

**A61K 31/47** (2011.01) **A61K 31/78** (2011.01)  
**A61K 31/717** (2011.01) **A61K 31/718** (2011.01)  
**A61P 1/00** (2011.01) **A61P 31/00** (2011.01)  
**A23K 1/17** (2011.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: <b>2004.08.26</b>	(73) Titular(es): <b>AUSTRALIAN BIOMEDICAL COMPANY PTY LTD</b> <b>34 MUNRO AVENUE MT WAVERLEY, VICTORIA</b> <b>3149 AU</b>
(30) Prioridade(s): <b>2003.08.28 AU 2003904654</b> <b>2003.09.04 AU 2003904817</b>	
(43) Data de publicação do pedido: <b>2006.06.07</b>	(72) Inventor(es): <b>WEN-YANG WU AU</b> <b>BETTY JIN AU</b>
(45) Data e BPI da concessão: <b>2011.08.10</b> <b>169/2011</b>	(74) Mandatário: <b>ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA</b> <b>RUA DAS FLORES, Nº 74, 4º AND 1249-235 LISBOA PT</b>

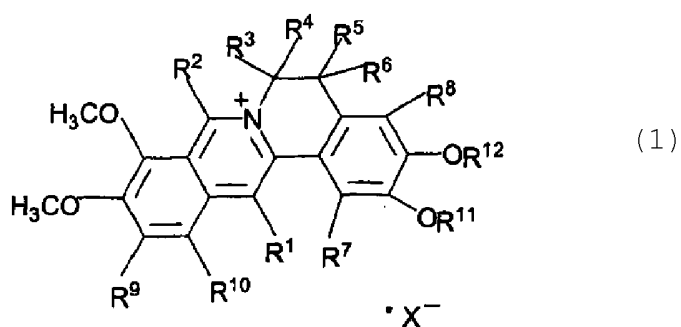
(54) Epígrafe: **COMPOSIÇÕES PARA APLICAÇÕES VETERINÁRIAS E MÉDICAS**

(57) Resumo:

O PRESENTE INVENTO REFERE-SE A COMPOSIÇÕES INCLUINDO BERBERINA OU SEUS DERIVADOS DE FÓRMULA (1) (ONDE R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10, R11, R12 E X SÃO COMO DEFINIDO NA REIVINDICAÇÃO 1) E/OU DIALDEÍDO POLIMÉRICO SELECIONADO ENTRE COMPOSTOS TAIS COMO DIALDEÍDOS POLISSACÁRIDOS (TAIS COMO CELULOSE OXIDADA (OXICELULOSE) OU AMIDO OXIDADO (OXIAMIDO) OU POLI(ACROLEÍNA/ÁCIDO ACRÍLICO) PARA O TRATAMENTO DE PERTURBAÇÕES FUNCIONAIS GASTROINTESTINAIS E CONDIÇÕES RELACIONADAS, INCLUINDO SÍNDROME DO INTESTINO IRRITÁVEL; DOENÇA INFLAMATÓRIA DO INTESTINO; COLITE, DOENÇA DE CROHN E/OU PARA PROMOVER O GANHO DE PESO EM ANIMAIS INCLUINDO HUMANOS.

RESUMO**"Composições para aplicações veterinárias e médicas"**

O presente invento refere-se a composições incluindo berberina ou seus derivados de Fórmula (1) (onde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$ ,  $R^{10}$ ,  $R^{11}$ ,  $R^{12}$  e X são como definido na reivindicação 1) e/ou dialdeído polimérico seleccionado entre compostos tais como dialdeídos polissacáridos (tais como celulose oxidada (oxicelulose) ou amido oxidado (oxiamido) ou poli(acroleína/ácido acrílico) para o tratamento de perturbações funcionais gastrointestinais e condições relacionadas, incluindo Síndrome do Intestino Irritável; Doença Inflamatória do Intestino; Colite, doença de Crohn e/ou para promover o ganho de peso em animais incluindo humanos.



## DESCRIÇÃO

### **"Composições para aplicações veterinárias e médicas"**

#### **Antecedentes do invento**

As perturbações da função gastrointestinal ("GI") são causadas pela invasão de patógenos, pós-tratamento de antibióticos de largo espectro, dieta inadequada, *stress* associado ao estilo de vida e outros factores causadores. Estas são doenças muito comuns, com condições tais como Síndrome do Intestino Irritável (SII) estando presente em tanto quanto 20% da população adulta nos E.U.A.. No Canadá, a SII está em segundo lugar apenas ultrapassada pela constipação comum como a principal causa do tempo de ausência à escola ou ao trabalho. Até agora, não existe qualquer medicamento eficaz para o tratamento de SII e da Doença Inflamatória do Intestino (DII). Desejavelmente, as composições para fins terapêuticos deverão satisfazer os critérios seguintes:

- Não tóxicas, de utilização segura.
- Não inibidoras e sem afectar adversamente as bactérias probióticas no intestino.
- Preferivelmente biodisponibilidade oral muito fraca ( nenhuns efeitos sistémicos).
- Não causadoras de resistência bacteriana.
- Anti-inflamatórias.
- Anti-diarreicas, anti-secretoras.
- Anti-motilidade.
- Fortalecedoras de imunidade.
- Neutralizantes de toxinas.

Este invento procura proporcionar composições e tratamentos para perturbações funcionais GI que satisfaçam um ou mais dos critérios anteriores.

Em humanos, o tracto gastrointestinal (GI) com uma área de 300-400 m<sup>2</sup> é a segunda maior superfície que liga o corpo com o mundo exterior. Com um consumo de 1 - 2 kg de alimentos a cada dia, o sistema imunitário GI é presenteado com a ameaça de venenos e patógenos ingeridos conjuntamente com uma enorme variedade de antigénios não nocivos. O tracto GI

digere os alimentos e absorve os nutrientes que são benéficos para o corpo, eliminando ao mesmo tempo componentes que apresentam um risco potencial para a saúde. Uma grande porção do sistema imunitário do corpo está localizada na parede GI e nos nódulos linfáticos mesentéricos, denominados sistema de tecido linfóide associado ao intestino (GALT). As secreções GI são ricas em factores antimicrobianos tais como lactoferrina e lisozima e outros factores, tais como factores de crescimento e de cicatrização de mucosa importantes tais como factor de crescimento epidérmico (EGF). A mucosa do intestino está normalmente coberta por uma camada protectora única de muco e está colonizada por microflora, que desempenham uma função chave na regulação do sistema GALT.

O muco serve em grande medida como uma matriz para a flora protectora autóctone. Os intestinos contêm cerca de 1 kg de bactérias probióticas. Os papéis destas bactérias são manter a ecologia saudável no tracto GI, sintetizando vitaminas, hormonas e outros factores importantes, e ajudar a quebrar proteínas e fibras complexas em moléculas mais pequenas que possam ser absorvidas pelas células de mucosa [1].

As bactérias patogénicas no tracto intestinal são um aspecto importante nas perturbações funcionais GI não só como um factor causal mas também como um sintoma. Outras perturbações podem fazer com que efectivamente o trato GI perca bactérias probióticas e podem permitir o crescimento de bactérias patogénicas, eventualmente, resultando em alterações à ecologia intestinal e exacerbação adicional das perturbações funcionais GI.

Para o tratamento de perturbações funcionais GI é importante restaurar uma ecologia saudável. Este invento refere-se ao tratamento de perturbações funcionais GI e condições relacionadas incluindo SII e DII incluindo colite, doença de Crohn e doença celíaca. É de esperar que o tratamento melhore a saúde intestinal e reduza sintomas incluindo obstipação, flatulência e diarreia. Actua como um depurador GI, fortalecendo o sistema imunitário, inibindo e removendo as bactérias patogénicas, e ajudando a restaurar uma ecologia saudável no tracto intestinal. O sistema

digestivo saudável resultante suportará o estado saudável do corpo e o ganho de peso saudável em animais incluindo humanos.

