

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 982 801**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/4439** (2006.01)

**A61K 31/519** (2006.01)

**A61P 1/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2018** **E 22180249 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2024** **EP 4122464**

54 Título: **Combinaciones terapéuticas para el tratamiento de las enfermedades hepáticas**

30 Prioridad:

**28.03.2017 US 201762477697 P**

**05.04.2017 US 201762482105 P**

**15.11.2017 US 201762586354 P**

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

**17.10.2024**

73 Titular/es:

**GILEAD SCIENCES, INC. (100.0%)**

**333 Lakeside Drive**

**Foster City, CA 94404, US**

72 Inventor/es:

**BATES, JAMIE GEIER;**

**BRECKENRIDGE, DAVID GORDON y**

**LILES, JOHN T.**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
Bemerkungen) en el folleto original publicado por la  
Oficina Europea de Patentes

ES 2 982 801 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

Combinaciones terapéuticas para el tratamiento de las enfermedades hepáticas

## CAMPO

[0001] La presente divulgación se refiere a combinaciones de un inhibidor de ACC con un agonista de FXR como se define en las reivindicaciones para su uso en el tratamiento y/o prevención de cirrosis biliar primaria o colangitis esclerosante primaria.

## LISTA DE SECUENCIAS

[0002] El Listado de Secuencias asociado a esta solicitud se proporciona en formato de texto en lugar de una copia en papel, y por la presente se incorpora por referencia a la especificación.

## FONDO

[0003] Las enfermedades hepáticas se clasifican generalmente como agudas o crónicas en función de la duración de la enfermedad. Las enfermedades hepáticas pueden estar causadas por una infección, una lesión, la exposición a fármacos o compuestos tóxicos, el alcohol, las impurezas de los alimentos y la acumulación anormal de sustancias normales en la sangre, un proceso autoinmune, un defecto genético (como la hemocromatosis) o una(s) causa(s) desconocida(s).

[0004] Las enfermedades hepáticas son una de las principales causas de muerte en todo el mundo. En concreto, se ha visto que una dieta rica en grasas daña el hígado de forma sorprendentemente similar a la hepatitis. La Fundación Americana del Hígado calcula que más del 20% de la población padece de esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD). Se sugiere que la obesidad, las dietas poco saludables y los estilos de vida sedentarios pueden contribuir a la alta prevalencia de NAFLD. Si no se trata, la NAFLD puede evolucionar a esteatohepatitis no alcohólica (NASH) y provocar graves efectos adversos. Una vez que se desarrolla la NASH, el hígado se inflama y cicatriza (cirrosis) con el tiempo.

[0005] Karlsen T.H. et al. (Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 2013, vol. 39 (3), páginas 282-301, DOI: 10.1111/APT.12581) es un artículo de revisión relativo al tratamiento actual y en perspectiva de la cirrosis biliar primaria y la colangitis esclerosante primaria. El documento WO 2016/112305 divulga en general el tratamiento de enfermedades hepáticas (por ejemplo, NALFD, NASH, fibrosis hepática, cirrosis hepática) utilizando un inhibidor de ACC. Publ. de Solicitud de La publicación nº 2014/221659 divulga el tratamiento de enfermedades hepáticas utilizando un agonista de FXR.

[0006] Aunque los informes preliminares sugieren que los cambios positivos en el estilo de vida podrían prevenir o revertir el daño hepático, no existen tratamientos médicos eficaces para la NAFLD o la NASH. En consecuencia, sigue existiendo la necesidad de proporcionar nuevos agentes farmacéuticos eficaces para tratar las enfermedades hepáticas.

## RESUMEN

[0007] La presente invención se define mediante las reivindicaciones. Cualquier materia que quede fuera del ámbito de las reivindicaciones se proporciona únicamente a título informativo.

[0008] De acuerdo con la presente invención, se proporcionan combinaciones para su uso en métodos de tratamiento y/o prevención de cirrosis biliar primaria (PBC) o colangitis esclerosante primaria (PSC) en un paciente que las necesite, que comprenden administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de acetil-CoA carboxilasa (ACC) de fórmula (I) o (II) como se define en las reivindicaciones en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de agonistas del receptor X farnesoide (FXR) de fórmula (III) o (IV) como se define en las reivindicaciones.

[0009] En una realización, el inhibidor de ACC y el agonista de FXR pueden coadministrarse. En dicha realización, el inhibidor de ACC de fórmula (I) o (II) y el agonista de FXR de fórmula (III) o (IV) pueden administrarse juntos como una única composición farmacéutica, o por separado en más de una composición farmacéutica. En consecuencia, también se proporciona en el presente documento una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de ACC de fórmula (I) o (II) y una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista de FXR de fórmula (III) o (IV).

## DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

## [0010]

FIG. 1. Triglicéridos hepáticos en umol/g en el modelo murino de FFD. (\*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001; \*\*\*\*p < 0,0001 significativamente diferentes del vehículo por ANOVA). El gráfico muestra la media ± SEM.

FIG. 2. UI/L de ALT en el modelo murino de FFD. (\*\*p < 0,001; significativamente diferente del vehículo mediante

ANOVA). El gráfico muestra la media  $\pm$  SEM.

**FIG. 3.** Expresión hepática del gen de la fibrosis hepática Col1a1 medida por RT-PCR cuantitativa en el modelo murino de FFD. (\*\*p < 0,01; \*\*\*\*p < 0,0001 significativamente diferente de vehículo por ANOVA; # significativamente diferente de cualquier agente único por prueba t). El gráfico muestra la media  $\pm$  SEM.

**FIG. 4.** Expresión hepática del gen de la fibrosis hepática Timp1 medida por RT-PCR cuantitativa en el modelo murino de FFD. (\*p < 0,05; \*\*\*\*p < 0,0001 significativamente diferente de vehículo por ANOVA; # significativamente diferente de cualquier agente único por prueba t). El gráfico muestra la media  $\pm$  SEM.

**FIG. 5.** Porcentaje de área positiva de RPS mediante análisis de imagen cuantitativo en el modelo CDHFD de rata. (\*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, \*\*\*\*p < 0,0001 significativamente diferente del vehículo mediante prueba t; & p < 0,001 significativamente diferente del inicio del tratamiento mediante prueba t). El gráfico muestra la media  $\pm$  SEM.

**FIG. 6.** Porcentaje de área  $\alpha$ -SMA positiva mediante análisis de imagen cuantitativo en el modelo de CDHFD de rata. (\*\*p < 0,01 significativamente diferente del vehículo mediante la prueba de la t; & p < 0,001 significativamente diferente del inicio del tratamiento mediante la prueba de la t; # p < 0,05 significativamente diferente de cualquier agente único mediante la prueba de la t). El gráfico muestra la media  $\pm$  SEM.

**FIG. 7.** Proteína Timp1 medida en plasma mediante ELISA en el modelo CDHFD de rata. (\*p < 0,05 significativamente diferente del vehículo mediante la prueba t; & p < 0,001 significativamente diferente del inicio del tratamiento mediante la prueba t). El gráfico muestra la media  $\pm$  SEM.

**FIG. 8.** Ácido hialurónico (AH) medido en plasma mediante ELISA en el modelo CDHFD de rata. \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, \*\*\*\*p < 0,0001 significativamente diferente del vehículo mediante la prueba t). El gráfico muestra la media  $\pm$  SEM.

**FIG. 9.** Propéptido N-terminal del colágeno de tipo III (PIIINP) medido en plasma mediante ELISA en el modelo CDHFD de rata. (\*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*\*p < 0,0001 significativamente diferente del vehículo mediante la prueba t; & p < 0,001 significativamente diferente del inicio del tratamiento mediante la prueba t; # p < 0,05 significativamente diferente de cualquier agente único mediante la prueba t). El gráfico muestra la media  $\pm$  SEM.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

### Definiciones y Parámetros Generales

**[0011]** Tal como se utilizan en la presente especificación, los siguientes términos y frases tienen generalmente el significado que se indica a continuación, excepto en la medida en que el contexto en el que se utilizan indique lo contrario.

**[0012]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "aproximadamente" utilizado en el contexto de mediciones cuantitativas significa la cantidad indicada  $\pm$  10%, o alternativamente la cantidad indicada  $\pm$  5% o  $\pm$  1%.

**[0013]** El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal de un compuesto divulgado en el presente documento que conserva la eficacia biológica y las propiedades del compuesto subyacente, y que no es biológicamente o de otro modo indeseable. Existen sales de adición de ácidos y sales de adición de bases. Las sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables pueden prepararse a partir de ácidos inorgánicos y orgánicos.

**[0014]** Los ácidos y las bases útiles para reaccionar con un compuesto subyacente y formar sales farmacéuticamente aceptables (sales de adición de ácido o de adición de base, respectivamente) son conocidos por los expertos en la materia. Del mismo modo, los métodos de preparación de sales farmacéuticamente aceptables a partir de un compuesto subyacente (previa divulgación) son conocidos por los expertos en la materia y se divulgan, por ejemplo, en Berge, et al. Journal of Pharmaceutical Science, enero de 1977, vol. 66, nº 1, y otras fuentes.

**[0015]** Como se usa aquí, "portador farmacéuticamente aceptable" incluye excipientes o agentes tales como disolventes, diluyentes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción y similares que no son deletéreos para el compuesto divulgado o el uso del mismo. El uso de tales portadores y agentes para preparar composiciones de sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica (véase, p. ej., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Co., Philadelphia, PA 17th Ed. (1985); y Modern Pharmaceutics, Marcel Dekker, Inc. 3ª Ed. (G.S. Banker & C.T. Rhodes, Eds.).

**[0016]** Los términos "cantidad terapéuticamente eficaz" y "cantidad eficaz" se usan de manera intercambiable y se refieren a una cantidad de un compuesto que es suficiente para efectuar el tratamiento como se define a continuación, cuando se administra a un paciente (p. ej., un humano) que necesita dicho tratamiento en una o más dosis. La cantidad terapéuticamente eficaz variará en función del paciente, la enfermedad tratada, el peso y/o la edad del paciente, la gravedad de la enfermedad o la forma de administración, según determine un prescriptor o cuidador cualificado.

**[0017]** El término "tratamiento" o "tratar" significa administrar un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con el fin de: (i) retrasar la aparición de una enfermedad, es decir, hacer que los síntomas clínicos de la enfermedad no se desarrollen o retrasar el desarrollo de la misma; (ii) inhibir la enfermedad, es decir, detener el desarrollo de los síntomas clínicos; y/o (iii) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de los síntomas clínicos o la gravedad de los mismos.

#### *Enfermedades hepáticas*

**[0018]** La presente invención se dirige a las combinaciones de compuestos según las reivindicaciones para su uso en el tratamiento y/o prevención de la cirrosis biliar primaria o la colangitis esclerosante primaria. Cualquier referencia a otras enfermedades hepáticas se proporciona únicamente a título informativo. Las enfermedades hepáticas son daños agudos o crónicos del hígado en función de la duración de la enfermedad. El daño hepático puede deberse a una infección, una lesión, la exposición a fármacos o compuestos tóxicos como el alcohol o las impurezas de los alimentos, una acumulación anormal de sustancias normales en la sangre, un proceso autoinmunitario, un defecto genético (como la hemocromatosis) u otras causas desconocidas. Las enfermedades hepáticas ejemplares incluyen, entre otras, la cirrosis, la fibrosis hepática, la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), la esteatohepatitis alcohólica (ASH), la lesión por isquemia reperusión hepática, la cirrosis biliar primaria (PBC), la colangitis esclerosante primaria (PSC) y la hepatitis, incluidas las hepatitis víricas y alcohólicas.

**[0019]** La enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) es la acumulación de grasa extra en las células hepáticas que no está causada por el alcohol. La NAFLD puede provocar la inflamación del hígado (esteatohepatitis), lo que a su vez puede causar cicatrices (cirrosis) con el tiempo y provocar cáncer de hígado o insuficiencia hepática. La NAFLD se caracteriza por la acumulación de grasa en los hepatocitos y suele asociarse a algunos aspectos del síndrome metabólico (por ejemplo, diabetes mellitus de tipo 2, resistencia a la insulina, hiperlipidemia, hipertensión). La frecuencia de esta enfermedad es cada vez mayor debido al consumo de dietas ricas en carbohidratos y grasas. Un subgrupo (~20%) de pacientes con NAFLD desarrolla esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

**[0020]** La NASH, un subtipo de enfermedad del hígado graso, es la forma más grave de NAFLD. Se caracteriza por esteatosis macrovesicular, degeneración globular de los hepatocitos y/o inflamación que, en última instancia, conduce a la cicatrización hepática (es decir, fibrosis). Los pacientes diagnosticados de NASH evolucionan hacia un estadio avanzado de fibrosis hepática y, finalmente, cirrosis. El tratamiento actual de los pacientes cirróticos con NASH en fase terminal es el trasplante de hígado.

