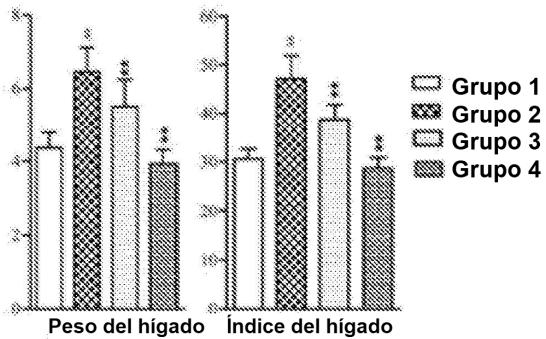


FIG. 19. El efecto de BUDCA sobre el peso del hígado y el índice del hígado de hámsteres hiperlipidémicos.

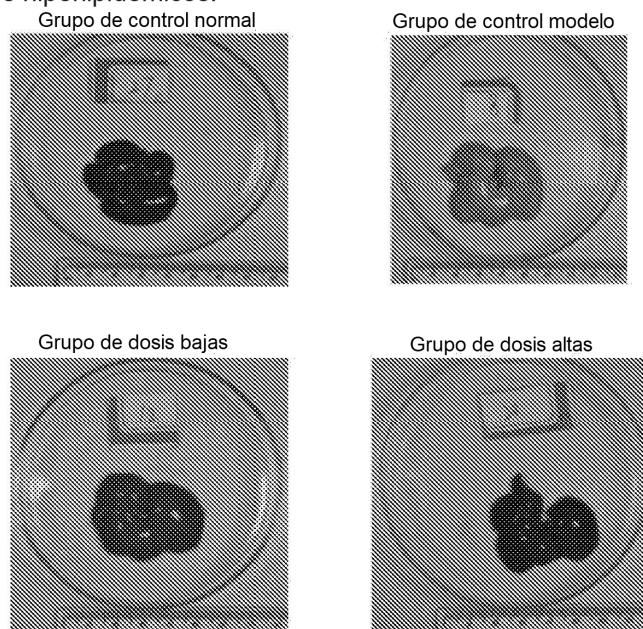


FIG. 20. La observación general de la deposición de lípidos en el tejido hepático.

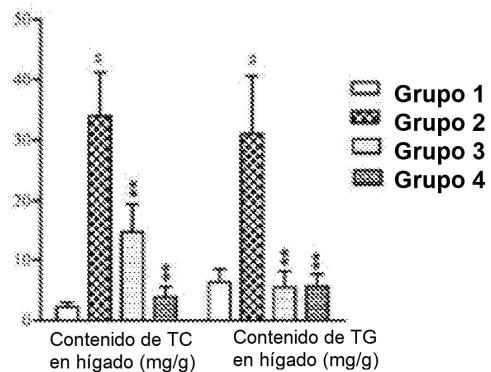


FIG. 21. El efecto de BUDCA sobre el contenido de TC y TG en hígados de hámsteres hiperlipidémicos.

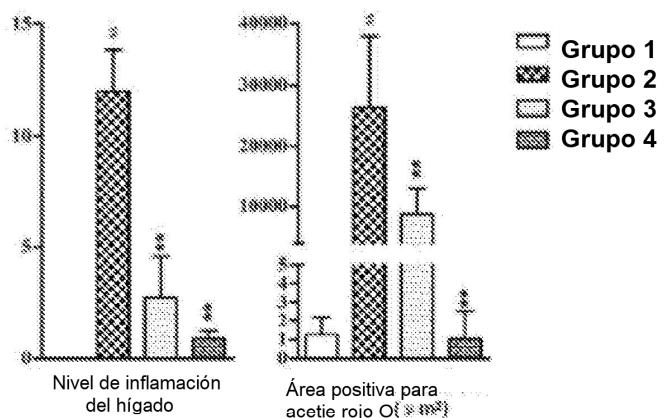


FIG. 22. El efecto de BUDCA sobre el índice de inflamación y el área positiva para el aceite rojo O.