A berberina é um alcalóide quaternário de isoquinolina obtido a partir de várias espécies da planta *Berberis* incluindo *Berberis aristata* e *Coptis chinensis* <sup>[2]</sup>. Têm sido isolados análogos estruturais de berberina a partir de extractos da planta medicinal chinesa medicinal *Acangelisia gusanlung* <sup>[3]</sup> que tem sido utilizada desde há mais de 2000 anos na medicina Oriental tradicional para tratar gastroenterite e diarreia secretora <sup>[4]</sup> e é também eficaz na prevenção e no tratamento de modelos animais de diarreia <sup>[5-7]</sup>. A berberina possui propriedades antimicrobianas <sup>[4]</sup>, anti-motilidade <sup>[8]</sup> e anti-secretoras <sup>[9-11]</sup>. Assim, vários mecanismos podem contribuir para a utilidade terapêutica da berberina. A berberina tem sido utilizada como um fármaco antidiarreico numa gama de doses de 100 mg - 300 mg t.i.d. em adulto (6 mg - 18 mg/kg/dia) na China <sup>[12]</sup>. Finalmente, o coeficiente de permeabilidade aparente (Papp) de berberina através do tecido intestinal era da ordem de  $10^{-7}$  cm/s <sup>[13]</sup>, típico dos valores de compostos pobremente absorvidos, e que se reflecte numa pobre biodisponibilidade *in vivo*. Esta biodisponibilidade oral pobre causadora de absorções sistémicas pobres deverá proporcionar o benefício de utilização segura da administração oral de berberina.

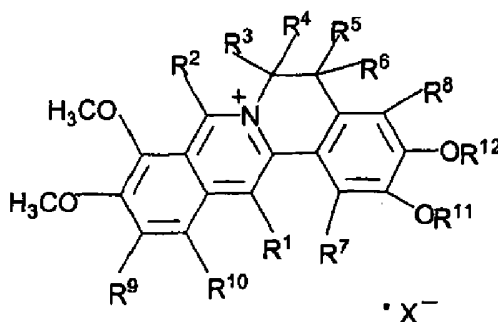
Certos dialdeídos inferiores saturados possuem também actividade antibacteriana em relação a bactérias de redução de sulfato <sup>[14]</sup>. Adicionalmente, foram ensinadas composições esporicidas alcoólicas contendo dialdeídos inferiores saturados similares <sup>[15]</sup>. É também conhecido que um amido dialdeído solúvel em água pode ser incorporado em composições de pastilha elástica como um agente cariostático <sup>[16]</sup>, um polissacárido dialdeído insolúvel em água sendo aplicado num meio numa concentração de pelo menos cerca de 0,1 por cento em peso para inibir o crescimento bacteriano <sup>[17]</sup>. Dialdeídos poliméricos sintéticos tais como poli-(2-propenal, ácido 2-propenóico) têm sido utilizados no tratamento de doenças gastrointestinais. Contudo, uma vez que as actividades antimicrobianas destes compostos são muito fracas, são

necessárias doses muito elevadas para tratamento, tais como 500-2500 mg/kg de peso corporal/dia <sup>[18]</sup>.

Composições incluindo compostos de Fórmula (1) abaixo (particularmente, cloreto de berberina), e compostos de Fórmula (2) abaixo (particularmente celulose oxidada), são úteis para o tratamento das perturbações funcionais GI e condições relacionadas e também podem ser utilizados para promover o ganho de peso em animais incluindo humanos. Uma das constatações mais importantes do invento é a existência de um efeito sinérgico obtido utilizando uma combinação dos compostos de Fórmula (1) e dos compostos de Fórmula (2) (ver Exemplo 4 e Exemplo 8, abaixo). Este efeito sinérgico proporciona a possibilidade de se utilizar uma dosagem mais baixa dos compostos, conseguindo-se por isso maior segurança e economia.

### Revelação do invento

Num aspecto, o presente invento refere-se a uma composição incluindo um composto de Fórmula (1) e um dialdeído polimérico, para o tratamento de perturbações funcionais gastrointestinais (GI) e/ou condições relacionadas, incluindo Síndrome do Intestino Irritável (SII); Doença Inflamatória do Intestino (DII), Colite, doença de Crohn e doença celíaca; e/ou para promover o ganho de peso em animais, onde a Fórmula (1) compreende:



Fórmula 1

onde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup> e R<sup>10</sup> podem ser iguais ou diferentes e são seleccionados entre H, CH<sub>3</sub>, OH, OCH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OCH<sub>2</sub>Ph, OCH<sub>2</sub>PhNO<sub>2</sub>, F ou Cl;

$R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$  podem ser iguais ou diferentes e são seleccionados entre H,  $CH_3$ ,  $OCH_3$ ,  $C_2H_5$ ,  $OC_2H_5$ ,  $OCH_2Ph$ ,  $OCH_2PhNO_2$ , F ou Cl, ou

$R^5$  e  $R^6$  são iguais ou diferentes e são seleccionados entre H,  $CH_3$ ,  $OCH_3$ ,  $C_2H_5$ ,  $OC_2H_5$ ,  $OCH_2Ph$ ,  $OCH_2PhNO_2$ , F ou Cl e  $R^3$  e  $R^4$  em conjunto são =O, ou

$R^4$  e  $R^6$  são iguais ou diferentes e são seleccionados entre H,  $CH_3$ ,  $OCH_3$ ,  $C_2H_5$ ,  $OC_2H_5$ ,  $OCH_2Ph$ ,  $OCH_2PhNO_2$ , F ou Cl e  $R^3$  e  $R^5$  em conjunto formam uma ligação dupla ou são =O, ou

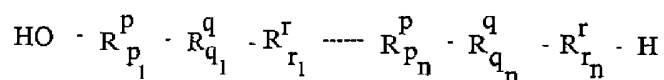
$R^3$  e  $R^4$  são iguais ou diferentes e são seleccionados entre H,  $CH_3$ ,  $OCH_3$ ,  $C_2H_5$ ,  $OC_2H_5$ ,  $OCH_2Ph$ ,  $OCH_2PhNO_2$ , F ou Cl e  $R^5$  e  $R^6$  em conjunto são =O;

$R^{11}$  e  $R^{12}$  em conjunto formam  $=CH_2$ , ou  $R^{11}$  e  $R^{12}$  podem ser iguais ou diferentes e são seleccionados independentemente entre o grupo consistindo de H,  $CH_3$ ,  $CH_2CH_3$  e  $CH_2CH_2CH_3$ ; e

$X^-$  é seleccionado entre o grupo consistindo de Cl, Br,  $SO_4$ , I e  $R^{13}COO$ , onde  $R^{13}$  é  $CH_3$  ou poliácidos.

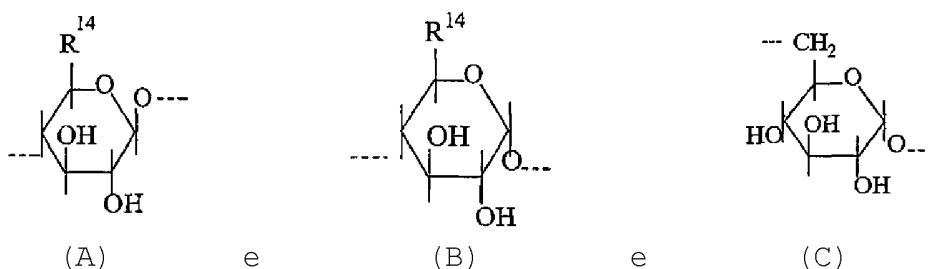
Preferivelmente,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$  e  $R^{10}$  são hidrogénio,  $R^{11}$  e  $R^{12}$  em conjunto formam  $H_2C=$  e  $X^-$  é Cl pelo que a Fórmula (1) é cloreto de berberina.