**[0021]** Otra enfermedad hepática común es la colangitis esclerosante primaria (PSC). Es una enfermedad hepática crónica o de larga duración que daña lentamente los conductos biliares dentro y fuera del hígado. En los pacientes con PSC, la bilis se acumula en el hígado debido a la obstrucción de los conductos biliares, donde daña gradualmente las células hepáticas y causa cirrosis, o cicatrización del hígado. En la actualidad, no existe ningún tratamiento eficaz para curar la PSC. Muchos pacientes con PSC acaban necesitando un trasplante de hígado por insuficiencia hepática, normalmente aproximadamente 10 años después de que se les diagnostique la enfermedad. La PSC también puede provocar cáncer de vías biliares.

**[0022]** La fibrosis hepática es la acumulación excesiva de proteínas de la matriz extracelular, incluido el colágeno, que se produce en la mayoría de los tipos de enfermedades hepáticas crónicas. La fibrosis hepática avanzada provoca cirrosis, insuficiencia hepática e hipertensión portal, y a menudo requiere un trasplante de hígado.

#### *Métodos*

**[0023]** Los métodos de tratamiento del cuerpo humano mediante terapia, a los que se hace referencia en esta descripción, no forman parte de la presente invención como tal, sino que se describen aquí en relación con los compuestos y composiciones farmacéuticas para su uso en dichos métodos de tratamiento del cuerpo humano mediante terapia, según la presente invención, es decir, las combinaciones de agentes activos según las reivindicaciones para su uso en el tratamiento y/o prevención de la cirrosis biliar primaria o la colangitis esclerosante primaria. Cualquier referencia al tratamiento de otras enfermedades hepáticas se facilita únicamente a título informativo. En el presente documento se describe un método de tratamiento y/o prevención de una enfermedad hepática en un paciente que la necesita, que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de ACC en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista de FXR. La presencia de una enfermedad hepática activa puede detectarse por la existencia de niveles elevados de enzimas en la sangre. En concreto, se sabe que los niveles de alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) en sangre por encima de los rangos normales clínicamente aceptados son indicativos de daño hepático en curso. La monitorización rutinaria de los niveles de ALT y AST en sangre de los pacientes con enfermedad hepática se utiliza clínicamente para medir el progreso de la enfermedad hepática durante el tratamiento médico. La reducción de los niveles elevados de ALT y AST a los valores normales aceptados se considera una prueba clínica que refleja una reducción de la gravedad del daño hepático en curso en el paciente.

**[0024]** En ciertas divulgaciones, la enfermedad hepática es una enfermedad hepática crónica. Las enfermedades hepáticas crónicas implican la destrucción y regeneración progresivas del parénquima hepático, lo que conduce a la fibrosis y la cirrosis. En general, las enfermedades hepáticas crónicas pueden estar causadas por virus (como la hepatitis

B, la hepatitis C, el citomegalovirus (CMV) o el virus de Epstein Barr (EBV)), agentes tóxicos o fármacos (como el alcohol, el metotrexato o la nitrofurantoína), una enfermedad metabólica (como la esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), la hemocromatosis o la enfermedad de Wilson), una enfermedad autoinmune (como la hepatitis crónica autoinmune, la colangitis biliar primaria (antes conocida como cirrosis biliar primaria) o la colangitis esclerosante primaria) u otras causas (como la insuficiencia cardíaca derecha).

**[0025]** En una realización, se proporciona aquí un método para reducir el nivel de cirrosis. En una realización, la cirrosis se caracteriza patológicamente por la pérdida de la arquitectura lobular microscópica normal, con fibrosis y regeneración nodular. Los métodos para medir la extensión de la cirrosis son bien conocidos en la técnica. En una realización, el nivel de cirrosis se reduce entre un 5% y un 100%. En una realización, el nivel de cirrosis se reduce en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 15%, al menos un 20%, al menos un 25%, al menos un 30%, al menos un 35%, al menos un 40%, al menos un 45%, al menos un 50%, al menos un 55%, al menos un 60%, al menos un 65%, al menos un 70%, al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, o al menos un 95% en el sujeto.

**[0026]** En ciertas divulgaciones, la enfermedad hepática es una enfermedad hepática metabólica. En una divulgación, la enfermedad hepática es la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD). La NAFLD está asociada a la resistencia a la insulina y al síndrome metabólico (obesidad, hiperlipidemia combinada, diabetes mellitus (tipo II) e hipertensión arterial). Se considera que la NAFLD abarca un espectro de actividad de la enfermedad, y comienza como una acumulación grasa en el hígado (esteatosis hepática).

**[0027]** Se ha demostrado que tanto la obesidad como la resistencia a la insulina probablemente desempeñan un papel importante en el proceso de la enfermedad de NAFLD. Además de una dieta inadecuada, la NAFLD tiene otras causas conocidas. Por ejemplo, la NAFLD puede estar causada por ciertos medicamentos, como la amiodarona, los antivirales (por ejemplo, los análogos de nucleósidos), la aspirina (raramente como parte del síndrome de Reye en niños), los corticosteroides, el metotrexato, el tamoxifeno o la tetraciclina. La NAFLD también se ha relacionado con el consumo de refrescos por la presencia de jarabe de maíz con alto contenido en fructosa, que puede provocar un mayor depósito de grasa en el abdomen, aunque el consumo de sacarosa muestra un efecto similar (probablemente debido a su descomposición en fructosa). También se sabe que la genética desempeña un papel, ya que se han identificado dos mutaciones genéticas para esta susceptibilidad.

**[0028]** Si no se trata, la NAFLD puede convertirse en esteatohepatitis no alcohólica (NAFLD), que es la forma más extrema de NAFLD, un estado en el que la esteatosis se combina con inflamación y fibrosis. La NASH se considera una de las principales causas de cirrosis hepática. En consecuencia, se divulga en el presente documento un método de tratamiento y/o prevención de la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) en un paciente que la necesita, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de ACC en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista de FXR.

**[0029]** También se divulga en el presente documento un método para tratar y/o prevenir la fibrosis hepática en un paciente que lo necesite, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de ACC en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista de FXR. La fibrosis hepática es la acumulación excesiva de proteínas de la matriz extracelular, incluido el colágeno, que se produce en la mayoría de los tipos de enfermedades hepáticas crónicas. En ciertos casos, la fibrosis hepática avanzada provoca cirrosis e insuficiencia hepática. Los métodos para medir las histologías hepáticas, como los cambios en la extensión de la fibrosis, la hepatitis lobular y la necrosis en puente periportal, son bien conocidos en la técnica.

**[0030]** En una divulgación, el nivel de fibrosis hepática, que es la formación de tejido fibroso, fibroma o degeneración fibrosa, se reduce en más de un 90%. En una divulgación, el nivel de fibrosis, que es la formación de tejido fibroso, fibroma o degeneración fibrosa, se reduce al menos en un 90%, al menos en un 80%, al menos en un 70%, al menos en un 60%, al menos en un 50%, al menos en un 40%, al menos en un 30%, al menos en un 20%, al menos en un 10%, al menos en un 5% o al menos en un 2%.

**[0031]** En una divulgación, los compuestos aquí proporcionados reducen el nivel de fibrogénesis en el hígado. La fibrogénesis hepática es el proceso que conduce al depósito de un exceso de componentes de la matriz extracelular en el hígado, lo que se conoce como fibrosis. Se observa en una serie de afecciones como las hepatitis víricas crónicas B y C, la hepatopatía alcohólica, la hepatopatía inducida por fármacos, la hemocromatosis, la hepatitis autoinmune, la enfermedad de Wilson, la colangitis biliar primaria (antes conocida como cirrosis biliar primaria), la colangitis esclerosante, la esquistosomiasis hepática y otras. En una divulgación, el nivel de fibrogénesis se reduce en más de un 90%. En una divulgación, el nivel de fibrogénesis se reduce en al menos un 90%, al menos un 80%, al menos un 70%, al menos un 60%, al menos un 50%, al menos un 40%, al menos un 30%, al menos un 20%, al menos un 10%, al menos un 5% o al menos un 2%.

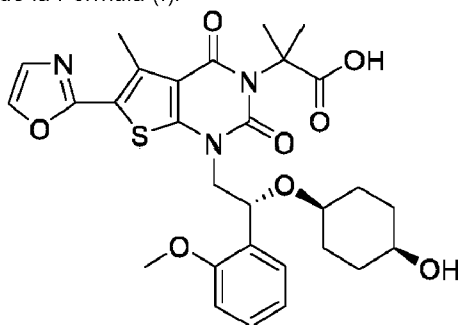
**[0032]** En otras divulgaciones, se proporciona en el presente documento un método para tratar y/o prevenir la colangitis esclerosante primaria (PSC) en un paciente que la necesita, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de ACC en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista de FXR.

[0033] Se ha observado que los pacientes que padecen NASH son de media aproximadamente 2,8 años mayores que los pacientes sanos en las pruebas epigenéticas. Así, en una divulgación, los compuestos útiles para el tratamiento de la NASH serían útiles para ralentizar, mejorar o invertir la edad epigenética o los efectos del envejecimiento debidos a la NASH. En otra divulgación, las terapias de combinación para el tratamiento de NASH como, por ejemplo, la combinación de un inhibidor de ACC con un agonista de FXR como se divulga en el presente documento pueden ser útiles para mejorar o revertir los efectos del envejecimiento debido a NASH.

[0034] En una divulgación, el inhibidor de ACC y el agonista de FXR pueden administrarse juntos en una formulación combinada o en composiciones farmacéuticas separadas, donde cada inhibidor puede formularse en cualquier forma de dosificación adecuada. En ciertas divulgaciones, los métodos aquí proporcionados comprenden administrar por separado una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de ACC y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable y una composición farmacéutica que comprende un agonista de FXR y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. Las formulaciones combinadas según la presente divulgación comprenden un inhibidor de ACC y un agonista de FXR junto con uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otros agentes terapéuticos. Las formulaciones combinadas que contienen el principio activo pueden presentarse en cualquier forma adecuada para el método de administración previsto.

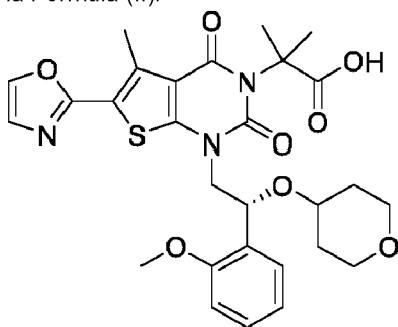
#### *Inhibidores de la ACC*

[0035] En ciertas divulgaciones de los métodos y composiciones farmacéuticas aquí divulgados, el inhibidor de ACC es un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0036] En ciertas divulgaciones de los métodos y composiciones farmacéuticas aquí divulgados, el inhibidor de ACC es un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (II):

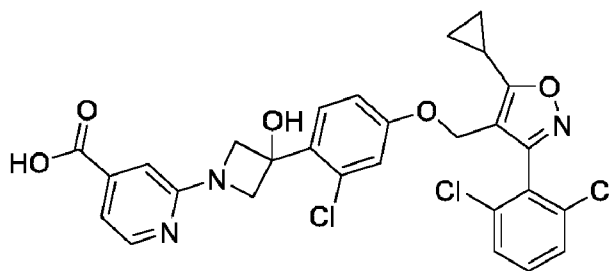


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0037] Los compuestos de Fórmula (I) y Fórmula (II) pueden sintetizarse y caracterizarse utilizando métodos conocidos por los expertos en la materia, como los descritos en la Publicación de Solicitud Internacional PCT N° WO 2013/071169. En una realización, el inhibidor de la ACC es el compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, el inhibidor de la ACC es el compuesto de Fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

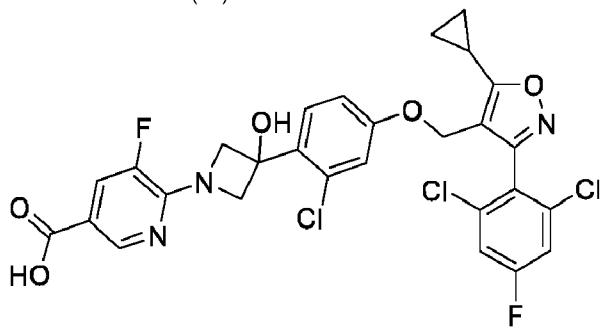
#### *Agonista FXR*

[0038] En ciertas divulgaciones de los métodos y composiciones farmacéuticas aquí divulgados, el agonista de FXR es un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (III):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0039] En ciertas divulgaciones de los métodos y composiciones farmacéuticas aquí divulgados, el agonista FXR es un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (IV):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0040] Los compuestos de Fórmula (III) y Fórmula (IV) pueden sintetizarse y caracterizarse utilizando métodos conocidos por los expertos en la materia, como los descritos en la Publicación de EE. UU. N.º 2014/0221659.

