

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 861 593**

21 Número de solicitud: 202030273

51 Int. Cl.:

A61K 36/28 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

03.04.2020

43 Fecha de publicación de la solicitud:

06.10.2021

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

28.04.2023

Fecha de concesión:

12.05.2023

45 Fecha de publicación de la concesión:

22.05.2023

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE VALLADOLID (100.0%)
CTT-OTRI-CASA DEL ESTUDIANTE
C/ REAL DE BURGOS, S/N
47001 VALLADOLID (Valladolid) ES**

72 Inventor/es:

**MARTIN GIL, Jesus;
ANDRÉS JUAN, Celia;
BUZÓN DURÁN, Laura;
PÉREZ LEBEÑA, Eduardo y
MARTÍN RAMOS, Pablo**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

54 Título: **COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA QUE COMPRENDE UNA DISOLUCIÓN DE SILIMARINA EN UN SOLVENTE EUTÉCTICO PROFUNDO DE ORIGEN NATURAL, MÉTODOS DE OBTENCIÓN Y USO EN MEDICINA**

57 Resumen:

Composición farmacéutica que comprende una disolución de silimarina en un solvente eutéctico profundo de origen natural, métodos de obtención y uso en medicina.

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que consiste en una disolución de extracto de cardo mariano (silimarina) en un solvente eutéctico profundo de origen natural (NADES), que también es objeto de protección, y un método de obtención que comprende: preparar el NADES mezclando glicerol, previamente calentado a una temperatura inferior a 65°C, con una determinada cantidad de agua y arginina, en agitación; dispersar la silimarina en el NADES en una proporción de 1:10-1:25 en peso; y agitar dicha mezcla en continuo, hasta conseguir la formación de complejos macromoleculares mediante interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre el NADES (formados a su vez entre enlaces de los grupos hidroxilo de la glicerina, el agua y los grupos carboxilo y guanidino de la arginina) con los grupos hidroxilo fenólicos de la silimarina. Se contempla también el uso de la composición en medicina, concretamente su uso para el tratamiento de diabetes.

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.

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

ES 2 861 593 B2

DESCRIPCIÓN**COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA QUE COMPRENDE UNA DISOLUCIÓN DE SILIMARINA EN UN SOLVENTE EUTÉCTICO PROFUNDO DE ORIGEN NATURAL, MÉTODOS DE OBTENCIÓN Y USO EN MEDICINA**

5

Sector técnico de la invención

La invención se encuadra en el ámbito de la Química Orgánica y tiene su aplicación fundamental en el sector farmacéutico. Trata específicamente de un solvente eutéctico profundo de origen natural (NADES, *natural deep eutectic solvent*) y de la disolución de extracto de cardo mariano procedente de la planta conocida como *Silybum marianum* en dicho NADES u otros similares constituidos principalmente por glicerol, formando así una composición farmacéutica ingerible tal como se obtiene y presenta. La síntesis de dicha disolución tiene lugar en un método en continuo, que incluye preparar el NADES mezclando glicerol calentado a una temperatura inferior a 65°C con una cierta cantidad de agua y arginina, en agitación. Una vez obtenido el NADES, se procede a mezclarlo de forma progresiva y continua con el extracto de cardo mariano, agitando el complejo hasta conseguir la completa disolución de dicho extracto en el NADES. Este método permite que la solución obtenible sea completamente soluble en agua y, por consiguiente, se garantiza su biodisponibilidad y absorción en el interior de los organismos.

Antecedentes de la invención

La Química Orgánica es un área de la Ciencia de notable amplitud y en continuo progreso tecnológico, que se aplica a diversos sectores de la economía, como las industrias farmacéutica, alimentaria, agrícola y cosmética, entre muchas otras.

Una de estas áreas esenciales es la farmacéutica, en continua evolución para hacer frente a nuevas enfermedades e infecciones por virus y bacterias, pero en la cual también se mantienen vigentes antiguos desafíos sin resolver, como es el caso de la diabetes, que se convierte en una enfermedad crónica para el paciente. De forma general, la regla básica para que un compuesto bioactivo pueda tener un potencial uso beneficioso para la salud es que sea soluble en agua, de tal forma que, tras su ingestión, pueda acabar por introducirse en el flujo sanguíneo, lo que garantiza que acabe llegando al órgano que se pretende tratar.