O dialdeído polimérico pode ser escolhido entre uma vasta gama de compostos adequados. Por exemplo poli-(2-propenal, ácido 2-propenóico) pode ser combinado com um composto de Fórmula (1) para formar as composições deste invento. Preferivelmente, o aldeído polimérico é um polissacárido dialdeído. Polissacáridos dialdeídos particularmente preferidos têm uma fórmula de acordo com a Fórmula (2):

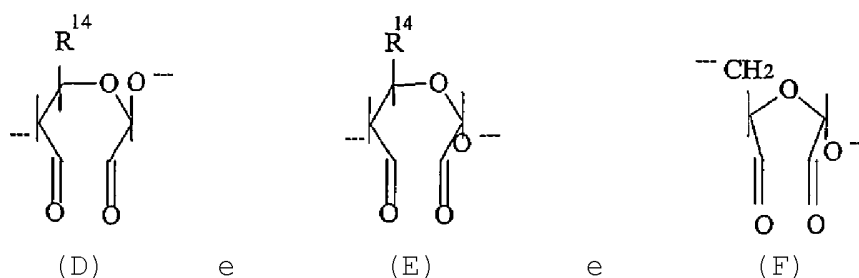


**Fórmula (2)**

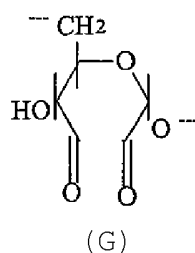
onde cada um dos monómeros  $R^p$  e  $R^r$  é seleccionado independentemente entre o grupo consistindo de:



e cada monómero  $R^q$  é seleccionado independentemente entre o grupo consistindo de:



e



onde cada  $R^{14}$  podem ser igual ou diferente e é seleccionado independentemente entre o grupo consistindo de  $CH_2OH$ ,  $COOH$ ,  $CH_2OCH_2COOH$  e  $CH_2OR^{15}$ , onde  $R^{15}$  é seleccionado entre o grupo consistindo de  $CH_2C_6H_4COOH$ ,  $C_6H_4COOH$  e  $CH_2(CH_2)_yCOOH$  onde  $y=1$  a 20;

onde  $p_1 - p_n$  podem ser iguais ou diferentes e são seleccionados cada um independentemente no intervalo 0 a  $n$ ;  $q_1 - q_n$  podem ser iguais ou diferentes e são seleccionados cada um independentemente no intervalo 1 a  $m$ , preferivelmente no intervalo 2 a  $m$ ;  $r_1 - r_n$  podem ser iguais ou diferentes e são seleccionados cada um independentemente no intervalo de 0 a  $n$ ,  $n$  é um inteiro maior do que 0 e  $m$  é um inteiro maior do que 1; e onde

$$\frac{q_1 + \dots + q_n}{p_1 + \dots + p_n + q_1 + \dots + q_n + r_1 + \dots + r_n} \times 100\% \geq 30\%$$



Numa concretização preferida, cada um de  $R^p$  e  $R^r$  é (A) e  $R^q$  é (D), pelo que o dialdeído polimérico é celulose oxidada. Neste caso, é também preferido que  $R^{14}$  seja  $CH_2OH$  ou  $CH_2OCH_2COOH$ .

Noutra concretização preferida, cada um de  $R^p$  e  $R^r$  é (B) e  $R^q$  é (E), pelo que o dialdeído polimérico é amido oxidado ou dextrina.

Noutra concretização preferida, cada um de  $R^p$  e  $R^r$  é (C) e cada  $R^q$  é (F) ou (G) pelo que o dialdeído polimérico é dextrano oxidado.

Em cada caso, é preferido que:

$$\frac{q_1 + \dots + q_n}{p_1 + \dots + p_n + q_1 + \dots + q_n + r_1 + \dots + r_n} \times 100\% \geq 40\%$$

e é particularmente preferido que:

$$40\% \leq \frac{q_1 + \dots + q_n}{p_1 + \dots + p_n + q_1 + \dots + q_n + r_1 + \dots + r_n} \times 100\% \leq 60\%$$

isto é, a celulose oxidada, amido, dextrina ou dextrano estão oxidados de 40% a 60%.

Os compostos de Fórmula (2) têm preferivelmente um peso molecular de 1000 a 1000000. Mais preferivelmente, têm um peso molecular de 10000 a 750000. Quando os compostos de Fórmula (2) são insolúveis em água, têm preferivelmente um tamanho de partícula de 5  $\mu m$  a 100  $\mu m$ , mais preferivelmente de 5  $\mu m$  a 30  $\mu m$ . Por exemplo, o diâmetro de celulose microcristalina oxidada é cerca de 20  $\mu m$ .

Geralmente, a percentagem de oxidado do composto da Fórmula (2) é de 30-100%, preferivelmente 40-100%, mais preferivelmente 40-60%. Constatou-se que os compostos da Fórmula (2) eram não tóxicos por administração oral. Em particular, as celulosas oxidadas são relativamente estáveis no tracto GI. Os seus pesos moleculares elevados impedem-nos

de serem absorvidos pelo intestino. Os seus grupos funcionais polidialdeído interagem e neutralizam toxinas. Os compostos da Fórmula (2) possuem um efeito anti-obstipação. Os compostos promovem também a cicatrização de úlceras. Os compostos não afectam adversamente o crescimento de bactérias probióticas no intestino.

Animais aos quais a composição pode ser administrada incluem: primatas incluindo humanos, aves incluindo aves domésticas, ungulados incluindo bovinos, ovelhas, cavalos, cervídeos e suínos, peixe incluindo crustáceos e moluscos, répteis, roedores, caninos e felinos.

Noutra concretização, o invento compreende a utilização de compostos de Fórmula (1) e de compostos de Fórmula (2) no fabrico de um medicamento para o tratamento de perturbações funcionais GI e condições relacionadas incluindo Síndrome do Intestino Irritável (SII); Doença Inflamatória do Intestino (DII) incluindo Colite, doença de Crohn e doença celíaca; e para promover o ganho de peso em animais incluindo humanos.

De acordo com outro aspecto, o presente invento refere-se a composições farmacêuticas conforme definidas nas reivindicações 26 e 27.

Ainda de acordo com outro aspecto, o presente invento refere-se à utilização de um composto de Fórmula (1) e de um dialdeído polimérico na preparação de uma composição para o tratamento de perturbações funcionais gastrointestinais (GI) ou condições relacionadas, ou para promover o ganho de peso em animais incluindo humanos.

Noutra concretização, o tratamento de perturbações gastrointestinais incluindo Síndrome do Intestino Irritável (SII); Doença Inflamatória do Intestino (DII), colite, doença de Crohn e doença celíaca, inclui administrar a um animal, incluindo um humano, padecendo de uma perturbação gastrointestinal, quantidades eficazes de um composto de Fórmula (1) e dialdeído polimérico. Preferivelmente, o tratamento compreende administrar quantidades eficazes de um composto de Fórmula (1) e dialdeído polimérico em conjunto. Em diferentes concretizações do invento, o tratamento pode

compreender administrar o composto de Fórmula (1) e o dialdeído polimérico sequencialmente ou simultaneamente. Numa concretização preferida, o composto de Fórmula (1) é combinado com o dialdeído polimérico para formar uma composição que é depois administrada. Preferivelmente, o dialdeído polimérico é um composto de Fórmula (2), mais preferivelmente celulose oxidada, especialmente celulose oxidada possuindo um nível de oxidação de 40% a 60%.

A dose requerida da composição contendo um composto de Fórmula (1) e um dialdeído polimérico é geralmente menos de 50% das doses quando se utilizam separadamente os componentes individuais. Por exemplo, a dose de berberina é 6 mg - 18 mg/kg/dia para um adulto. A utilização de celulose 40% oxidada é 250 mg - 750 mg/kg/dia. No entanto, quando se utiliza a combinação de berberina e celulose 40% oxidada a dose requerida é berberina 0,5 mg - 6 mg/kg/dia mais celulose 40% oxidada 5 mg - 200 mg/kg/dia. Preferivelmente, em humanos, utiliza-se uma dose de berberina 0,5 mg - 3 mg/kg/dia mais celulose 40% oxidada 5 mg - 80 mg/kg/dia.

Além disso, quantidades eficazes de um composto de Fórmula (1) e dialdeído polimérico podem ser administradas em conjunto para promover o ganho de peso em animais, incluindo humanos. Neste contexto, os compostos podem ser administrados como aditivos alimentares. Por conseguinte, o invento inclui alimentos modificados contendo de 0,1 a 50 ppm de um composto de Fórmula (1) e de 1 a 400 ppm de um dialdeído polimérico. Preferivelmente, o alimento modificado contém de 2 a 10 ppm de um composto de Fórmula (1) e de 10 a 200 ppm de um composto de Fórmula (2); mais preferivelmente o composto de Fórmula (1) é cloreto de berberina e o composto de Fórmula (2) é celulose oxidada.