#### *Dosificación y administración*

[0041] Aunque es posible que un principio activo se administre solo, puede ser preferible presentarlos como formulaciones farmacéuticas o composiciones farmacéuticas como se describe a continuación. Las formulaciones, tanto para uso veterinario como para uso humano, de la divulgación comprenden al menos uno de los ingredientes activos, junto con uno o más portadores aceptables de los mismos y, opcionalmente, otros ingredientes terapéuticos. El portador o portadores deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los demás ingredientes de la formulación y fisiológicamente inocuos para el receptor de la misma.

[0042] Cada uno de los ingredientes activos puede formularse con portadores y excipientes convencionales, que se seleccionarán de acuerdo con la práctica ordinaria. Los comprimidos pueden contener excipientes, deslizantes, cargas, aglutinantes y similares. Las formulaciones acuosas se preparan en forma estéril y, cuando se destinan a una administración distinta de la oral, suelen ser isotónicas. Todas las formulaciones contendrán opcionalmente excipientes como los establecidos en el Handbook of Pharmaceutical Excipients (1986). Los excipientes incluyen ácido ascórbico y otros antioxidantes, agentes quelantes como EDTA, carbohidratos como dextrina, hidroxialquilcelulosa, hidroxialquilmethylcelulosa, ácido esteárico y similares. El pH de las formulaciones oscila entre 3 y 11 aproximadamente, pero normalmente es de 7 a 10 aproximadamente.

[0043] Un clínico experto puede determinar fácilmente la cantidad terapéuticamente eficaz de principio activo mediante estudios convencionales de escalado de dosis. Normalmente, cada principio activo se administrará en dosis de 0,01 miligramos a 1 gramo. En una realización, la dosis será de aproximadamente 10 miligramos a 450 miligramos. En otra realización, la dosis será de aproximadamente 25 a aproximadamente 250 miligramos. En otra realización, la dosis será de aproximadamente 50 o 100 miligramos. En una realización, la dosis será de aproximadamente 100 miligramos. En una realización, se administran 20 mg de un inhibidor de la ACC. En una realización específica, se administran 20 mg de un compuesto de Fórmula (II). En una realización, se administran 30 mg de un agonista FXR. En una realización específica, se administran 30 mg de un compuesto de Fórmula (III). Se contempla que los principios activos puedan administrarse una, dos o tres veces al día. Asimismo, los principios activos pueden administrarse una o dos veces por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez cada cinco semanas o una vez cada seis semanas.

[0044] La composición farmacéutica para el principio activo puede incluir las adecuadas para las vías de administración anteriores. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en el arte de la farmacia. Las técnicas y formulaciones se

encuentran generalmente en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA). Tales métodos incluyen el paso de poner en asociación el ingrediente activo con el portador que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando uniforme e íntimamente el principio activo con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto.

**[0045]** Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden presentarse como unidades discretas, como cápsulas, cachés o comprimidos, cada una de las cuales contiene una cantidad predeterminada del principio activo; como polvo o gránulos; como solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como emulsión líquida de aceite en agua o emulsión líquida de agua en aceite. El principio activo también puede administrarse en forma de bolo, electuario o pasta. En determinadas realizaciones, el principio activo puede administrarse en forma de inyección subcutánea.

**[0046]** Un comprimido puede fabricarse por compresión o moldeado, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos pueden prepararse comprimiendo en una máquina adecuada el principio activo en forma fluida, como polvo o gránulos, mezclado opcionalmente con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante o agente tensioactivo. Los comprimidos moldeados pueden fabricarse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del principio activo en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente recubiertos o ranurados y opcionalmente están formulados para proporcionar una liberación lenta o controlada del principio activo.

**[0047]** El principio activo puede administrarse por cualquier vía adecuada a la afección. Las vías adecuadas incluyen la oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo la bucal y sublingual), vaginal y parenteral (incluyendo la subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural), y similares. Se apreciará que la ruta preferida puede variar con, por ejemplo, la condición del receptor. En determinadas realizaciones, los principios activos son biodisponibles por vía oral y, por tanto, pueden dosificarse por vía oral. En una realización, el paciente es humano.

**[0048]** Cuando se usan en combinación en los métodos aquí divulgados, el inhibidor de ACC y el agonista de FXR pueden administrarse juntos en una sola composición farmacéutica, por ejemplo, una combinación de dosis fija, o por separado (ya sea concurrente o secuencialmente) en más de una composición farmacéutica. En ciertas realizaciones, el inhibidor de ACC y el agonista de FXR se administran juntos. En otras realizaciones, el inhibidor de ACC y el agonista de FXR se administran por separado. En algunos aspectos, el inhibidor de ACC se administra antes del agonista de FXR. En algunos aspectos, el agonista de FXR se administra antes del inhibidor de ACC. Cuando se administran por separado, el inhibidor de la ACC y el agonista del FXR pueden administrarse al paciente por la misma vía de administración o por vías diferentes.

#### *Composiciones Farmacéuticas*

**[0049]** Las composiciones farmacéuticas de la divulgación comprenden una cantidad eficaz de un inhibidor de ACC seleccionado del grupo que consiste en un compuesto de Fórmula (I) y un compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad eficaz de un agonista de FXR seleccionado del grupo que consiste en un compuesto de Fórmula (III) y un compuesto de Fórmula (IV), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

**[0050]** Cuando se utiliza para uso oral, por ejemplo, pueden prepararse comprimidos, troqueles, pastillas, suspensiones acuosas o oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, jarabes o elixires. Las composiciones destinadas al uso oral pueden prepararse según cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes, incluidos edulcorantes, aromatizantes, colorantes y conservantes, con el fin de proporcionar una preparación apetecible. Se aceptan comprimidos que contengan el principio activo mezclado con un excipiente no tóxico farmacéuticamente aceptable que sea adecuado para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, como, por ejemplo, carbonato cálcico o sódico, lactosa, lactosa monohidrato, croscarmelosa sódica, povidona, fosfato cálcico o sódico; agentes granulantes y desintegrantes, como, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, como, por ejemplo, celulosa, celulosa microcristalina, almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, como, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden no estar recubiertos o pueden estar recubiertos mediante técnicas conocidas, incluida la microencapsulación, para retrasar la desintegración y la adsorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar así una acción sostenida durante un periodo más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo como, por ejemplo, monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera.

**[0051]** Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura en las que el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el principio activo se mezcla con agua o un medio oleoso, como por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

**[0052]** Las suspensiones acuosas de la divulgación contienen los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes incluyen un agente de suspensión, como, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato sódico, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia, y agentes dispersantes o humectantes, como, por ejemplo, un fosfátido natural(p. ej., lecitina), un producto

de condensación de un óxido de alquileo con un ácido graso( por ejemplo, estearato de polioxietileno), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga(por ejemplo, heptadecaetilenooxicetanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido hexitólico(*por ejemplo*, monooleato de sorbitán polioxietileno). La suspensión acuosa también puede contener uno o más conservantes como, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más colorantes, uno o más aromatizantes y uno o más edulcorantes como, por ejemplo, sacarosa o sacarina.

**[0053]** Las suspensiones oleosas pueden formularse suspendiendo el principio activo en un aceite vegetal, como, por ejemplo, aceite de arachis, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral, como, por ejemplo, parafina líquida. Las suspensiones orales pueden contener un agente espesante, como, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Pueden añadirse agentes edulcorantes, como, por ejemplo, los mencionados anteriormente, y agentes aromatizantes para proporcionar una preparación oral apetitosa. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante como, por ejemplo, el ácido ascórbico.

**[0054]** Los polvos y gránulos dispersables de la divulgación adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión adecuados son, por ejemplo, los descritos anteriormente. También puede haber excipientes adicionales, como edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

**[0055]** Las composiciones farmacéuticas de la divulgación también pueden presentarse en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, como, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de arachis, un aceite mineral, como, por ejemplo, parafina líquida, o una mezcla de éstos. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen gomas de origen natural, como, por ejemplo, goma acacia y goma tragacanto, fosfátidos de origen natural, como, por ejemplo, lecitina de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, como, por ejemplo, monooleato de sorbitán, y productos de condensación de estos ésteres parciales con óxido de etileno, como, por ejemplo, monooleato de sorbitán polioxietileno. La emulsión también puede contener agentes edulcorantes y aromatizantes. Los jarabes y elixires pueden formularse con agentes edulcorantes como, por ejemplo, glicerol, sorbitol o sacarosa. Dichas formulaciones también pueden contener un demulcente, un conservante, un aromatizante o un colorante.

**[0056]** Las composiciones farmacéuticas de la divulgación pueden presentarse en forma de una preparación inyectable estéril, como, por ejemplo, una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse según la técnica conocida utilizando los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión adecuados que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico aceptable para los padres, como, por ejemplo, una solución en 1,3-butanodiol o preparada como polvo liofilizado. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro sódico. Además, los aceites fijos estériles pueden emplearse convencionalmente como disolvente o medio de suspensión. Para ello puede emplearse cualquier aceite fijo insípido, incluidos los mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos como, por ejemplo, el ácido oleico también pueden utilizarse en la preparación de inyectables.

**[0057]** La cantidad de principio activo que puede combinarse con el material de soporte para producir una única forma de dosificación variará en función del huésped tratado y del modo de administración concreto, como la administración oral o la inyección subcutánea. Por ejemplo, una formulación de liberación prolongada destinada a la administración oral a seres humanos puede contener aproximadamente de 1 a 1000 mg de material activo compuesto con una cantidad adecuada y conveniente de material portador que puede variar de aproximadamente 5 a aproximadamente 95% de las composiciones totales (peso:peso). La composición farmacéutica puede prepararse para proporcionar cantidades fácilmente mensurables para su administración. Por ejemplo, una solución acuosa destinada a infusión intravenosa puede contener de aproximadamente 3 a 500 µg del principio activo por mililitro de solución para que pueda producirse la infusión de un volumen adecuado a una velocidad de aproximadamente 30 mL/hora. Cuando se formula para administración subcutánea, la formulación se administra normalmente unas dos veces al mes durante un periodo de entre dos y cuatro meses.

**[0058]** Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y espesantes.

**[0059]** Las formulaciones pueden presentarse en envases unidos o multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en estado liofilizado (liofilizado) requiriendo únicamente la adición del portador líquido estéril, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones inyectables extemporáneas se preparan a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo descrito anteriormente. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis diaria o una subdosis diaria unitaria, tal como se ha mencionado anteriormente, o una fracción adecuada de la misma, del principio activo.

## EJEMPLOS

## Ejemplo 1. Eficacia en un modelo murino de NASH

5 [0060] El siguiente estudio se realizó para evaluar la eficacia de la combinación de un inhibidor de ACC y un agonista de FXR en un modelo de ratón de esteatohepatitis no alcohólica (NASH), en relación con la eficacia de los agentes individuales solos en el modelo. La NASH se indujo en ratones C57BL/6 macho mediante la administración crónica de una dieta de "comida rápida" (FFD) rica en grasas saturadas, colesterol y azúcares durante un total de 6 meses, mientras que los animales de control magros se mantuvieron con una dieta de pienso normal. Se estableció un fenotipo de NASH en los ratones FFD en comparación con los ratones de control después de 6 meses, y se caracterizó por esteatosis macrovesicular, ALT y AST elevadas, y mayores niveles de transcritos asociados con la activación de las células estrelladas hepáticas. See Charlton M, et al. Ratón de dieta rápida: nuevo modelo animal de NASH con formación de globos, fibrosis progresiva y alta fidelidad fisiológica a la condición humana. Revista Americana de Fisiología. Gastrointestinal and Liver Physiology 2011; 301 (5):G825-34.