En efecto, la biodisponibilidad es esencial para garantizar que el compuesto activo a suministrar tenga un aprovechamiento por parte del organismo y sea útil para el fin que se pretende. Lamentablemente, la administración de muchos compuestos a menudo sufre de problemas de solubilidad y, como consecuencia, su biodisponibilidad es nula o muy reducida. Por tanto, uno de los desafíos de la Química Orgánica actual es el desarrollo de nuevas técnicas de solubilización o vehiculación de estos compuestos activos aplicables al sector farmacéutico, a efectos de la mejora de la biodisponibilidad.

Entre estas técnicas puede destacarse la solicitud de patente española P202030007, de los mismos inventores que la presente innovación tecnológica, donde se analiza la solubilización de diferentes compuestos activos aplicables al campo nutraceútico, en concreto polifenoles. Dicho complejo se forma por sonicación, en un método en batch mediante la aplicación de ultrasonidos durante un tiempo mínimo de al menos 10 minutos. Actualmente, estos mismos autores han perfeccionado lo que ahora se presenta en este documento: un método basado en el desarrollo de nuevos NADES de origen natural no descritos hasta el momento. Estos complejos tienen como acción fundamental permitir la solubilización completa de los compuestos bioactivos, como son los extractos naturales, y evitar la degradación de la estructura molecular de los compuestos que forman parte de la silimarina.

Otras técnicas para mejorar la biodisponibilidad de compuestos hidrófobos o parcialmente insolubles en agua son el uso de polihidroxi alcoholes como agente vehiculizante de dichas sustancias, uso analizado en varias publicaciones: Shehata, Emad & Grigorakis, Spyros & Loupassaki, Sofia & Makris, Dimitris (2015): *Extraction optimisation using water/glycerol for the efficient recovery of polyphenolic antioxidants from two Artemisia species*; Separation and Purification Technology, 149(10); y Corneliu Tanase et al (2019): *A Critical Review of Phenolic Compounds Extracted from the Bark of Woody Vascular Plants and Their Potential Biological Activity*, Molecules, 24: 1182.

La solicitud JP2016145207 A revela que la decoloración de un polifenol suele ocurrir durante la preparación de las composiciones que lo comprenden como agente activo, y este problema puede evitarse con un compuesto con dos o más grupos hidroxilo

alcohólicos, y además un agente reductor orgánico. Sin embargo, en estas técnicas de estabilización de polifenoles se usa un disolvente aceitoso, un triglicérido de ácido graso. Desde el punto de vista de compatibilidad, seguridad y estabilidad del almacenamiento, ha sido históricamente difícil usar esta solución a nivel industrial.

5

En la solicitud de patente EP2646041 A se describe un método para extraer propóleo (producto característico por la presencia de polifenoles), caracterizado porque comprende la formación de complejos de los componentes extraíbles con la hidroxipropil- β -ciclodextrina como agente de inclusión durante la extracción. Tras definir el tamaño de partícula del propóleo con un dispositivo mecánico, en la segunda etapa se dispersan dichas partículas en una mezcla de agua/glicerol, en cuya fase acuosa se ha disuelto previamente la hidroxipropil- β -ciclodextrina. La mezcla de agua y glicerol se realiza para disminuir la viscosidad del medio, debida al glicerol, pero la adición de la ciclodextrinas dificulta posteriormente la liberación y biodisponibilización de los polifenoles contenidos en el propóleo.