Está previsto que o composto de Fórmula (1) e o dialdeído polimérico possam ser proporcionados separadamente, em vez de como uma composição. O presente invento compreende também um *kit* incluindo uma quantidade de um composto de Fórmula (1) e uma quantidade de um dialdeído polimérico para o tratamento de perturbações funcionais gastrointestinais (GI) e condições relacionadas incluindo Síndrome do Intestino Irritável (SII); Doença Inflamatória do Intestino (DII)

incluindo colite, doença de Crohn e doença celíaca; e para promoção do ganho de peso em animais incluindo humanos. Preferivelmente, a proporção em peso da quantidade de composto de Fórmula (1) para a quantidade de dialdeído polimérico varia de 1:1 a 1:100, mais preferivelmente de 1:10 a 1:40.

Constatou-se também que a berberina inibe selectivamente bactérias patogénicas tais como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* do Grupo B, *Vibrio cholerae*, *Clostridium perfringens*, *Candida albicans*, mas não inibe bactérias benéficas (probióticas) tais como *Lactobacillus plantarum* para <500 µg/ml (ver Tabela 1).

Tabela 1

<b>Actividades antimicrobianas de berberina, celulose oxidada e eritromicina</b>			
<b>Microrganismo</b>	<b>Concentração Inibidora Mínima (µg/ml)</b>		
	<b>Berberina</b>	<b>Celulose oxidada</b>	<b>Eritromicina</b>
<i>Staph. aureus</i> ATCC 29213	125	>1000	<0,625
<i>Strep.</i> Grupo B MCR1 27	62,5	>1000	<0,625
<i>E. coli</i> HS	>500	>1000	>10
<i>V. cholerae</i> 6239	125	>1000	>10
<i>C. albicans</i> ATCC 14053	62,5	>1000	>10
<i>Cl. perfringens</i> ATCC 1124	125	>1000	1,25
<i>L. plantarum</i>	500	> 1000	<0,625

Bactérias patogénicas tais como *Escherichia coli* perderam os seus filamentos e foram incapazes de se ligar sobre a parede do intestino após serem tratadas com berberina a 5 µg/ml, que é uma concentração muito menor do que a CIM (Concentração de Inibição Mínima). Contudo, para esta concentração, a berberina não afectou bactérias probióticas tais como *Lactobacilli*. Esta propriedade específica de berberina oferece um aspecto importante como um depurador (*cleanser*) do tracto GI, uma vez que esta pode remover selectivamente bactérias patogénicas do intestino sem afectar a permanência das bactérias probióticas no tracto GI, e sem

exercer pressão de fármaco excessiva sobre as bactérias, o que pode conduzir a resistência a fármacos.

Os antibióticos de largo espectro disponíveis actualmente inibem indiscriminadamente ambas as bactérias patogénicas e probióticas no intestino. O tratamento com antibiótico causa frequentemente perturbações da função GI. Animais e plantas têm coexistido com micróbios ao longo da sua evolução, por vezes para seu benefício mútuo, frequentemente numa relação antagonista. As berberinas são um componente antigo e subtil dos mecanismos de defesa inatos; foram desenvolvidas para controlar a flora natural e combater os patogénios. Não atingem receptores moleculares específicos sobre a superfície microbiana. Esta característica pode evitar o problema de induzir resistência bacteriana que ocorre com a maioria dos antibióticos. Constatou-se também que a berberina poderá induzir a interleucina-12 (IL-12) (pró-anti-infecciosa) e inibir a produção de IL-8 (pró-inflamatória). Esta propriedade anti-inflamatória que reforça a imunidade do hospedeiro é também muito útil para o tratamento de DII e SII.

Para além da utilização dos compostos de Fórmula (1), constatou-se que compostos de Fórmula (2) não apenas possuem actividade antibacteriana, mas também são capazes de neutralizar toxinas e actuar como um antioxidante.

Por conseguinte, a investigação revela também o tratamento de Síndrome do Intestino Irritável, Doença Inflamatória do Intestino, Colite, doença de Crohn e doença celíaca incluindo administrar uma quantidade eficaz de um composto de Fórmula (1) ou de Fórmula (2) a um animal, incluindo um humano, necessitado do mesmo.

O invento estabelece também que para promover o ganho de peso em animais incluindo humanos é administrada uma quantidade eficaz de um composto de Fórmula (1) e de Fórmula (2).

Aqui depois, composições depuradoras do tracto GI que incluem compostos de Fórmula (1) e compostos de Fórmula (2), e/ou os seus derivados farmacêuticamente aceitáveis podem ser

referidas como depuradores GILAX. A quantidade de depurador GILAX requerida para utilização no tratamento variará com a natureza da condição que está a ser tratada e com a idade do animal incluindo pacientes humanos, e em última instância estará à discrição do veterinário ou médico assistente.

Em geral, um depurador GILAX compreende os compostos de Fórmula (1) e os compostos de Fórmula (2) numa proporção em peso de 1:1-100, preferivelmente numa proporção em peso de 1:10-40. Por exemplo, para humanos, a dose de depuradores GILAX (por exemplo, cloreto de berberina e celulose oxidada numa proporção em peso de 1:10) pode ser 275-1650 mg/dia oralmente. A dose tomada está de acordo com a condição da perturbação funcional GI. É recomendado para um adulto tomar 550 mg uma vez ao dia para SII ou para perturbação funcional GI pós-antibiótico, 275 mg  $\times$  2 diariamente para DII, 550 mg  $\times$  4 diariamente para diarreia aguda ou outras condições graves.

Na criação de animais, tal como em avicultura, os depuradores GILAX podem ser utilizados como aditivos alimentares para promover o crescimento. A composição é preferivelmente 1-20 ppm de berberina mais 10-400 ppm de celulose oxidada; mais preferivelmente, 5 ppm de berberina mais 50 ppm de celulose oxidada.

Em suinicultura, os depuradores GILAX podem ser utilizados para proteger leitões da diarreia. Pode-se utilizar uma composição incluindo 0,5 mg - 6 mg de composto de Fórmula (1) (berberina)/kg/dia e 50 mg - 200 mg de composto de Fórmula (2) (celulose oxidada)/kg/dia.

Uma composição de depurador GILAX é preferivelmente formada por combinação dos compostos de Fórmula (1) e dos compostos de Fórmula (2) com um ou mais outros ingredientes, por exemplo: vitaminas, antibióticos, agentes anti-sépticos, tensioactivos, agentes antidiarreicos, agentes anti-obstipação, enzimas, (especialmente enzimas digestivas), bactérias probióticas, ervas, vacinas, agentes de cicatrização de úlceras (e.g. giberelinas, glucanos).

De acordo com o invento, uma formulação farmacêutica incluindo os depuradores GILAX ou seus derivados

farmaceuticamente aceitáveis pode também conter um ou mais transportadores farmaceuticamente aceitáveis e, opcionalmente, outros ingredientes terapêuticos e/ou profilácticos. Os transportadores têm de ser aceitáveis no sentido de serem compatíveis com os outros ingredientes da formulação e não prejudiciais para o seu recipiente.

As formulações farmacêuticas podem estar em qualquer forma adequada para administração ao tracto gastrointestinal, incluindo as adequadas para administração oral e rectal. Embora seja possível que, para utilização em terapia, os depuradores GILAX possam ser administrados como os produtos químicos em bruto, é preferível apresentar o(s) ingrediente(s) activo(s) como uma formulação farmacêutica. Quando apropriado, a formulação farmacêutica pode ser convenientemente apresentada em unidades de dosagem discretas e pode ser preparada por qualquer dos métodos conhecidos na especialidade da farmácia. Preferivelmente, os métodos incluem o passo de pôr em associação o(s) composto(s) activo(s) com transportadores líquidos ou transportadores sólidos finamente divididos ou ambos e depois, se necessário, a formação do produto nas formulações desejadas.

Formulações farmacêuticas adequadas para administração oral podem ser apresentadas como unidades discretas tais como cápsulas, hóstias ou comprimidos cada uma contendo uma quantidade predeterminada do(s) ingrediente(s) activo(s); como um pó ou grânulos; uma solução, uma suspensão ou como uma emulsão. O(s) ingrediente(s) activo(s) pode(m) também ser apresentado(s) como um bólus, electuário ou pasta. Comprimidos e cápsulas para administração oral podem conter excipientes convencionais tais como agentes ligantes, cargas, lubrificantes, desintegrantes ou agentes molhantes. Os comprimidos podem ser revestidos de acordo com métodos conhecidos na especialidade. Preparações líquidas orais podem estar na forma, por exemplo, de suspensões, soluções, emulsões, aquosas ou oleosas, xaropes ou elixires, ou podem ser apresentadas como um produto seco para reconstituição com água ou outro veículo adequado antes da utilização. Estas preparações líquidas podem conter aditivos convencionais tais como agentes de suspensão, agentes emulsionantes, veículos

não aquosos (que podem incluir óleos alimentares), ou conservantes.