15 [0061] Después de 5 meses, los ratones FFD fueron tratados posteriormente con placebo (vehículo), un inhibidor de ACC (Fórmula (I)), un agonista de FXR (Fórmula (III)), o con la combinación de Fórmula (I) y Fórmula (III) durante 1 mes. Los ratones de control siguieron una dieta normal durante los 6 meses que duró el estudio. Los análisis de los criterios de valoración incluyeron la cuantificación bioquímica de los triglicéridos hepáticos, la ALT plasmática y la medición de los transcritos profibróticos Timp1 y Col1A1 en el hígado.

## Métodos

*Animales*

25 [0062] En este estudio se utilizaron ratones machos C57CL/6 (de 12 semanas de edad al inicio del estudio). Todos los procedimientos utilizados para el estudio de los animales se ajustaron a la normativa estadounidense. La Ley de Bienestar Animal del Departamento de Agricultura (9 CFR Partes 1, 2 y 3); la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (Instituto de Investigación sobre Animales de Laboratorio, The National Academies Press, Washington, D.C.); y la Oficina de Bienestar de los Animales de Laboratorio de los Institutos Nacionales de Salud.

*Protocolo experimental en vivo para el modelo de ratón FFD*

35 [0063] El diseño experimental se muestra en la Tabla 1. A los animales del estudio se les administró una dieta estándar (Harlan Teklad Global Diets 2014, TD2014) o una dieta comercial rica en grasas y colesterol (Research Diets Inc, DB12079B) (la FFD). A los animales que recibieron la FFD se les administró fructosa/glucosa en agua de bebida formulada de la siguiente manera: Se mezclaron 23,1 g de fructosa (Sigma, F2543) y 17,2 g de glucosa (Sigma, 49158) en 1000 mL de agua potable.

40 [0064] El compuesto de Fórmula (I) o el compuesto de Fórmula (III) solos, o la combinación de los compuestos de Fórmula (I) y Fórmula (III), se administraron durante el último mes del estudio (mes 5 - mes 6). El compuesto de Fórmula (I) y el compuesto de Fórmula (III) se formularon en 0,5% de carboximetilcelulosa sódica (viscosidad media), 1% p/p de etanol, 98,5% p/p de Tampón Tris 50 mM, pH 8 en agua de ósmosis inversa. El compuesto de Fórmula (I) se formuló a 0,1 o 0,2 mg/mL y se administró en la dosis proporcionada en la Tabla 1, y el compuesto de Fórmula (III) se formuló a 2 mg/mL y se administró en la dosis proporcionada en la Tabla 1.

50 [0065] Siete días antes de la dosis PO, los animales de los grupos 1-6 recibieron una dosis simulada de vehículo BID. La dosificación simulada se diseñó para aclimatar a los animales a la administración de dosis por sonda oral. A partir del Día 1 del estudio, los animales de todos los grupos de dosis se dosificaron tres veces al día; dos veces secuencialmente por la mañana (7:00 +/- 1 hora), y una vez por la tarde (19:00 +/- 1 hora), con el mismo volumen de formulación que no contenía ningún compuesto (grupo 1, vehículo) o los compuestos apropiados como se indica a continuación (Tabla 1) durante 28 días (hasta el Día 29 de dosificación). Cada grupo se dividió en dos y la mitad se sacrificó 2 horas después de la dosis, y la otra mitad se sacrificó 8 horas después de la dosis el día 29.

Tabla 1. Diseño experimental y grupos de dosis

| Grupo | Artículo de prueba                 | Dosis (mg/kg) | Dosis Vol (mL/kg) | Concentración (µg/ml) | Nº de animales | Frecuencia de dosificación (x/día) | Duración de la dosificación (días) | Ruta |
|-------|------------------------------------|---------------|-------------------|-----------------------|----------------|------------------------------------|------------------------------------|------|
| 1     | Vehículo                           | 0             | 5                 | 0                     | 15             | TID                                | 29                                 | PO   |
| 2     | Vehículo                           | 0.5           | 5                 | 0                     | 15             | QD                                 | 29                                 | PO   |
|       | Fórmula (I)                        |               | 5                 | 0.1                   |                | BID                                | 29                                 | PO   |
| 3     | Vehículo                           | 0             | 5                 | 0                     | 15             | BID                                | 29                                 | PO   |
|       | Fórmula (III)                      | 10            | 5                 | 2                     |                | QD                                 |                                    | PO   |
| 4     | Fórmula (I)                        | 0.5           | 5                 | 0.1                   | 16             | BID                                | 29                                 | PO   |
|       | Fórmula (III)                      | 10            | 5                 | 2                     |                | QD                                 |                                    | PO   |
| 5     | Vehículo (coincidente con la edad) | 0             | 5                 | 0                     | 10             | TID                                | 29                                 | PO   |

#### Cuantificación de los triglicéridos del hígado murino

**[0066] Extracción de tejido:** Las muestras de tejido hepático de ratón ( $25 \pm 10$  mg, pesadas con precisión en estado congelado) se homogeneizaron y se extrajeron con una mezcla de disolventes orgánicos inmiscibles en agua que extrae la fracción de triacilglicéridos, así como las fracciones de colesterol libre y esterificado en la fase orgánica. Tras la centrifugación, una alícuota de la capa orgánica superior, que contenía los triacilglicéridos, el colesterol y los ésteres de colesterol, se diluyó 10 veces o 25 veces con etanol. Se tomaron dos alícuotas distintas de esta dilución. Una alícuota se analizó para los triacilglicéridos, la segunda alícuota se utilizó para la determinación del colesterol total.

**[0067] Determinación de triacilglicéridos:** Para la determinación de triacilglicéridos, se evaporó una alícuota de la dilución de 25 veces (o ninguna dilución en el caso de muestras con bajo contenido en triacilglicéridos) bajo una corriente de nitrógeno. El extracto desecado se reconstituyó paso a paso con una solución de dodecil sulfato sódico al 0,1% en PBS bajo ultrasonidos, y a continuación se mezcló con el reactivo de determinación de triacilglicéridos (Infinity™ Triglycerides Liquid Stable Reagent, Thermo Scientific, Product Data Sheet, Infinity™, Triglycerides Liquid Stable Reagent).

**[0068]** Esta solución reactiva contenía varias enzimas, cofactores y el reactivo cromogénico 4-aminoantipirina. La determinación de triacilglicéridos (TAG) con este reactivo se basó en el método de Wako, Product Data Sheet, Triacylglyceride - G Code No. 997-69801, Wako Pure Chemical Industries Ltd., Dallas, TX, y las modificaciones de McGowan et al, (McGowan, MW, et al., Clin. Chem 1983;29:538) and Fossati et al (Fosseti, P. Principle L. Clin Chem. 1892;28:2077-80) como sigue:

1. Los triglicéridos son hidrolizados enzimáticamente por la lipasa a ácidos grasos libres y glicerol.
2. El glicerol es fosforilado por el adenosín trifosfato (ATP) con la glicerol cinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato y adenosín difosfato.
3. El glicerol-3-fosfato es oxidado por la dihidroxiacetona fosfato (DAP) por la glicerol fosfato oxidasa produciendo peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).
4. En una reacción de coloración de tipo Trinder<sup>5</sup> catalizada por la peroxidasa, el  $H_2O_2$  reacciona con 4-aminoantipirina (4-AAP) y 3,5-dicloro-2-hidroxibenceno sulfonato (DHBS) para producir un colorante rojo. La absorbancia de este colorante es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra.

**[0069]** Después de la incubación con el reactivo de determinación de triacilglicéridos durante 30 min a  $37^\circ C$ , las muestras se transfirieron a una placa de microtitulación, y la absorbancia se mide a 540 nm en un lector de microplacas (SpectraMax M2, Molecular Devices). La cuantificación se realizó mediante un análisis de regresión lineal por mínimos cuadrados generado a partir de patrones de calibración fortificados utilizando trioleato de glicerilo (trioleína) como patrón de referencia de triacilglicéridos. Las muestras estándar de calibración se sometieron a los mismos pasos de extracción e incubación que las muestras de tejido. Las correcciones de peso y los cálculos de concentración se realizaron con Microsoft Excel 2013. Los contenidos tisulares finales se expresaron en  $\mu mol$  de triacilglicéridos (TAG) / g de tejido hepático.

#### ALT

**[0070]** Se recogió suero de todos los ratones en la necropsia terminal. La ALT sérica se midió mediante piruvato con piridoxal-5'-fosfato y se analizó en el sistema químico Cobas Hitachi 6000, Roche Diagnostics.

#### Expresión génica

**[0071]** Se envió un trozo de aproximadamente 100 mg de lóbulo lateral izquierdo congelado a DC3 Therapeutics, LLC para su lisis y extracción de ARN. Los ensayos NanoString se llevaron a cabo con todos los reactivos y consumibles contenidos en un kit maestro nCounter (NanoString) de acuerdo con las instrucciones del fabricante para medir los transcritos de ARN. Brevemente, la sonda reportera codificada por colores dirigida a 110 genes relacionados con la fibrosis hepática y 6 genes de control (Tabla 2) se hibridaron durante la noche en un termociclador precalentado a  $65^\circ C$  durante 16 a 22 horas con muestras de 100 ng de ARN en una reacción que incluye un tampón de hibridación y una sonda de

captura. Tras la incubación, las muestras se colocaron en una estación de preparación donde se eliminó el exceso de sondas y los complejos sonda-transcrito se inmovilizaron en un cartucho recubierto de estreptavidina. Por último, se tomaron imágenes de los cartuchos en el analizador digital nCounter (NanoString Technologies, Seattle, WA). Todos los transcritos se normalizaron con respecto a la media geométrica de 6 genes de mantenimiento (B2m, Hprt, Pgk1, Rpl13a, Rpn1 y Sfrs4) con el software nSover 3.0.

Tabla 2: Nanosondas

| Símbolo genético | Nº de acceso | Secuencia objetivo                                                                                           |
|------------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>TIMP1</b>     | NM_011593.2  | AAGCCTCTGTGGATATGCCACAAAGTCCAGAAACCGAAGTGAAGAGTTCTCTATC<br>ACGGGTCGCCCTAAGGAAACGGAATTTGCACATCAGTGGCTGCAGC    |
| <b>COL1A1</b>    | NM_007742.3  | CAATGGGTGAGACGCTGGAAACCCGAGGTATGCTTGATCTGTATCTGCCACAATC<br>GCACGGCTGTGTGCCGATGACGTGCAATGCAATGAAGAATCTGGACTGT |
| <b>B2M</b>       | NM_009735.3  | CATACGCGCTGCAGAGTTAAGCATGCCAGTATGGCCGAGCCCAAGACCGTCTAC<br>TGGGATCGAGACATGTGATCAAGCATCATGATGCTCTGAAGATTCTAT   |
| <b>HPRT</b>      | NM_013556.2  | TGCTGAGGCGCGCGAGGGAGAGCCTTGGGCTTACCTCACTGCTTTCCGAGCG<br>GTAGGACCTCTCTCCGCGGCTTCTCTCTCAGACCGCTTTTTCGCGCA      |
| <b>PGK1</b>      | NM_009828.2  | CCGGCATTCCTGCAAGCTTCAAAAGGCCACGCTCTGCGGCGCTGTTCTCTCTCTC<br>ATCTCGGCGCTTTCGAGCTCACGCTGTTGCTCAAAATCTCTCT       |
| <b>RPL13a</b>    | NM_009438.5  | ATGGGATCCCTCCACGCTATGACAGAGAAAAAGCGGATGGTGGTCCCTGCTGCT<br>CTCAAGGTTGTTTGGGCTGAAGGCTACCAAGAAAGTTTGTCTTACCTGGG |
| <b>RPN1</b>      | NM_133933.3  | GCCAGCTGACAGTGGGATCTGCTCCATTGCTTTTAAAGACCATCTCTCTG<br>CTGCCGCCAGGATGTCTATTACCGGATGAGATTGCTAATGTTTC           |
| <b>SFRS4</b>     | NM_020587.2  | GATGCTCACAAAGGACGCAAAAAACGAGAGTGAATTTGTTGTTTACTCT<br>GATATGAAGAGCTTTTGGAAAACTGGACGGAAGTGAAGTCAAGC            |

### Resultados

[0072] El Ejemplo 1 demuestra que un tratamiento combinado con un inhibidor de ACC y un agonista de FXR resulta en una mayor eficacia que cualquiera de los agentes administrados solos en el modelo de ratón de NASH. En particular, la FIG. 1 muestra una reducción significativa de los triglicéridos hepáticos con la combinación del compuesto de Fórmula (I) y el compuesto de Fórmula (III) en relación con los agentes individuales, FIG. 2 muestra una reducción significativa de la ALT sérica con la combinación del compuesto de Fórmula (I) y el compuesto de Fórmula (III) en relación con los agentes individuales, y la FIG. 3 y FIG. 4 muestran una reducción significativa de la expresión hepática de Col1a1 y Timp1 con la combinación del compuesto de Fórmula (I) y el compuesto de Fórmula (III) en relación con los agentes individuales, respectivamente.