15

Por otro lado, la solicitud de patente internacional WO2008096343 A1 describe varios métodos de preparación de una composición farmacéutica líquida (alcohólica) a base de cúrcuma o curcumina y un alcohol, preferiblemente etanol, como compuesto extractivo, que puede ser disuelta en agua para ingerirse, siendo su objetivo el tratamiento médico. El método describe la extracción mediante calentamiento de los componentes turméricos y de la curcumina, y combinarlos para formar la composición etanólica. Al usar el etanol, el calentamiento debe ser considerablemente alto (llegando en la práctica a su temperatura de ebullición, 78°C) y, si se añade glicerina como solvente para sustituir parte del etanol, la mezcla se calienta hasta cerca de los 100°C. Por tanto, estas composiciones pueden contener también glicerina, pero sin prescindir del etanol como componente esencial, ya que la glicerina apenas se emplea para sustituir una parte del etanol. La temperatura requerida es demasiado elevada para conservar las propiedades químicas y organolépticas del componente activo (en este caso, la curcumina), lo que afecta a su funcionalidad y a los resultados beneficiosos esperados tras su ingesta. Se ha verificado que la disolución realizada a elevadas temperaturas, similares a las indicadas en esta solicitud de patente internacional citada, produce una degradación en la estructura química del polifenol, lo que implica la pérdida de sus propiedades bioquímicas y, como consecuencia, de su funcionalidad.

35

La solicitud de patente internacional WO2015094479 A se refiere a una composición para el cuidado bucal, que comprende rutina como agente activo y un solvente que puede ser propilenglicol, glicerina o una mezcla de ambos (aunque en realidad únicamente se emplea propilenglicol con glicerina o sorbitol, nunca glicerina sola), por lo tanto una mezcla de compuestos con los que se pretende incrementar la solubilidad del agente activo. La composición de este colutorio bucal puede prepararse simplemente premezclando ambos compuestos mencionados para después combinar la mezcla con el resto de ingredientes de la composición final. Por otra parte, el texto no define las condiciones en las que se realiza el proceso, como son la temperatura y las cantidades a solubilizar, que determinan el éxito o fracaso del mismo ya que de forma general este no se consigue en cualquier condición.

Por otro lado, en las últimas dos décadas ha habido un creciente interés en el desarrollo de aplicaciones de líquidos iónicos (IL's, disolventes constituidos exclusivamente de iones), especialmente en el campo de los catalizadores, procesos de electroquímica, tecnología y análisis, biotecnología y líquidos funcionales. Principalmente, la síntesis de IL's se puede dividir en dos categorías distintas, a saber, las que son formadas a partir de mezclas eutécticas de haluros metálicos y sales orgánicas, y aquellos que contienen aniones discretos. Debido a la creciente necesidad de nuevos solventes orgánicos y el alto costo de los IL's, los investigadores han centrado su interés en los solventes eutécticos profundos (DES, siglas en inglés), presentados por Abbot et al. en 2003, *Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures*.

Básicamente, los DES son mezclas de dos o más compuestos que finalmente tienen un punto de fusión inferior al de los compuestos individuales. Básicamente, los DES se preparan mezclando una sal y un donante de enlaces de hidrógeno (HBD, siglas en inglés), enlazando el hidrógeno con el anión de la sal. Los DES pueden formarse entre diferentes tipos de sales (orgánicas e inorgánicas) y diferentes tipos de HBD. Los DES tienen muchas ventajas sobre los IL's convencionales, incluyendo la simplicidad de la síntesis, menor costo de producción, perfiles de toxicidad bajos o insignificantes y sostenibilidad con respecto a los beneficios ambientales y económicos. Recientemente, se ha informado sobre el uso de DES en muchas aplicaciones, tales como el uso de catalizadores para producción de biodiésel a partir de aceite de palma