Para administração a uma úlcera gastrointestinal tal como uma úlcera péptica, os compostos de depurador GILAX ou seus derivados farmacêuticamente aceitáveis podem ser administrados por qualquer dos métodos e formulações utilizados na especialidade da administração ao tracto gastrointestinal.

Quando desejado, podem-se utilizar formulações adaptadas para proporcionar libertação prolongada do ingrediente activo.

Os compostos dos depuradores GILAX podem também ser utilizados em combinação com outros agentes terapêuticos, por exemplo, agentes anti-infecção, tais como antibióticos, ou agentes de cicatrização de úlceras tais como giberelinas, glucanos, factores de crescimento (EGF), e/ou bactérias probióticas tais como *Lactobacillus plantarum*.

As combinações acima mencionadas podem ser convenientemente apresentadas para utilização na forma de uma formulação farmacêutica e assim estas formulações, incluindo uma combinação de compostos de Fórmula (1) e de Fórmula (2) como definidos acima, em conjunto com um seu transportador farmacêuticamente aceitável, constituem um aspecto adicional do invento.

Quando os compostos de depuradores GILAX são utilizados com um segundo agente terapêutico activo no tratamento de perturbações funcionais GI e condições relacionadas, a dose de cada composto pode ser ou a mesma ou pode diferir da utilizada quando cada composto é utilizado sozinho. Doses apropriadas serão facilmente reconhecidas pelos peritos na especialidade.

Os compostos de depuradores GILAX e seus derivados farmacêuticamente aceitáveis podem ser preparados por quaisquer métodos conhecidos na especialidade para a preparação de compostos de estrutura análoga.



**Exemplos**

O invento será agora descrito por referência a exemplos. Os exemplos são apenas para ilustração.

**Exemplo 1.****Preparação de um composto de Fórmula (1), cloreto de berberina.**

A raiz e casca de *Berberis vulgaris* (1,5 kg, moídas) foram levadas ao refluxo com etanol (10 L × 2). Filtraram-se os extractos de etanol e evaporou-se sob pressão reduzida para proporcionar um óleo acastanhado. Dissolveu-se este resíduo numa solução de HCl 0,1 M quente (10 L × 2), filtrou-se e evaporou-se o filtrado sob vácuo até cerca de 1 L, e depois agitou-se à temperatura ambiente de um dia para o outro. Recolheu-se o precipitado amarelo e lavou-se com água fria, depois redissolveu-se em água ebuliente (10 L × 2), arrefeceu-se até à temperatura ambiente para proporcionar cloreto de berberina (44,5 g) como um pó cristalino amarelo após filtração, lavagem com água e secagem ao ar. A análise dos cristais utilizando RMN produziu os resultados:

RMN-<sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)

3,16 (t, 2H), 4,02 (s, 3H), 4,15 (s, 3H), 4,88 (t, 2H),  
6,12 (s, 2H), 7,03 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,95 (d, AB,  
1H), 8,15 (d, AB, 1H), 8,89 (s, 1H), 9,83 (s, 1H).

**Exemplo 2.****Preparação de um composto de Fórmula (2), celulose 40% oxidada.**

A uma solução agitada de ácido periódico (140,7 g, 0,6175 mole) em água (1,08 L) a pH<0,5 adicionou-se em porções celulose microcristalina (tamanho de partícula de ~20 em diâmetro) (250 g, 1,54 mole) a <30°C durante um período de 2 horas. Agitou-se a totalidade da mistura a 30-32°C durante 4 horas, e depois à temperatura ambiente durante 16 horas. A esta mistura reaccional resultante, adicionou-se uma solução de hidróxido de sódio a 5% (~480 ml) para ajustar o pH da

solução a 5-6. Filtrou-se a suspensão; lavou-se o sólido com água (2 L × 4) até o filtrado sobre papel de teste de KI-amido mostrar a ausência do oxidante. Lavou-se depois o sólido com acetona (0,5 L) e secou-se ao ar para proporcionar celulose 40% oxidada como um pó branco (215 g, 87%).

### **Exemplo 3.**

#### **Preparação de um composto de Fórmula (2) celulose 40% oxidada solúvel em água.**

A uma solução agitada de carboximetilcelulose (MW 250000, DS=0,7) (1 g, 6,17 mmole) em água (25 ml) num banho de gelo, adicionou-se gota a gota uma solução de periodato de sódio (532,5 mg, 2,48 mmole) em água durante um período de 2 horas. Agitou-se a mistura reaccional a 5-10°C durante 16 horas, e depois dialisou-se contra água num tubo de diálise (o corte MW-10000) durante 48 horas. Depois liofilizou-se a solução para proporcionar celulose 40% oxidada solúvel em água como um pó branco (813 mg, 81,4%).

### **Exemplo 4.**

#### **Experiência piloto no frango.**

Pintos com um dia de idade machos (Leghorn branco □ New Hampshire) foram alimentados com granulado de frango Barastoc, que contém bacitracina zinco e D.O.T. (3,5-dinitro-ortotuluamida) e antioxidantes etoxiquina e B.H.T. durante 13 dias. Ao dia 14, foram divididos aleatoriamente em seis grupos de cinco frangos cada, com o peso médio dos frangos de cada grupo variando de 121,4 g a 124,2 g (2,3% de variância entre todos os grupos). Os frangos foram depois alimentados com o mesmo granulado de crescimento básico, que não continha quaisquer antibióticos mas continha D.O.T., com diferentes aditivos alimentares apresentados como se segue:

Grupo A: o aditivo alimentar é 50 ppm de cloreto de berberina.

Grupo B: o aditivo alimentar é 10 ppm de cloreto de berberina.

Grupo C: o aditivo alimentar é 200 ppm de celulose 40% oxidada.

Grupo D: o aditivo alimentar é 100 ppm de celulose 40% oxidada.

Grupo E: o aditivo alimentar é 5 ppm de cloreto de berberina + 50 ppm de celulose 40% oxidada.

Controlo: nenhum aditivo alimentar.

Os frangos foram alimentados durante outros 23 dias. Realizaram-se observações da ingestão de alimento, ganhos de peso, cor de cristas (uma crista de cor vermelha indica um estado saudável da ave), e mortalidade. Não ocorreram quaisquer mortes na experiência. Não existiram quaisquer diferenças significativas nas quantidades ingeridas de alimentos entre os grupos. Foi realizada uma análise estatística bilateral para um nível de significância de  $p=0,05$ . Os resultados são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2**

Efeito sinérgico da composição do composto de Fórmula (1) (cloreto de berberina) e do composto de Fórmula (2) (celulose 40% oxidada) no crescimento de frangos								
Grupo Experimental	Cristas vermelhas							Taxa de crescimento em comparação com a do controlo ao dia 36
	(Número de cristas vermelhas/número total de frangos							
	Dia 14	Dia 17	Dia 21	Dia 24	Dia 26	Dia 32	Dia 36	
A	0/5	1/5	1/5	3/5	3/5	4/5	4/5	106,36% (p=0,05)
B	0/5	0/5	2/5	2/5	3/5	4/5	5/5	101,79%
C	0/5	1/5	1/5	1/5	4/5	4/5	5/5	101,74%
D	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	2/5	3/5	99,82%
E	0/5	1/5	1/5	1/5	2/5	5/5	5/5	108,11% (p=0,05)
Controlo	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	100,00%

Não foi encontrado qualquer resíduo nem de berberina nem de celulose oxidada na carne dos frangos.

O Exemplo 4 demonstra o efeito sinérgico do invento. A partir dos resultados, é óbvio que a composição de 5 ppm de

berberina mais 50 ppm de celulose oxidada deu a melhor promoção de crescimento em comparação com 20 ppm de berberina ou 10 ppm de berberina ou 200 ppm de celulose oxidada, ou 100 ppm de celulose oxidada sozinhos. Este efeito sinérgico proporciona a possibilidade de se utilizarem dosagens mais baixas dos compostos, conseguindo-se por isso maior segurança e economia.