### Ejemplo 2. Eficacia en un modelo de NASH en ratas

[0073] El siguiente estudio se realizó para evaluar la eficacia de la combinación de un inhibidor de ACC y un agonista de FXR en un modelo de roedor de esteatohepatitis no alcohólica (NASH) con fibrosis en relación con la eficacia de los agentes individuales solos en el modelo. En este modelo, se indujo NASH con fibrosis en ratas Wistar macho mediante la administración de una dieta rica en grasas y deficiente en colina (CDHFD).

#### Animales

[0074] Se adquirieron ratas macho Wistar (CrI:Wi(Han)) (de 8-9 semanas de edad a su llegada) de Charles River, Raleigh, NC, y se utilizaron en los estudios actuales. Este estudio cumplió con todas las secciones aplicables de las Reglas Finales de las regulaciones de la Ley de Bienestar Animal (Código de Regulaciones Federales, Título 9), la Política del Servicio de Salud Pública sobre Cuidado y Uso Humanitario de Animales de Laboratorio de la Oficina de Bienestar de Animales de Laboratorio, y la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Consejo Nacional de Investigación.

#### Preparación del vehículo

[0075] El vehículo, w/v 50 mM tampón tris, pH 8 en agua desionizada, se preparó antes de su uso y se almacenó en un frigorífico ajustado para mantener 2-8°C. Para preparar 1 L, se añadieron 800 mL de agua caliente (~80°C) a un recipiente apropiado y se agitó enérgicamente hasta que se formó un vórtice pronunciado. Se añadieron lentamente 5,0 gramos de metilcelulosa sódica a la carboximetilcelulosa sódica al vórtice. Se siguió agitando hasta que se disolvió toda la carboximetilcelulosa y la solución se enfrió a temperatura ambiente. Se añadieron 5,12 g de Tris HCl al recipiente. Se añadieron 2,12 g de Tris base al recipiente. Se añadieron 10 g de etanol al recipiente. Los componentes se agitaron durante aproximadamente 15 minutos, asegurándose de que todos los sólidos se habían disueltos. Se añadió agua QS a 1 L mezclando suavemente.

## Diseño del estudio

[0076] La alimentación fue pro libitum y todos los animales del estudio recibieron una dieta deficiente en colina, alta en grasas y alta en colesterol (CDHFD; Research Diets, A16092003) el Día 1 del estudio, excepto el grupo 1, el grupo de control, que recibió la dieta estándar (5CR4), como se indica en la Tabla 3. El día del sacrificio, se extrajo el hígado, se incrustó en parafina y se recogió y congeló el plasma. Los animales no fueron dosificados el día del sacrificio.

Tabla 3. Diseño experimental y grupos de dosis

| Grupo | Nombre del grupo                                      | n  | Dieta (semanas)       | Tratamiento (PO)          |
|-------|-------------------------------------------------------|----|-----------------------|---------------------------|
| 1     | Control                                               | 10 | Dieta estándar (0-12) | N / A                     |
| 2     | Inicio del tratamiento                                | 10 | CDHFD (0-6)           | N / A                     |
| 3     | Vehículo                                              | 15 | CDHFD (1-12)          | N / A                     |
| 4     | Compuesto de Fórmula (I)                              | 15 | CDHFD (1-12)          | 10 mg/kg una vez al día   |
| 5     | Compuesto de Fórmula (III)                            | 15 | CDHFD (1-12)          | 30 mg/kg una vez al día   |
| 6     | Compuesto de Fórmula (I) + Compuesto de Fórmula (III) | 15 | CDHFD (1-12)          | 10 mg/kg OD + 30 mg/kg OD |

[0077] Los tejidos fueron recogidos por Charles River en Reno, Nevada, procesados e incrustados en parafina en Histotec en Hayward, CA y luego enviados a Gilead Sciences en Foster City. Las muestras se seccionaron a 5 µm y las secciones se montaron en portaobjetos de vidrio para su posterior tinción.

[0078] Tinción con Picrosirius red: Las secciones se pretrataron en ácido fosfomolibdico al 0,2% (EMS, Cat# 26357-01) y posteriormente se incubaron en Sirius Red 88-89-1 al 0,1% (p/v) en solución saturada de ácido pícrico (EMS, Cat#26357-02) durante 1 hora a temperatura ambiente. A continuación se diferenciaron en HCl 0,01N (EMS, Cat#26357) y se deshidrataron en alcoholes graduados.

[0079] Se capturaron imágenes de portaobjetos completos teñidos con Picrosirius Red (PSR) utilizando un escáner Leica AT2 con un aumento de 40X. Se comprobó la calidad del escaneado de las imágenes de diapositivas digitales, se anotaron y se exportaron a las carpetas de red adecuadas dentro del archivo Leica Digital Image Hub. Se realizó un análisis cuantitativo de las imágenes de todo el portaobjetos utilizando el software de análisis de imágenes Visiopharm (Visiopharm, Hoersholm, Dinamarca) para determinar el alcance y la intensidad de la RPS. Se midió la superficie total teñida con PSR y se expresó como porcentaje de la superficie hepática total teñida. Los resultados se muestran en la FIG. 7.

[0080] α-SMA: Las secciones se desparafinaron en 3 cambios de xileno durante 5 minutos cada uno, y posteriormente se rehidrataron en 3 cambios de EtOH al 100%, 1 cambio de EtOH al 95%, 1 cambio de EtOH al 80% durante 3 minutos cada uno; seguidos de 2 enjuagues sucesivos en agua destilada. A continuación, las secciones se incubaron en Peroxidazed 1 (Biocare Medical, Cat# PX968), bloqueador de la peroxidasa endógena, durante 5 minutos y se aclararon con agua destilada. A continuación, se realizó la recuperación de epítomos inducida por calor utilizando Reveal Decloaker (Biocare Medical, Cat# RV1000M) a 95 °C durante 40 minutos con una Cámara de Decloaking NxGen (Biocare Medical, Cat# DC2012), seguida de un enfriamiento gradual con sustitución del tampón de recuperación por agua destilada y colocada en solución salina tamponada con tris (TBS). La inmunohistoquímica se llevó a cabo en portaobjetos preparados utilizando un automantenedor Intellipath (Biocare Medical, Cat# IPS0001) siguiendo los siguientes pasos:

1. Aplicar 300 uL de Background Punisher (Biocare Medical, Cat# IP974G20) a los portaobjetos e incubar durante 10 minutos; a continuación, lavar con TBS.

2. Aplicar 300uL de anticuerpo primario de SMA monoclonal de ratón, clon 1A4, (Biocare Medical, Cat# CM001) diluido 1:50 en diluyente Da Vinci Green (Biocare Medical, Cat# PD900L). Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente, seguido de un lavado con TBS.

3. Aplicar 300uL de Mouse en Polímero HRP de rata (Biocare Medical, Cat# MRT621H) e incubar durante 30 minutos; seguido de un lavado con TBS.

4. Preparar el DSB: 1 gota de Cromógeno DSB/ 1 ml de Tampón de Sustrato (Biocare Medical, Cat# BRI 4014C / BRI 4013 respectivamente). Aplicar 300 uL de Cromógeno Deep Space Black (DSB) durante 5 minutos; seguido de un lavado con agua destilada.

5. Tinción con Nuclear Fast Red (Biocare Medical, Cat# STNFRLT) durante 1 minuto; seguido de un lavado con agua destilada.

[0081] Los portaobjetos se retiraron del instrumento y se deshidrataron mediante una serie de alcoholes de grado histológico graduados hasta xileno y se cubrieron con cubreobjetos.

[0082] Se capturaron imágenes de portaobjetos enteros teñidos con  $\alpha$ -SMA utilizando un escáner Leica AT2 con un aumento de 40X. Se comprobó la calidad del escaneado de las imágenes de diapositivas digitales, se anotaron y se exportaron a las carpetas de red adecuadas dentro del archivo Leica Digital Image Hub. Se realizó un análisis cuantitativo de las imágenes de todo el portaobjetos utilizando el software de análisis de imágenes Visiopharm (Visiopharm, Hoersholm, Dinamarca) para determinar la extensión y la intensidad de la  $\alpha$ -SMA. Se midió el área total teñida con  $\alpha$ -SMA y se expresó como porcentaje del área hepática total teñida.

[0083] ELISA de TIMP-1 en Plasma: Las concentraciones plasmáticas de TIMP-1 se determinaron por duplicado utilizando un kit ELISA específico para TIMP-1 de rata disponible en el mercado (R&D Systems, Minneapolis, MN, Cat # RTM100). El TIMP-1 se analizó en plasma de acuerdo con las especificaciones del fabricante con pequeñas modificaciones. Se añadió tampón RD 1-21 (50  $\mu$ l) a los pocillos de la placa ELISA precubiertos con anti-TIMP-1 de ratón. Antes del ELISA, se realizó una curva estándar de siete puntos de TIMP-1 de rata (TIMP-1 recombinante expresado en NS0: 2400-37,5 pg/mL) y las muestras de plasma se diluyeron 1:20 en tampón RD5-17. Las muestras y los estándares (50  $\mu$ l cada uno) se añadieron por duplicado a los pocillos que contenían RD1-21 y se incubaron (a temperatura ambiente) durante 2 horas en un agitador orbital de placas (300 rpm). Tras la captura del antígeno, las placas se lavaron 5 veces (350  $\mu$ l/pocillo/lavado) con tampón de lavado utilizando un lavador de placas automático. Tras el lavado, se añadió a cada pocillo el conjugado TIMP-1 de rata (100  $\mu$ l) y las placas se incubaron (a temperatura ambiente) durante 2 horas en un agitador orbital de placas (300 rpm). A continuación, se lavaron las placas 5 veces y se añadió solución de sustrato (100  $\mu$ l) a cada pocillo. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos protegidas de la luz. Por último, se añadió solución de parada (100  $\mu$ l) a cada pocillo. La absorbancia de la densidad óptica (O.D.) se determinó inmediatamente a 450 nm en un lector de microplacas SpectraMax 190 (Molecular Devices, Sunnyvale CA). Las O.D. relativas para cada estándar y muestra se corrigieron con respecto a las muestras en blanco, y las curvas estándar para la conversión de O.D. a concentración de TIMP-1 se generaron utilizando un método de ajuste de curvas de 4 parámetros. Las concentraciones de TIMP-1 de muestras desconocidas se determinaron mediante el software SoftMax Pro5 utilizando un factor de dilución de 20. Los resultados se muestran en la FIG. 7.

[0084] PIIINP en Plasma: Las concentraciones plasmáticas de PIIINP se determinaron por duplicado utilizando un kit ELISA comercial de péptido N-terminal de procógeno III de rata (PIIINP) (Biomatik, Wilmington, DE, Cat# EKV06788). La PIIINP se analizó en plasma diluido 50 veces en PBS según las especificaciones del fabricante con pequeñas modificaciones. Se prepararon 7 estándares (2.000 pg/mL, 1.000 pg/mL, 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 62,5 pg/mL, 31,2 pg/mL) a partir de una madre estándar que se reconstituyó en Diluyente Estándar. Se añadieron 100  $\mu$ l de cada uno de los estándares, el blanco y las muestras en los pocillos correspondientes. Se cubrió la placa con el sellador de placas y se incubó durante 1 hora a 37°C. Tras eliminar el líquido de cada pocillo, se añadieron 100  $\mu$ l de solución de trabajo del reactivo de detección A a cada pocillo y se cubrieron con el sellador de placas, incubándose a continuación durante 1 hora a 37°C. Los pocillos se lavaron con 350  $\mu$ l de 1 $\times$  Lavado y se dejaron reposar durante 1~2 minutos 3 veces. Tras el último lavado, se eliminó cualquier resto de tampón de lavado decantándolo y secándolo contra papel absorbente. A continuación, se añadieron 100  $\mu$ l de solución de trabajo del reactivo de detección B a cada pocillo, se cubrió la placa con el sellador de placas y se incubó durante 30 minutos a 37°C. El proceso de aspiración/lavado se repitió un total de 5 veces. Se añadieron 90  $\mu$ l de solución de sustrato a cada pocillo, se cubrió la placa con un nuevo sellador de placas y se incubó durante 10 - 20 minutos a 37°C protegiéndola de la luz. El líquido se volvió azul al añadir la solución de sustrato. Por último, se añadieron 50  $\mu$ l de solución de parada a cada pocillo. A continuación, el líquido se volvió amarillo. Mezcle el líquido golpeando suavemente el lateral de la placa. La absorbancia de la densidad óptica (O.D.) se determinó inmediatamente a 450 nm en un lector de microplacas SpectraMax 190 (Molecular Devices, Sunnyvale CA). Las O.D. relativas de cada estándar y muestra se corrigieron con respecto a las muestras en blanco y se generaron curvas estándar para la conversión de O.D. en concentración de PIIINP utilizando un método de ajuste de curvas de 4 parámetros. Las concentraciones de PIIINP de muestras desconocidas se determinaron mediante el software SoftMax Pro5 utilizando un factor de dilución de 50. Los resultados se muestran en la FIG. 9.