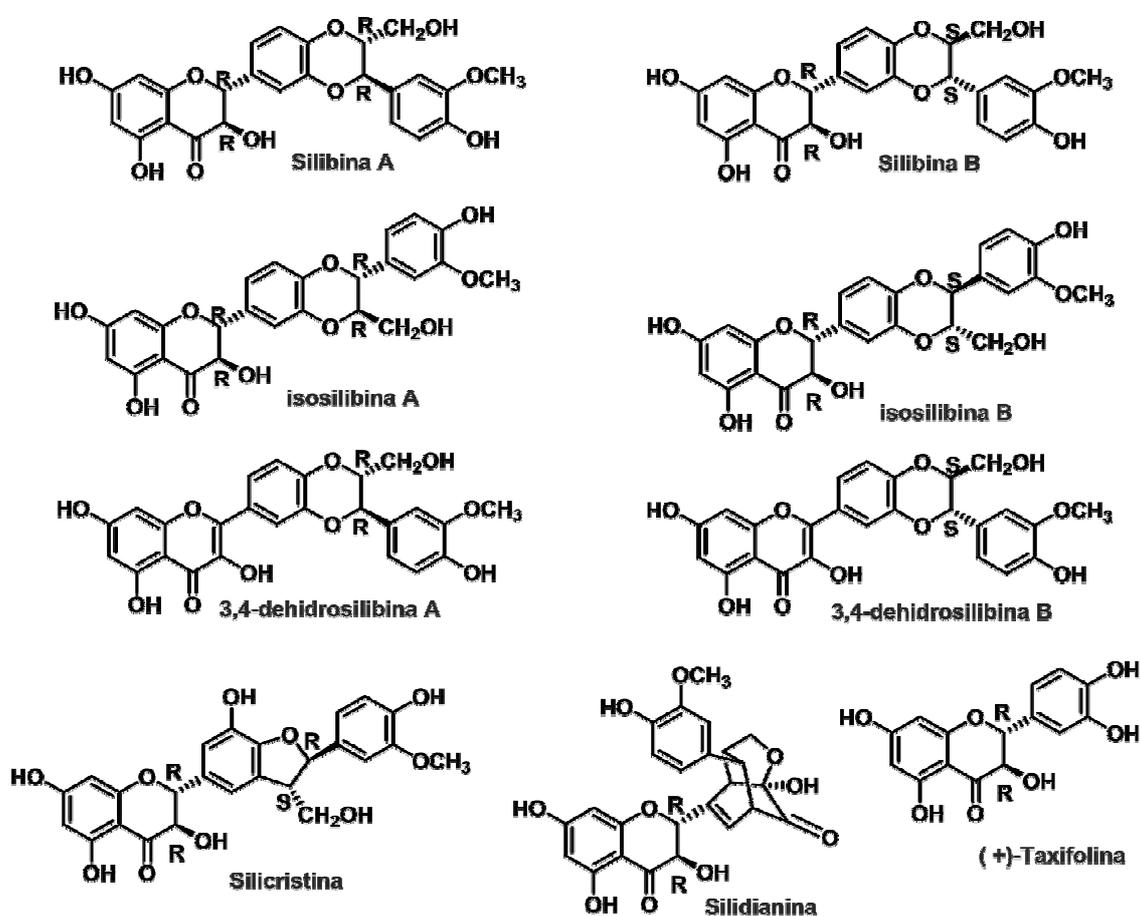
de baja calidad, electrolitos en procesos electroquímicos como la deposición de metales en galvanoplastia y electrodeposición de metales y como codisolventes viables para la hidrólisis de epóxido catalizada por enzimas.

5 En cuanto a los HBD (donadores) conocidos, el glicerol es un disolvente convencional que se define en Química Orgánica como un poliol y se usa ampliamente en muchas aplicaciones industriales, especialmente en las industrias alimentaria y farmacéutica. Sin embargo, existe un uso limitado del mismo en transformaciones orgánicas debido a su baja solubilidad en compuestos orgánicos y su reactividad intrínseca, que
10 conduce a la formación de productos colaterales. Para superar estas desventajas, los investigadores han trabajado para mejorar las propiedades fisicoquímicas del glicerol a través de diferentes métodos. Uno de ellos es la preparación de DES que contengan glicerol en su composición, como HBD.