#### **Exemplo 5.**

##### **Preparação de depurador GILAX.**

- a) Introduziram-se 50 mg de cloreto de berberina misturados com 500 mg de celulose 40% oxidada numa cápsula para administração oral para um adulto para o tratamento de SII ou perturbação funcional GI pós-antibiótico ou diarreia.
- b) Introduziram-se 25 mg de cloreto de berberina misturados com 250 mg de celulose 40% oxidada numa cápsula para administração oral para o tratamento de DII.

#### **Exemplo 6.**

##### **Combinação de depurador GILAX com bactérias probióticas para o tratamento de SII e DII.**

Pode-se utilizar depurador GILAX do Exemplo 5 sequencialmente ou simultaneamente com a preparação de bactérias probióticas. Uma cápsula ou comprimido de bactérias probióticas, protegidos do ar, contém  $0,5-1 \times 10^{10}$  CFU/cápsula ou comprimido. A sua composição é apresentada como se segue:

<i>Bifidobacterium bifidum</i>	30%
<i>Bifidobacterium longum</i>	20%
<i>Lactobacillus plantarum</i>	10%
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	10%
<i>Lactobacillus salivarius</i>	10%
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	20%

**Exemplo 7.****Composto de Fórmula (2), celulose 40% oxidada como aditivo alimentar para promover o crescimento de frangos.**

A experiência dos frangos foi estabelecida substancialmente como descrito no Exemplo 4, mas com 6 frangos em cada um dos grupos experimentais e de controlo. No entanto, o aditivo alimentar foi 1000 ppm de celulose 40% oxidada. A taxa de crescimento do grupo experimental de seis frangos foi 3,86% ( $p=0,05$ ) superior à dos seis frangos no grupo de controlo.

**Exemplo 8.****Efeito sinérgico do composto de Fórmula (1) e do composto de Fórmula (2) no tratamento de DII num modelo de ratinho.**

Utilizou-se o modelo de colite de ratinho hFUT1. Proporciona uma percepção sobre a patogénese da Doença Inflamatória do Intestino (DII). Estes ratinhos não desenvolvem doença num ambiente isento de germes. Uma disfunção imunitária que contribui para a DII em humanos inclui reactividade anormal de células T e uma perda de tolerância a bactérias do intestino. As composições de compostos de Fórmula (1) e Fórmula (2) foram administradas oralmente aos ratinhos para verificar a eficácia na alteração da flora intestinal e na redução da gravidade da colite. Os resultados positivos indicaram que as composições de compostos de Fórmula (1) e Fórmula (2) podem ter um papel terapêutico na DII de humano.

Utilizou-se um total de cinco grupos com dez ratinhos por grupo como se segue.

- 1) Controlo (sem tratamento).
- 2) Tratado com composto da Fórmula (1) (cloreto de berberina), 13,5 mg/kg/dia (o.s.).
- 3) Tratado com composto da Fórmula (2) (celulose 40% oxidada), 114 mg/kg/dia (o.s.).
- 4) Tratado com composição do composto de Fórmula (1) (cloreto de berberina) (6,7 mg/kg/dia) e do composto de

Fórmula (2) (celulose 40% oxidada) (57 mg/kg/dia) (o.s.).

5) Tratado com composição do composto de Fórmula (1) (cloreto de berberina) (13,5 mg/kg/dia) e do composto de Fórmula (2) (114 mg/kg/dia) (o.s.).

Os resultados são apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3**

<b>Efeito sinérgico da composição do composto de Fórmula (1) (cloreto de berberina) e do composto de Fórmula (2) (celulose 40% oxidada) na DII em ratinhos</b>	
<b>Grupo N.º</b>	<b>Taxa de sobrevivência após 56 dias de tratamento</b>
1	3/10
2	5/10
3	5/10
4	9/10
5	9/10

#### **Exemplo 9.**

**Ensaio de tolerância a dose do composto de Fórmula (1) (cloreto de berberina) e do composto de Fórmula (2) (celulose 40% oxidada) em ratinhos Balb-C.**

Ratinhos Balb-C 30 machos e 30 fêmeas foram divididos em grupos de 10. Incluíram-se 10 ratinhos machos e 10 ratinhos fêmeas em cada um de três grupos como se segue;

- 1) Controlo (sem composto).
- 2) Administração oral (por sonda) com cloreto de berberina 250 mg/kg/dia durante 14 dias consecutivos.
- 3) Administração oral (por sonda) com celulose 40% oxidada 1330 mg/kg/dia durante 14 dias consecutivos.

Todos os ratinhos na experiência sobreviveram e estavam todos saudáveis e não existiu qualquer diferença significativa entre os grupos.

A observação histológica de lâminas de tecidos (fígado, rim, pulmão, intestino) a partir dos ratinhos não mostrou qualquer anomalia.

#### **Exemplo 10.**

#### **Avaliação de GILAX como aditivo alimentar para a saúde dos porcos após desmame.**

A maioria das suiniculturas funciona num sistema de fluxo contínuo tradicional com alguma mistura de desmames, separação de grupos etários limitada e fluxo de porcos de rotina entre áreas da instalação. Estes factores podem conduzir a incidentes de diarreia após desmame. Pretende-se verificar se o produto limpeza GILAX podia proporcionar uma protecção sanitária eficaz nos desmames.

Um desenho de blocos randomizados atribuiu cortelhas individuais do mesmo sexo por grupo de tratamento no desmame. Cada cortelha continha 15 leitões (21 dias de idade) e foram utilizadas três cortelhas.

- 1) Controlo positivo. Os leitões receberam amoxicilina na alimentação com 50 mg/kg/dia durante 21 dias.
- 2) Controlo negativo. Os leitões receberam alimentação não medicada e água durante 21 dias.
- 3) Tratamento com depurador GILAX. Os leitões receberam depurador GILAX na alimentação (5 mg/kg/dia de cloreto de berberina + 50 mg/kg/dia de celulose 40% oxidada) durante 21 dias.

Quaisquer leitões doentes detectados durante o estudo foram doseados com amoxicilina injectável (2 g/dia × 2). Neste estudo, os leitões no grupo 1 (amoxicilina) e no grupo 3 (GILAX) estavam todos saudáveis, e não foi necessária qualquer amoxicilina injectável. Dois leitões no grupo 2 (controlo negativo) ficaram doentes e foram injectados com antibiótico.

**Notas de rodapé**

- [1] Tancrède C. Role of human microflora in health and disease. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 11:1012 (1992).
- [2] Chopra, R.N., *et al.*, Pharmacological action of berberine. *Indian J. Med. Res.* 19, 1193-1203 (1932).
- [3] Zhang, M. F. *et al.*, Two new 8-oxotetrahydroprotoberberine alkaloids, gusanlung A and B from *Acangelisia gusanlung*. *Planta Med.* 57, 457-459 (1991).
- [4] Tang, W. *et al.*, In Chinese Drugs of Plant Origin. pp361-371 (1992), Springer-Verlag Press: London.
- [5] Dutta, N.K. *et al.*, Berberine in toxin induced experimental cholera. *Br. J. Pharm.* 44,153-159 (1972).
- [6] Sabir, M. *et al.*, Antagonism of cholera toxin by berberine in the gastrointestinal tract of adult rats. *Indian J. Med. Res.* 65, 305-313 (1977).
- [7] Sack, R.B. *et al.*, Berberine inhibits intestinal secretory response of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* enterotoxins. *Infect. Immun.* 35, 471-475 (1982).
- [8] Yamamoto, K. *et al.*, Pharmacological studies on anti-diarrhoeal effects of a preparation containing berberine and *gerainii herba*. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 101, 169-175 (1993).
- [9] Tai, Y.H. *et al.*, Antisecretory effects of berberine in rat ileum. *Am. J. Physiol.* 241, G253-G258 (1981).
- [10] Guandalini, S. *et al.*, Effects of berberine on basal and secretagogue-modified ion transport in the rabbit ileum in vitro. *J. Pediatr. Gastroenterol.* 6, 953-960 (1987).
- [11] Taylor, C.T. *et al.*, Berberine inhibition of electrogenic ion transport in rat colon. *Br. J. Pharmacol.* 116, 2267-2672 (1995). Berberine inhibits ion transport in human colonic epithelia. *Eur. J. Pharmacol.* 368, 111-118 (1999).
- [12] Chinese Pharmacopoeia Part II p.437-439 5th Edition (1990).
- [13] Baird A.W *et al.*, Non-antibiotic anti-diarrhoeal drugs: factors affect oral bioavailability of berberine and loperamide in intestinal tissue. *Adv. Drug Deliv. Review* 23, 111-120 (1997).