[0085] Ensayo de ácido hialurónico (HA) en plasma: Las concentraciones plasmáticas de HA se determinaron por duplicado utilizando un kit de prueba de HA disponible en el mercado (Corgenix, Inc., Broomfield, CO, Cat# 029-001). El HA se analizó en plasma siguiendo las especificaciones del fabricante con pequeñas modificaciones. Antes del ensayo, se generó una curva estándar de siete puntos de solución de referencia de HA (800-12,5 ng/mL) y cada muestra de referencia y de plasma se diluyó 1 parte en 10 partes de tampón de reacción (30  $\mu$ l de referencia/muestra en 300  $\mu$ l de tampón de reacción). Las muestras y los estándares (100  $\mu$ l) se añadieron por duplicado a los pocillos de la microplaca precubiertos con proteína de unión a HA (HABP) y se incubaron (a temperatura ambiente) durante 60 minutos en un agitador orbital de placas (300 rpm). Tras la captura del antígeno, las placas se lavaron 4 veces (350  $\mu$ l/pocillo/lavado) con PBS utilizando un lavador de placas automático. Tras el lavado, se añadió a cada pocillo HABP conjugado con HRP (100  $\mu$ l) y las placas se incubaron (a temperatura ambiente) durante 30 minutos en un agitador orbital de placas (300 rpm). A continuación, se lavaron las placas 4 veces y se añadió a cada pocillo la solución de sustrato de un componente (100  $\mu$ l). Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos protegidas de la luz. Por último, se añadió solución de parada (100  $\mu$ l) a cada pocillo. La absorbancia de la densidad óptica (O.D.) se determinó inmediatamente a 450 nm en un lector de microplacas SpectraMax 190 (Molecular Devices, Sunnyvale CA). La densidad óptica relativa de cada estándar y muestra se corrigió con respecto a las muestras en blanco y se generaron curvas estándar para la conversión de O.D. en concentración de AH utilizando un método de ajuste de curvas de 4 parámetros. Las concentraciones de HA de muestras desconocidas sin diluir se determinaron utilizando el software SoftMax Pro5. Los

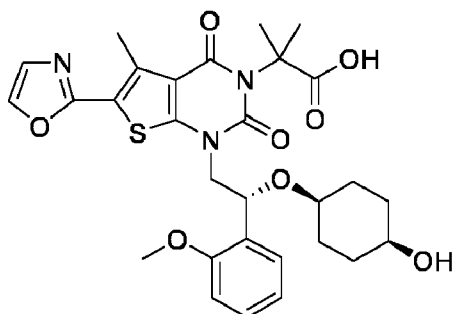
resultados se muestran en la FIG. 8.

#### *Resultados*

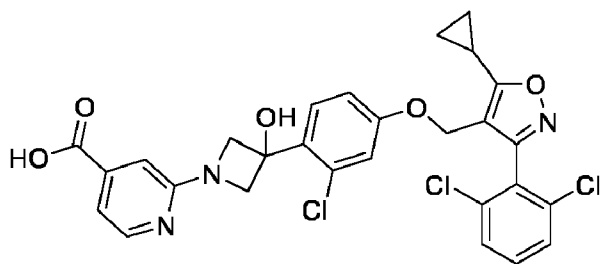
- 5 **[0086]** El Ejemplo 2 demuestra que un tratamiento combinado con un inhibidor de ACC y un agonista de FXR resulta en una mayor eficacia que cualquiera de los agentes administrados solos en el modelo de rata de NASH. En particular, la FIG. 5-9 muestra una reducción significativa de los marcadores de fibrosis, incluido el porcentaje de área positiva al picosirio, el porcentaje de área positiva al  $\alpha$ -SMA y tres marcadores plasmáticos asociados con la fibrosis, TIMP1, HA y PIIINP con la combinación del compuesto de Fórmula (I) y el compuesto de Fórmula (III) en relación con el vehículo. FIG.
- 10 6 y FIG. 9 muestran una reducción significativa  $\alpha$ -SMA y PIIINP con la combinación del compuesto de Fórmula (I) y el compuesto de Fórmula (III) en relación con los agentes individuales, respectivamente.

REIVINDICACIONES

1. Un inhibidor de la ACC para su uso en combinación con un agonista del FXR para tratar y/o prevenir la cirrosis biliar primaria (PBC) o la colangitis esclerosante primaria (PSC), en el que el inhibidor de la ACC es un compuesto de Fórmula (I):

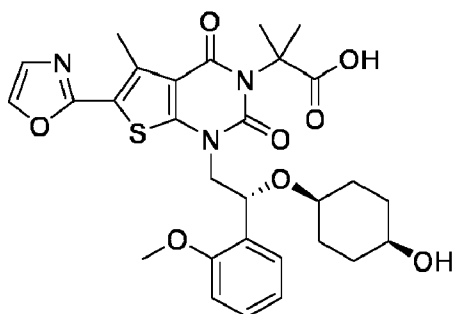


- 20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
y el agonista del FXR es un compuesto de Fórmula (III):

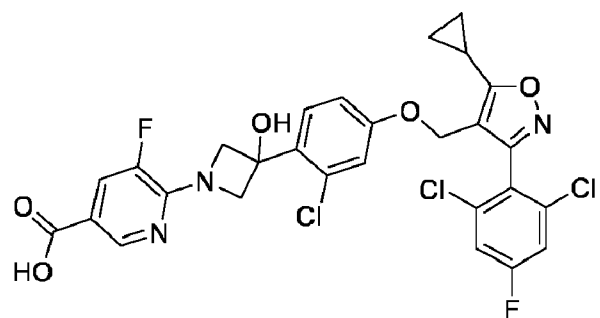


- 35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un inhibidor de la ACC para su uso en combinación con un agonista del FXR para tratar y/o prevenir la cirrosis biliar primaria (PBC) o la colangitis esclerosante primaria (PSC), en el que el inhibidor de la ACC es un compuesto de Fórmula (I):

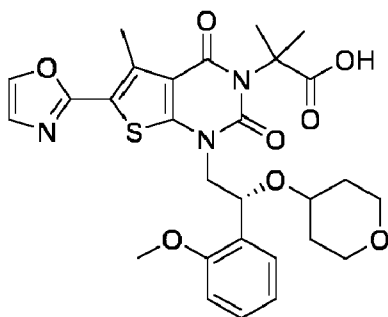


- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
y el agonista del FXR es un compuesto de Fórmula (IV):

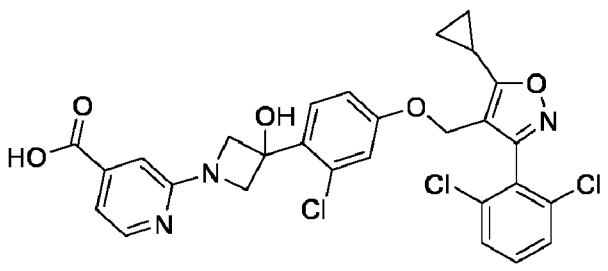


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Un inhibidor de la ACC para su uso en combinación con un agonista de FXR para tratar y/o prevenir la cirrosis biliar primaria (PBC) o la colangitis esclerosante primaria (PSC), en el que el inhibidor de la ACC es un compuesto de Fórmula (II):

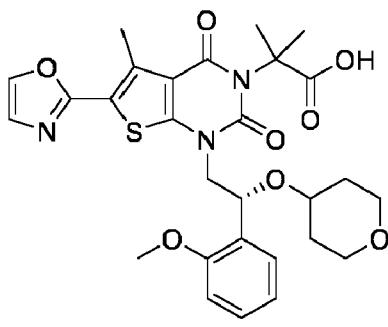


- 20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
y el agonista del FXR es un compuesto de Fórmula (III):

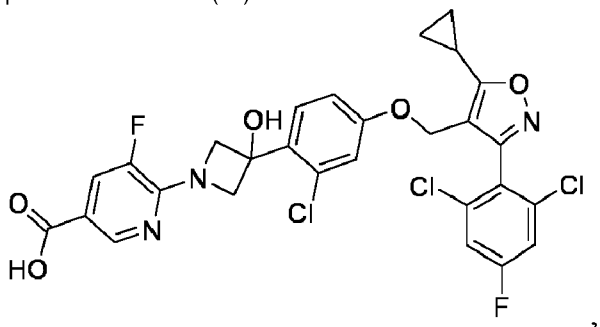


- 35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Un inhibidor de la ACC para su uso en combinación con un agonista de FXR para tratar y/o prevenir la cirrosis biliar primaria (PBC) o la colangitis esclerosante primaria (PSC), en el que el inhibidor de la ACC es un compuesto de Fórmula (II):

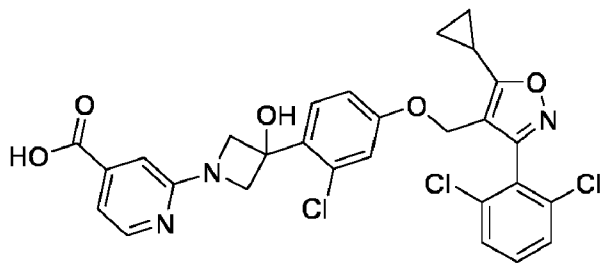


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
y el agonista del FXR es un compuesto de Fórmula (IV):

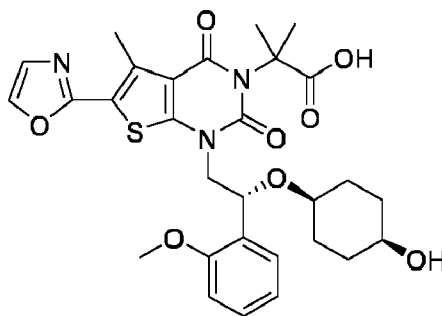


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. Un agonista de FXR para su uso en combinación con un inhibidor de ACC para tratar y/o prevenir la cirrosis biliar primaria (PBC) o la colangitis esclerosante primaria (PSC), en el que el agonista de FXR es un compuesto de Fórmula (III):

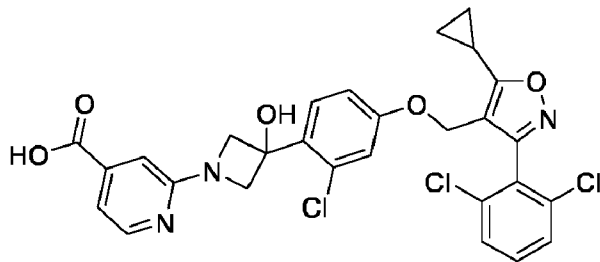


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
y el inhibidor de la ACC es un compuesto de Fórmula (I):

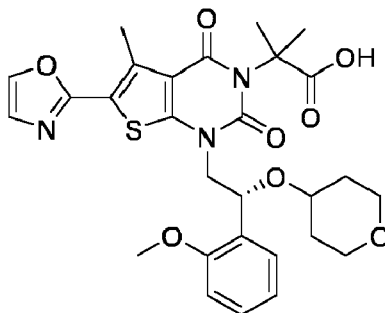


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. Un agonista de FXR para su uso en combinación con un inhibidor de ACC para tratar y/o prevenir la cirrosis biliar primaria (PBC) o la colangitis esclerosante primaria (PSC), en el que el agonista de FXR es un compuesto de Fórmula (III):