15 Un disolvente eutéctico profundo es utilizado en la solicitud internacional WO2015044139A1 donde se describe un proceso para la obtención de un saborizante, mediante la preparación de una mezcla de reacción que comprende dicho disolvente y precursores de sabor, calentando la mezcla para formar compuestos aromatizantes. El solvente eutéctico profundo es un líquido basado en una combinación de al menos dos
20 compuestos sólidos a 25°C y comprende agua y/o glicerol en una cantidad insuficiente, o en una cantidad tal que todos los compuestos sólidos a 25°C están simultáneamente saturados a esa temperatura. Los saborizantes o precursores de sabor pueden comprender los compuestos sólidos a 25°C en los que se basa el solvente eutéctico profundo. Un aspecto adicional de la invención es un producto
25 alimenticio que comprende la composición de saborizante obtenible por el proceso de la invención. El proceso obtenido mediante esta patente se limita a obtener un producto con características saborizantes, no un DES que sirva de disolvente a pesar de que así lo denomine. Al mismo tiempo se sintetiza a 25°C, temperatura que es
30 insuficiente cuando se pretende que el DES actúe como solvente y obtener una disolución de otros agentes activos con los que puede combinarse, como son los polifenoles, insolubles en agua.

En lo que se refiere a los compuestos bioactivos naturales, es bien conocido que la silimarina se compone de diferentes moléculas, como son la silibina, la silidianina, la
35 silicristina y sus correspondientes diastereoisómeros, con una característica común:

casi nula solubilidad en agua y muy pobre biodisponibilidad, por lo que, a pesar de su potencial, el uso como agente activo se ve muy reducido. La silimarina es una mezcla compleja de flavanolignanos (70-80%), representados en el esquema inferior, entre los que destacan silibina (A y B; 50%), isosilibina (A y B; 5%), dehidrosilibina (A y B), silidianina (10%), silicristina (20%), un derivado de flavanol (taxifolina) y una gran cantidad de componentes secundarios. La silibina es el componente mayoritario y está constituida por una mezcla equimolar de dos diastereoisómeros: silibina A y silibina B.



10

Todos ellos son enantioméricamente puros, presentan por lo tanto una estereoquímica definida en sus estereocentros y esto es de gran importancia debido a que los dos enantiómeros de un compuesto pueden presentar una actividad biológica diferente (distinta velocidad de reacción, interacciones con receptores diferentes, efectos secundarios, etc.). Con el fin de racionalizar las distintas interacciones compuesto

15 activo-receptor observadas para los dos enantiómeros de un compuesto

biológicamente activo, Easson y Stedman propusieron en 1933 un “modelo de acoplamiento de tres puntos” (*3D point interaction*). El modelo se basa en que si tres grupos de la molécula de un enantiómero dado interaccionan con tres posiciones complementarias en un receptor quiral del organismo, el otro enantiómero no podrá interactuar exactamente del mismo modo. Como consecuencia de ello, los dos enantiómeros de un compuesto pueden presentar una actividad biológica diferente.

Por otra parte, la diabetes es una enfermedad crónica que padecen numerosos pacientes a nivel mundial, que se origina porque el organismo no sintetiza la cantidad de insulina que necesita. Esta hormona es producida en el páncreas y su principal función es el mantenimiento de los valores adecuados de glucosa en sangre. Permite que la glucosa entre en el organismo y sea transportada al interior de las células, donde se transforma en energía para que funcionen los músculos y los tejidos. Ayuda a que las células almacenen la glucosa hasta que su utilización sea necesaria. En las personas con diabetes hay un exceso de glucosa en sangre (hiperglucemia), ya que no se distribuye de forma adecuada. La glucosa elevada puede ser perjudicial para todo el organismo, pero principalmente para el corazón, el riñón y las arterias, por lo que las personas que tienen diabetes y no lo saben o no la tratan, tienen mayor riesgo de problemas renales, infartos, pérdida de visión y amputaciones de miembros inferiores.