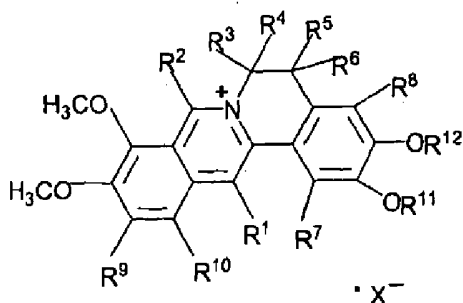


- [14] Patente dos E.U.A. 2801216.
- [15] Patente dos E.U.A. 3016328.
- [16] Patente dos E.U.A. 3679792.
- [17] Patente dos E.U.A. 4034084.
- [18] a) 6410040.  
b) PCT/AU96/00328.

Lisboa, 2011-08-25

REIVINDICAÇÕES

1. Composição incluindo um composto de Fórmula (1) e um dialdeído polimérico para o tratamento de perturbações funcionais gastrointestinais (GI) ou condições relacionadas e/ou para promover o ganho de peso em animais, onde a Fórmula (1) compreende:



Fórmula 1

onde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$  e  $R^{10}$  podem ser iguais ou diferentes e são seleccionados entre H, CH<sub>3</sub>, OH, OCH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OCH<sub>2</sub>Ph, OCH<sub>2</sub>PhNO<sub>2</sub>, F ou Cl;

$R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$  podem ser iguais ou diferentes e são seleccionados entre H, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OCH<sub>2</sub>Ph, OCH<sub>2</sub>PhNO<sub>2</sub>, F ou Cl, ou

$R^5$  e  $R^6$  são iguais ou diferentes e são seleccionados entre H, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OCH<sub>2</sub>Ph, OCH<sub>2</sub>PhNO<sub>2</sub>, F ou Cl e  $R^3$  e  $R^4$  em conjunto são =O, ou

$R^4$  e  $R^6$  são iguais ou diferentes e são seleccionados entre H, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OCH<sub>2</sub>Ph, OCH<sub>2</sub>PhNO<sub>2</sub>, F ou Cl e  $R^3$  e  $R^5$  em conjunto formam uma ligação dupla ou são =O, ou

$R^3$  e  $R^4$  são iguais ou diferentes e são seleccionados entre H, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OCH<sub>2</sub>Ph, OCH<sub>2</sub>PhNO<sub>2</sub>, F ou Cl e  $R^5$  e  $R^6$  em conjunto são =O;

$R^{11}$  e  $R^{12}$  em conjunto formam =CH<sub>2</sub>, ou  $R^{11}$  e  $R^{12}$  podem ser iguais ou diferentes e são seleccionados independentemente entre o grupo consistindo de H, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; e

X é seleccionado entre o grupo consistindo de Cl, Br, SO<sub>4</sub>, I e R<sup>13</sup>COO, onde R<sup>13</sup> é CH<sub>3</sub> ou poliácidos.

2. Composição de acordo com a reivindicação 1, onde  $R^5$  e  $R^6$  são iguais ou diferentes e são seleccionados entre H, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OCH<sub>2</sub>Ph, OCH<sub>2</sub>PhNO<sub>2</sub>, F ou Cl e  $R^3$  e  $R^4$  em conjunto são =O.

**3.** Composição de acordo com a reivindicação 1,  $R^4$  e  $R^6$  são iguais ou diferentes e são seleccionados entre H,  $CH_3$ ,  $OCH_3$ ,  $C_2H_5$ ,  $OC_2H_5$ ,  $OCH_2Ph$ ,  $OCH_2PhNO_2$ , F ou Cl e  $R^3$  e  $R^5$  em conjunto formam uma ligação dupla ou são =O.

**4.** Composição de acordo com a reivindicação 1 onde  $R^3$  e  $R^4$  são iguais ou diferentes e são seleccionados entre H,  $CH_3$ ,  $OCH_3$ ,  $C_2H_5$ ,  $OC_2H_5$ ,  $OCH_2Ph$ ,  $OCH_2PhNO_2$ , F ou Cl e  $R^5$  e  $R^6$  em conjunto são =O.

**5.** Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4 onde as perturbações funcionais GI ou condições relacionadas incluem Síndrome do Intestino Irritável (SII); Doença Inflamatória do Intestino (DII), Colite, doença de Crohn e doença celíaca.

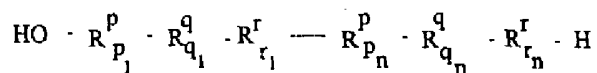
**6.** Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4 onde os animais incluem humanos e outros primatas, aves incluindo aves domésticas, ungulados incluindo bovinos, ovelhas, cervídeos e suínos, peixe incluindo crustáceos e moluscos, répteis, roedores, caninos e felinos.

**7.** Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4 onde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$  e  $R^{10}$  são hidrogénio,  $R^{11}$  e  $R^{12}$  em conjunto formam  $=CH_2$  e  $X^-$  é Cl pelo que o composto de Fórmula (1) é cloreto de berberina.

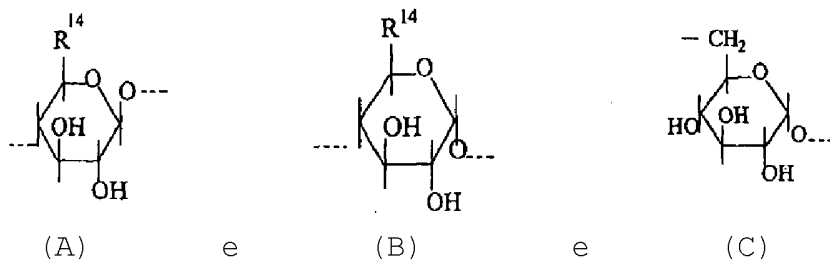
**8.** Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4 onde o dialdeído polimérico é poli-(2-propenal, ácido 2-propenóico).

**9.** Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4 onde o dialdeído polimérico é um polissacárido dialdeído.

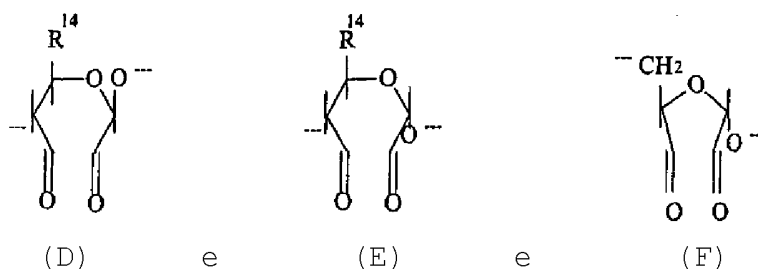
**10.** Composição de acordo com a reivindicação 9 onde o dialdeído polissacárido compreende um composto de Fórmula (2).

**Fórmula (2)**

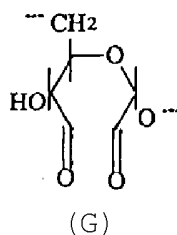
onde cada um dos monómeros  $\text{R}^{\text{p}}$  e  $\text{R}^{\text{r}}$  é seleccionado independentemente entre o grupo consistindo de:



e cada monómero  $\text{R}^{\text{q}}$  é seleccionado independentemente entre o grupo consistindo de:



e



onde cada  $\text{R}^{14}$  pode ser igual ou diferente e é seleccionado independentemente entre o grupo consistindo de  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $\text{COOH}$ ,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{COOH}$  e  $\text{CH}_2\text{OR}^{15}$ , onde  $\text{R}^{15}$  é seleccionado entre o grupo consistindo de  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{COOH}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_4\text{COOH}$  e  $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_y\text{COOH}$  onde  $y=1$  a  $20$ ;

onde  $\text{p}_1 - \text{p}_n$  podem ser iguais ou diferentes e são seleccionados cada um independentemente no intervalo  $0$  a  $n$ ;  $\text{q}_1 - \text{q}_n$  podem ser iguais ou diferentes e são seleccionados cada um independentemente no intervalo  $1$  a  $m$ ;  $\text{r}_1 - \text{r}_n$  podem

ser iguais ou diferentes e são seleccionados cada um independentemente no intervalo de 0 a n, n é um inteiro maior do que 0 e m é um inteiro maior do que 1; e onde

$$\frac{q_1 + \dots + q_n}{p_1 + \dots + p_n + q_1 + \dots + q_n + r_1 + \dots + r_n} \times 100\% \geq 30\%$$

**11.** Composição de acordo com a reivindicação 10 onde cada um de R<sup>p</sup> e R<sup>r</sup> é (A) e R<sup>q</sup> é (D), pelo que o dialdeído polimérico é celulose oxidada.