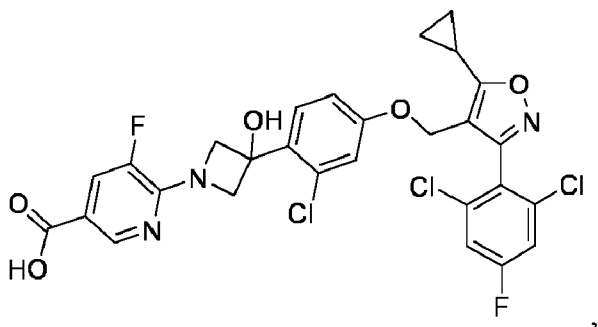


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
y el inhibidor de la ACC es un compuesto de fórmula (II):

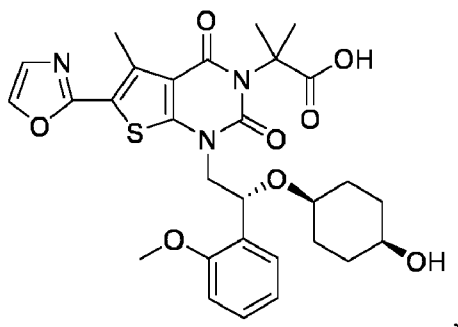


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. Un agonista de FXR para su uso en combinación con un inhibidor de ACC para tratar y/o prevenir la cirrosis biliar primaria (PBC) o la colangitis esclerosante primaria (PSC), en el que el agonista de FXR es un compuesto de Fórmula (IV):

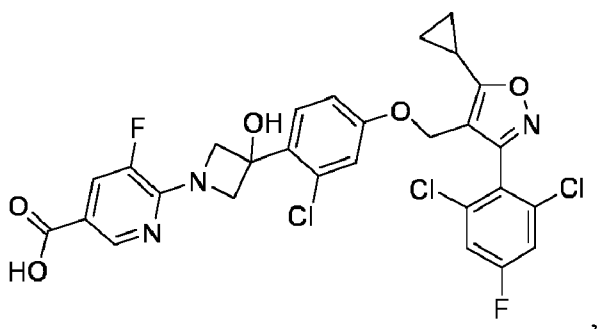


20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
y el inhibidor de la ACC es un compuesto de fórmula (I):

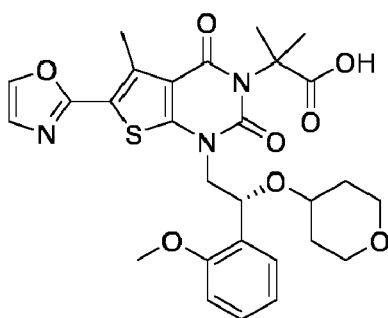


35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. Un agonista de FXR para su uso en combinación con un inhibidor de ACC para tratar y/o prevenir la cirrosis biliar primaria (PBC) o la colangitis esclerosante primaria (PSC), en el que el agonista de FXR es un compuesto de Fórmula (IV):



55 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
y el inhibidor de la ACC es un compuesto de fórmula (II):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15

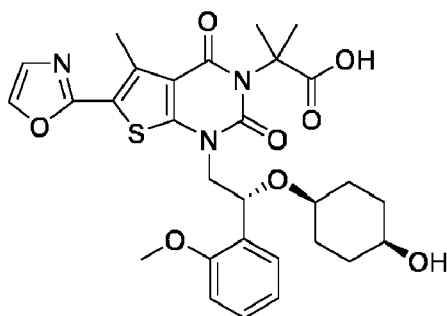
9. El compuesto para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que el inhibidor de ACC y el agonista de FXR se administran juntos.

10. El compuesto para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que el inhibidor de ACC y el agonista de FXR se administran por separado.

20

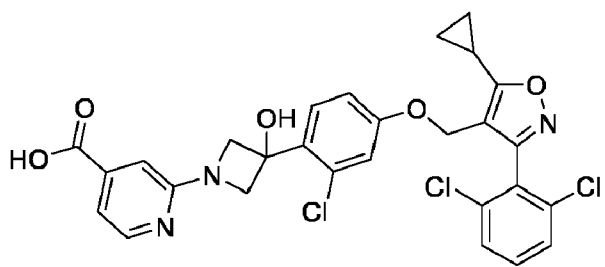
11. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento y/o prevención de la cirrosis biliar primaria (PBC) o la colangitis esclerosante primaria (PSC), que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la ACC, una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista del FXR y un portador farmacéuticamente aceptable; en la que el inhibidor de la ACC es un compuesto de Fórmula (I):

25



40

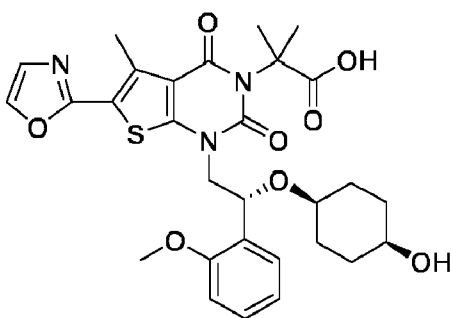
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
y el agonista del FXR es un compuesto de Fórmula (III):



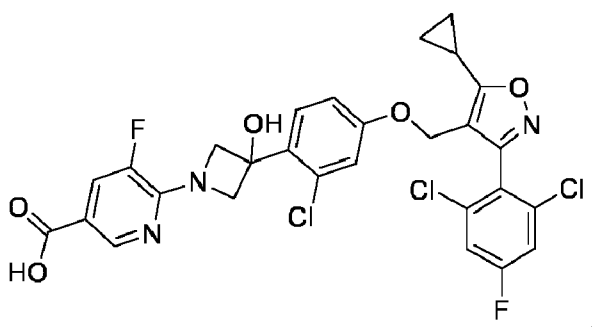
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

55

12. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento y/o prevención de la cirrosis biliar primaria (PBC) o la colangitis esclerosante primaria (PSC), que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la ACC, una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista del FXR y un portador farmacéuticamente aceptable; en la que el inhibidor de la ACC es un compuesto de Fórmula (I):

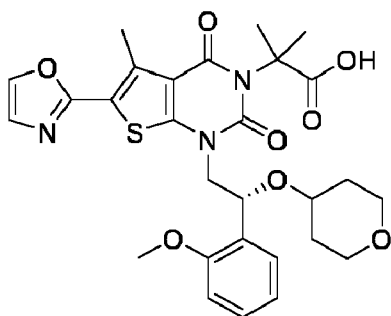


15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
y el agonista del FXR es un compuesto de Fórmula (IV):

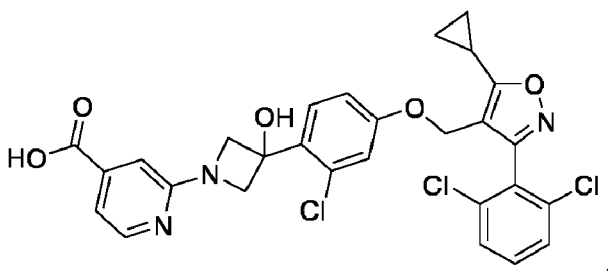


30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

13. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento y/o prevención de la cirrosis biliar primaria (PBC) o la colangitis esclerosante primaria (PSC), que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la ACC, una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista del FXR, y un soporte farmacéuticamente aceptable; en el que el inhibidor de la ACC es un compuesto de Fórmula (II):



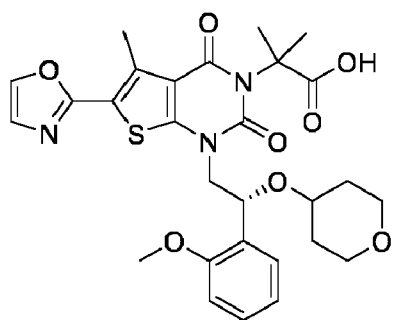
50 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
y el agonista del FXR es un compuesto de Fórmula (III):



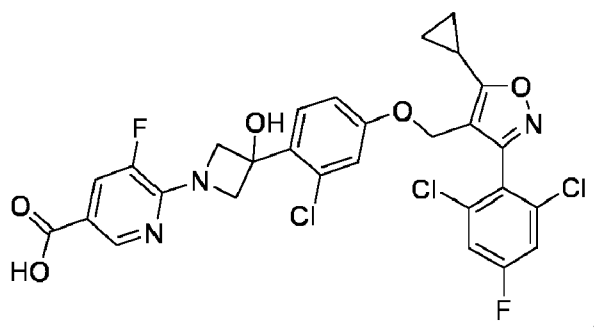
65 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

14. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento y/o prevención de la cirrosis biliar primaria (PBC) o la

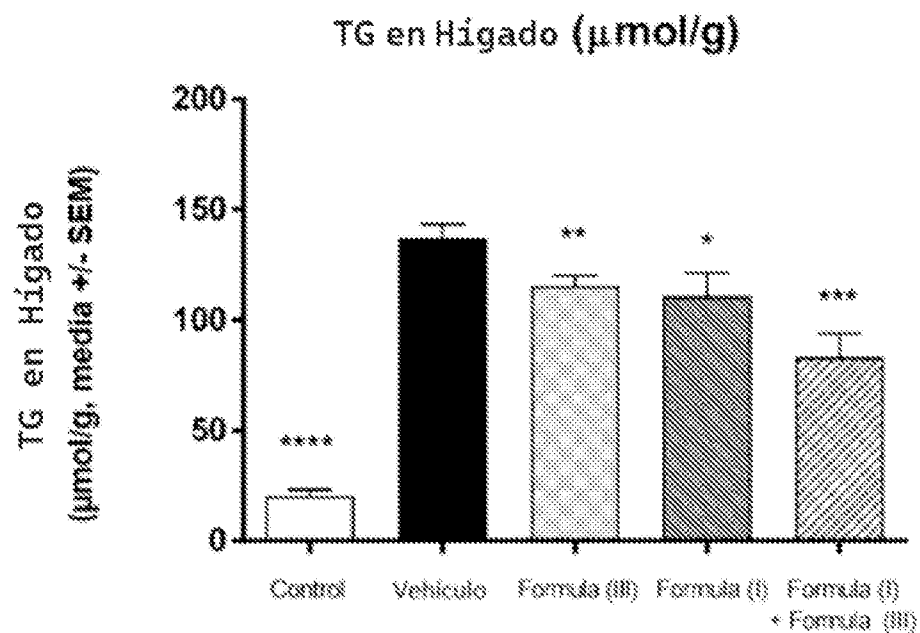
colangitis esclerosante primaria (PSC), que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de la ACC, una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista del FXR, y un soporte farmacéuticamente aceptable; en el que el inhibidor de la ACC es un compuesto de Fórmula (II):



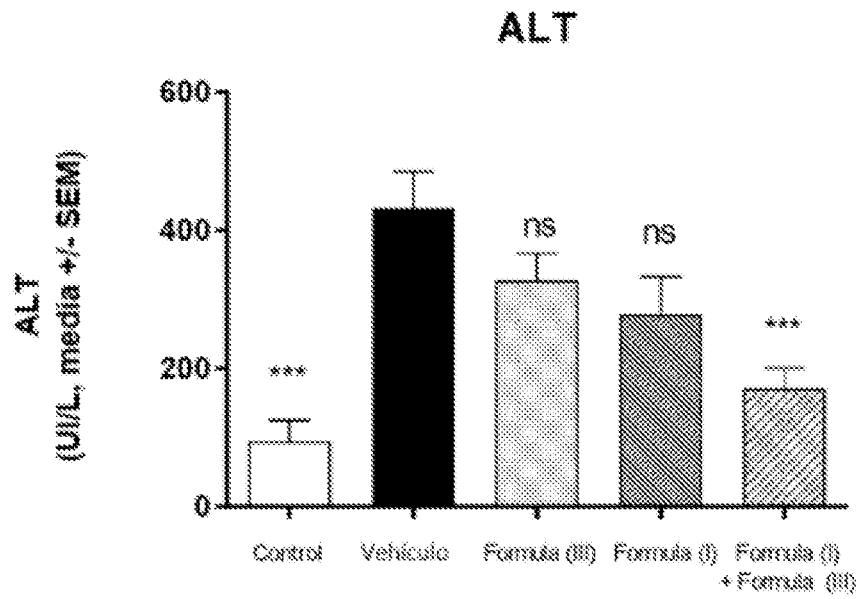
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
y el agonista del FXR es un compuesto de Fórmula (IV):