**12.** Composição de acordo com a reivindicação 11 onde R<sup>14</sup> é CH<sub>2</sub>OH ou CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>COOH.

**13.** Composição de acordo com a reivindicação 10 onde cada um de R<sup>p</sup> e R<sup>r</sup> é (B) e R<sup>q</sup> é (E), pelo que o dialdeído polimérico é amido oxidado ou dextrina.

**14.** Composição de acordo com a reivindicação 10 onde cada um de R<sup>p</sup> e R<sup>r</sup> é (C) e R<sup>q</sup> é (F) e/ou (G) pelo que o dialdeído polimérico é dextrans oxidado.

**15.** Composição de acordo com a reivindicação 11, 13 ou 14, onde:

$$\frac{q_1 + \dots + q_n}{p_1 + \dots + p_n + q_1 + \dots + q_n + r_1 + \dots + r_n} \times 100\% \geq 40\%$$

**16.** Composição de acordo com a reivindicação 15, onde:

$$40\% \leq \frac{q_1 + \dots + q_n}{p_1 + \dots + p_n + q_1 + \dots + q_n + r_1 + \dots + r_n} \times 100\% \leq 60\%$$

**17.** Composição de acordo com a reivindicação 10 onde o composto de Fórmula (2) tem um peso molecular de 1000 a 1000000.

**18.** Composição de acordo com a reivindicação 17 onde o composto de Fórmula (2) tem um peso molecular de 10000 a 750000.

**19.** Composição de acordo com a reivindicação 10 onde o composto de Fórmula (2) é insolúvel em água e tem um tamanho de partícula de 5  $\mu\text{m}$  a 100  $\mu\text{m}$ .

**20.** Composição de acordo com a reivindicação 19 onde o composto de Fórmula (2) tem um tamanho de partícula de 5  $\mu\text{m}$  a 30  $\mu\text{m}$ .

**21.** Composição de acordo com a reivindicação 10, onde a proporção em peso de composto de Fórmula (1) para composto de Fórmula (2) varia de 1:1 a 1:100.

**22.** Composição de acordo com a reivindicação 21 onde a proporção em peso de composto de Fórmula (1) para composto de Fórmula (2) varia de 1:10 a 1:40.

**23.** Composição de acordo com a reivindicação 11 onde o composto de Fórmula (1) é cloreto de berberina e a celulose oxidada compreende de 30 a 100% de monómero oxidado.

**24.** Composição de acordo com a reivindicação 23 onde a celulose oxidada compreende de 40 a 60% de monómero oxidado.

**25.** Composição de acordo com a reivindicação 1 para promover o ganho de peso em humanos e outros primatas, aves, ungulados, peixe, répteis, roedores, caninos e felinos.

**26.** Composição farmacêutica incluindo um composto de Fórmula (1) e um dialdeído polimérico, em conjunto com um ou mais ingredientes activos adicionais seleccionados entre vitaminas, antibióticos, agentes anti-sépticos, tensioactivos, agentes antidiarreicos, agentes anti-obstipação, enzimas incluindo enzimas digestivas, bactérias probióticas, ervas, vacinas, agentes de cicatrização de úlceras, factores de crescimento, giberelinas e glucanos.

**27.** Composição farmacêutica incluindo um composto de Fórmula (1) e um composto de Fórmula (2), em conjunto com um ou mais ingredientes activos adicionais seleccionados entre outros polidialdeídos, vitaminas, antibióticos, agentes anti-sépticos, tensioactivos, agentes antidiarreicos, agentes

anti-obstipação, enzimas incluindo enzimas digestivas, bactérias probióticas, ervas, vacinas, agentes de cicatrização de úlceras, factores de crescimento, giberelinas e glucanos.

**28.** Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 26, onde a composição contém também um ou mais excipientes farmacêuticamente aceitáveis seleccionados entre agentes ligantes, lubrificantes, cargas, desintegrantes, agentes molhantes, agentes de suspensão, melhoradores da viscosidade, tampões e agentes de ajustamento da isotonicidade.

**29.** Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 27, onde a composição contém também um ou mais excipientes farmacêuticamente aceitáveis seleccionados entre agentes ligantes, lubrificantes, cargas, desintegrantes, agentes molhantes, agentes de suspensão, melhoradores da viscosidade, tampões e agentes de ajustamento da isotonicidade.

**30.** *Kit* incluindo uma quantidade de um composto de Fórmula (1) e uma quantidade de dialdeído polimérico para o tratamento de perturbações funcionais gastrointestinais (GI) ou condições relacionadas incluindo Síndrome do Intestino Irritável (SII); Doença Inflamatória do Intestino (DII) incluindo colite, doença de Crohn e doença celíaca; e para promoção do ganho de peso em animais incluindo humanos.

**31.** *Kit* de acordo com a reivindicação 30 onde a proporção em peso da quantidade de composto de Fórmula (1) para a quantidade de dialdeído polimérico varia de 1:1 a 1:100.

**32.** *Kit* de acordo com a reivindicação 31 onde a proporção em peso da quantidade de composto de Fórmula (1) para a quantidade de dialdeído polimérico varia de 1:10 a 1:40.

**33.** Utilização de um composto de Fórmula (1) e de um dialdeído polimérico na preparação de uma composição para o tratamento de perturbações funcionais gastrointestinais (GI)

ou condições relacionadas, ou para promover o ganho de peso em animais incluindo humanos.

**34.** Utilização de um composto de Fórmula (1) e de um dialdeído polimérico de acordo com a reivindicação 33 onde as perturbações funcionais GI ou condições relacionadas incluem Síndrome do Intestino Irritável (SII); Doença Inflamatória do Intestino (DII), colite, doença de Crohn e doença celíaca.

**35.** Utilização de um composto de Fórmula (1) e de um dialdeído polimérico de acordo com a reivindicação 33 onde o composto de Fórmula (1) é cloreto de berberina.

**36.** Utilização de um composto de Fórmula (1) e de um dialdeído polimérico de acordo com a reivindicação 33 onde o dialdeído polimérico é poli-(2-propenal, ácido 2-propenóico).

**37.** Utilização de um composto de Fórmula (1) e de um dialdeído polimérico de acordo com a reivindicação 33 onde o dialdeído polimérico é um polissacárido dialdeído.

**38.** Utilização de um composto de Fórmula (1) e de um dialdeído polimérico de acordo com a reivindicação 37 onde o polissacárido dialdeído compreende um composto de Fórmula (2).

**39.** Utilização de um composto de Fórmula (1) e de um dialdeído polimérico de acordo com a reivindicação 38 onde o composto de Fórmula (2) é celulose oxidada.

**40.** Utilização de um composto de Fórmula (1) e de um dialdeído polimérico de acordo com a reivindicação 39 onde:

$$40\% \leq \frac{q_1 + \dots + q_n}{p_1 + \dots + p_n + q_1 + \dots + q_n + r_1 + \dots + r_n} \times 100\% \leq 60\%$$

**41.** Alimento modificado contendo 0,1 a 50 ppm de um composto de Fórmula (1) e de 1 a 400 ppm de um dialdeído polimérico.



**42.** Alimento modificado de acordo com a reivindicação 41 onde o alimento contém de 2 a 10 ppm de um composto de Fórmula (1) e de 10 a 200 ppm de um composto de Fórmula (2).

**43.** Alimento modificado de acordo com a reivindicação 41 onde o composto de Fórmula (1) é cloreto de berberina e o onde o dialdeído polimérico é celulose oxidada.

Lisboa, 2011-08-25