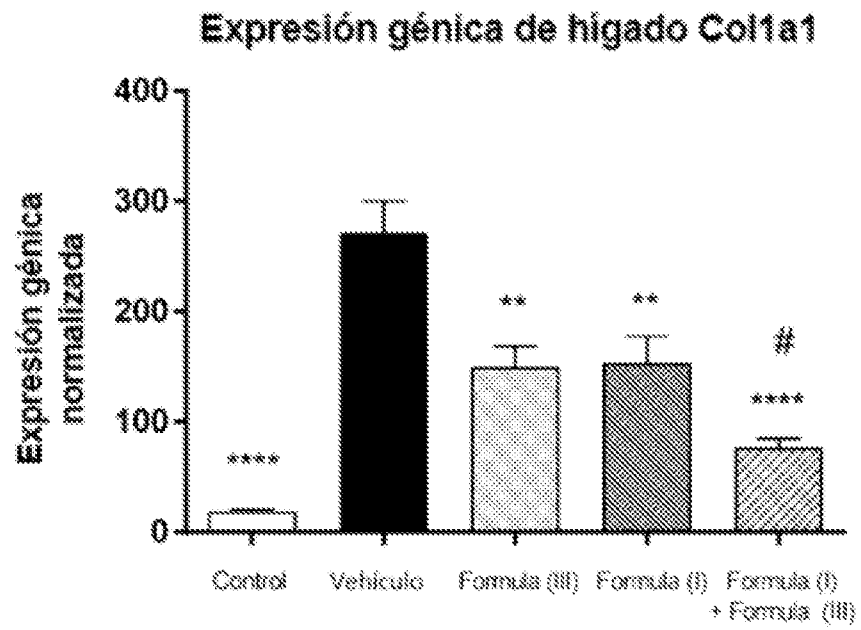
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



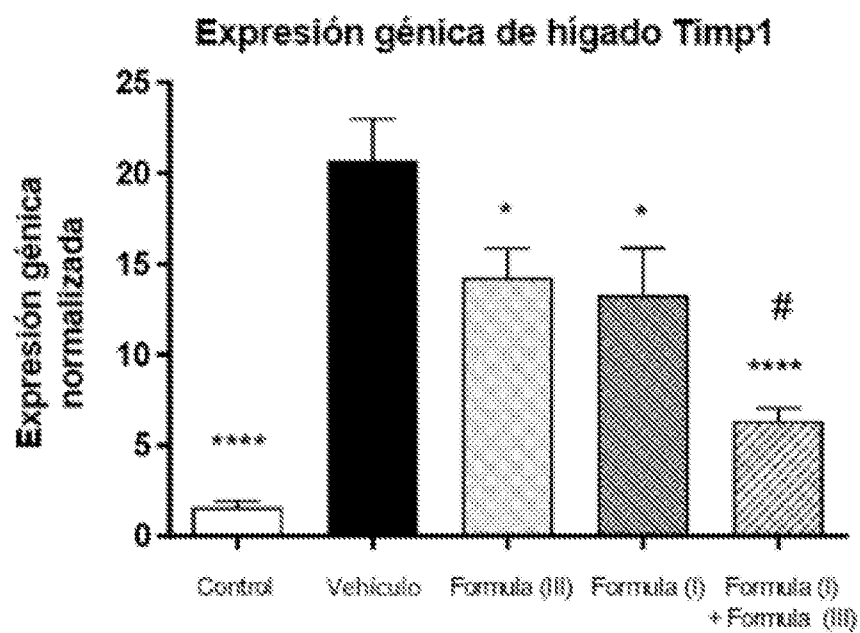
**FIG. 1**



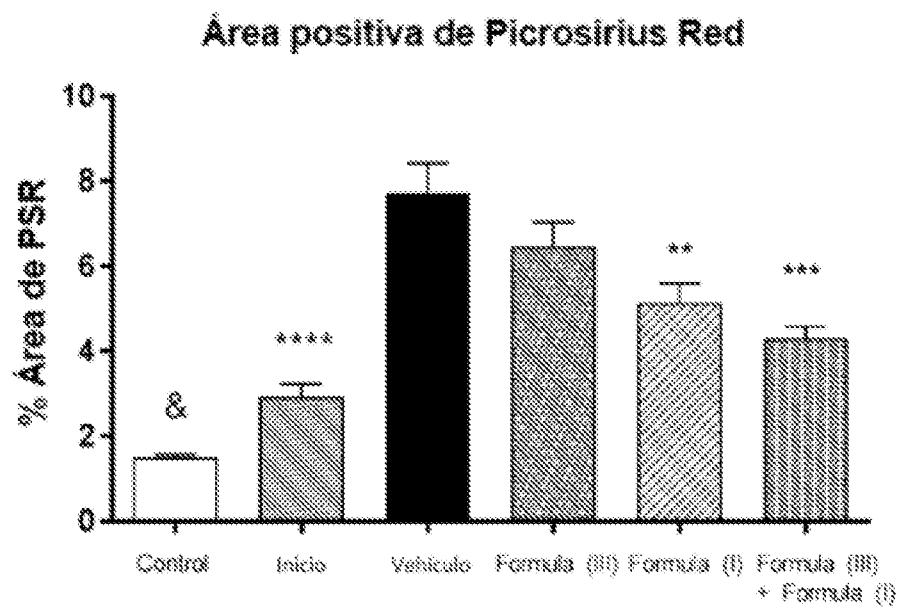
**FIG. 2**



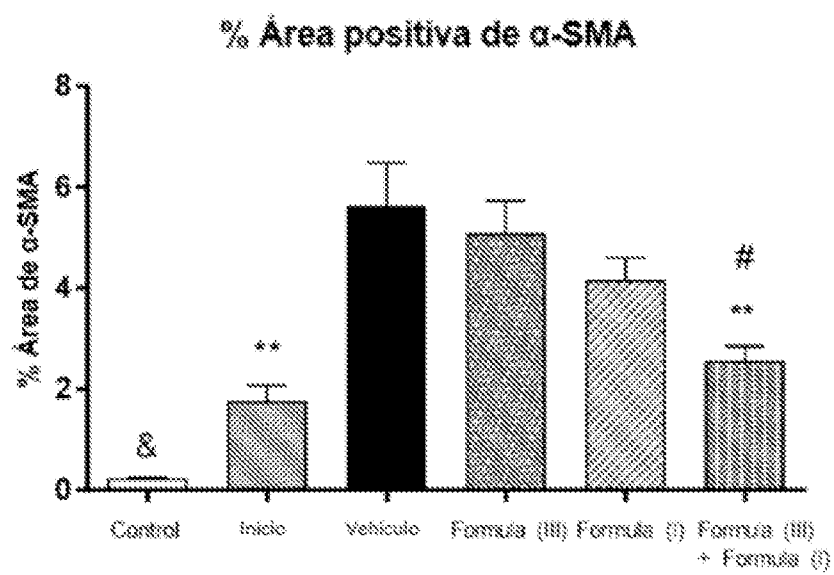
**FIG. 3**



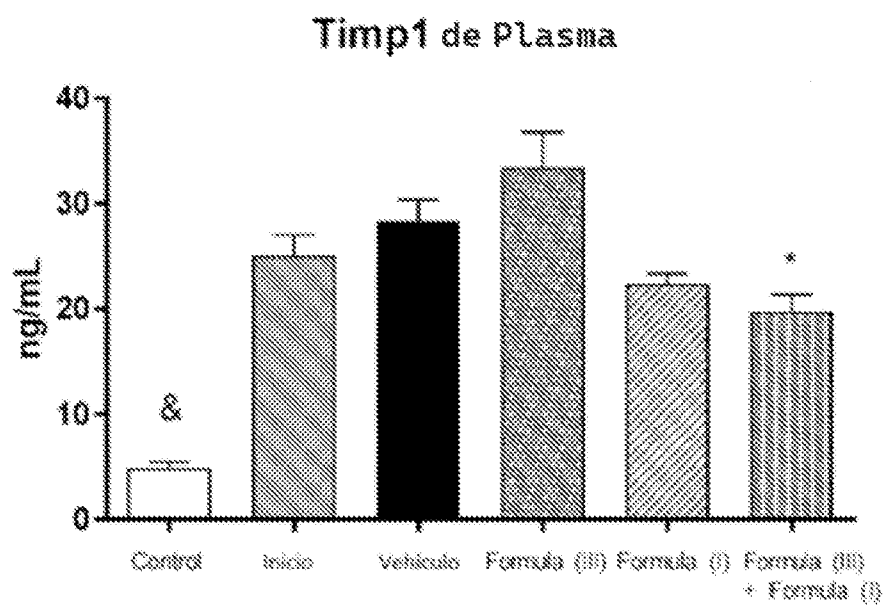
**FIG. 4**



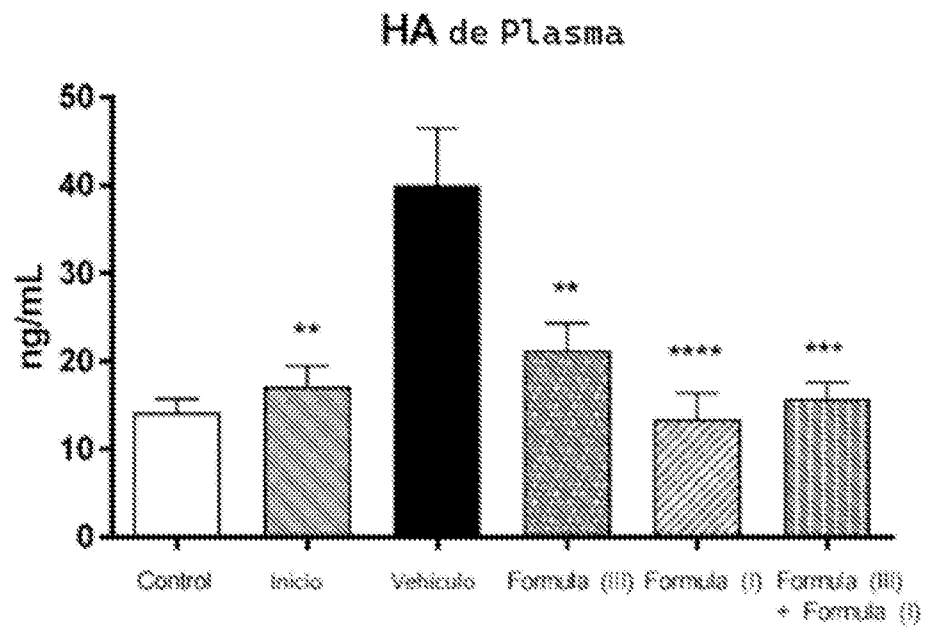
**FIG. 5**



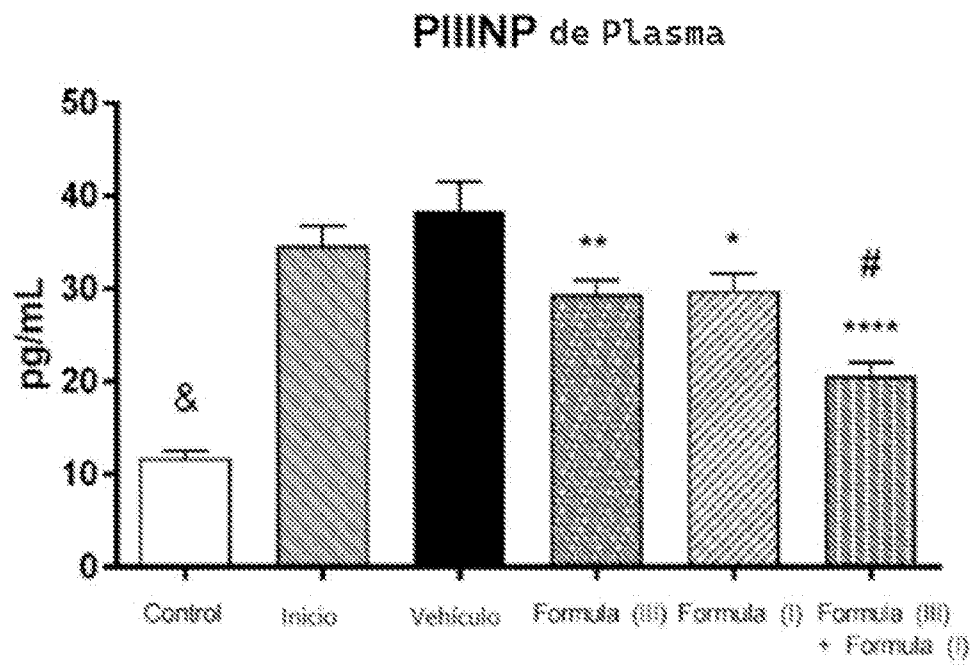
**FIG. 6**



**FIG. 7**



**FIG. 8**



**FIG. 9**