La diabetes tipo I está causada por la destrucción de las células productoras de insulina y suele aparecer en la infancia. En la actualidad, no es posible prevenir la diabetes tipo I, a pesar de los múltiples intentos que se han hecho. Por su parte, la diabetes Mellitus tipo II es la más frecuente y prevenible y se produce por un déficit de insulina, que se suma a una acción reducida de esta hormona en los tejidos. Este tipo, que es la más frecuente, sí se puede prevenir. Puesto que la causa más importante es la obesidad, todas las acciones que tengan que ver con la prevención de la obesidad - evitar el sedentarismo, comida basura, bebidas azucaradas...- tendrán un resultado positivo. Un estilo de vida saludable reduce las posibilidades de la diabetes tipo II.

La incidencia de diabetes en España es de 11,58 casos por cada 1.000 personas al año; cada día se generan 1.057 nuevos casos. El porcentaje actual de personas con diabetes (prevalencia) es del 13,8%, unos 6 millones de personas sólo en España.

Se ha encontrado alguna evidencia científica sobre ensayos que demuestran cierta eficacia parcial de la silimarina en la diabetes Mellitus tipo II, pero como hasta ahora no se ha conseguido mejorar la solubilidad y la biodisponibilidad de la misma, ninguno de estos artículos científicos ha obtenido resultados concluyentes y efectivos. Citando
5 alguno de estos trabajos, encontramos:

- *Best herbs for managing diabetes: A review of clinical studies*. Ahmad Ghorbani. Pharmacological Research Center of Medicinal Plants, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Iran. Brazilian Journal of Pharmaceutical
10 Sciences vol. 49, n. 3, jul./sep., 2013.
- *Effect of silymarin in diabetes mellitus patients with liver diseases*. Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics, Oct.-Dec. (2011), Vol 2-Issue 4.
- *Silymarin in Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials*. Luminita Voroneanu, Ionut Nistor, Raluca Dumea,
15 Mugurel Apetrii, and Adrian Covic. Hindawi Publishing Corporation. Journal of Diabetes Research. Volume 2016, Article ID 5147468, 10 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5147468>.
- *Silymarin prevents diabetes-induced hyperpermeability in human retinal endothelial cells*. Marta García-Ramírez, Mireia Turcha, Olga Simó-Servata,
20 Cristina Hernández, Rafael Simó. Endocrinol Diabetes Nutr. 2018; 65(4): 200-205. <https://doi.org/10.1016/j.endinu.2017.12.004>.
- *The Efficacy of Silybum marianum (L.) (Silymarin) in the Treatment of Type II Diabetes: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Clinical Trial*. H. Fallah Huseini, B. Larijani, R. Heshmat, H. Fakhrzadeh, B. Radjabipour, T. Toliat and
25 Mohsin Raza. Phytotherapy Research Phytother. Res. 20, 1036–1039 (2006) DOI: 10.1002/ptr.1988.

A la vista de estos documentos, y ante la necesidad de fomentar la aparición de nuevas composiciones farmacéuticas a partir de formulaciones naturales, cuya
30 biodisponibilidad sea suficientemente elevada como para garantizar que sean efectivas, la presente invención propone un nuevo vehículo solubilizante, concretamente un NADES a base de agua, glicerol y el aminoácido arginina, de dichos agentes activos de origen natural, específicamente la silimarina, y la composición que se prepara a partir de dicho vehículo, así como el método para obtenerla y su uso en
35 medicina.

Descripción general de la invención

Mediante el método presentado en esta invención, sin realizar tratamientos previos de las sustancias ni mezclas posteriores con otros componentes, se mejora drásticamente la solubilidad y biodisponibilidad acuosa de la silimarina, compuesto
5 obtenido a partir del extracto de la planta *Silybum marianum*, originalmente insoluble, y se viabiliza su aplicación directa en el campo farmacéutico. Para conseguir este objetivo, se ha desarrollado una técnica que se reduce a producir inicialmente un solvente eutéctico profundo de origen natural DES como agente vehiculizante, a partir
10 del glicerol (llamado también glicerina o propan 1,2,3-triol), y que en el mejor de las realizaciones también contiene el aminoácido arginina y agua. Una vez formado el agente vehiculizante, y tras mezclarlo con el extracto (silimarina) como agente activo, se lleva a cabo una agitación vigorosa, hasta asegurarse la solubilización del compuesto activo en un breve periodo de tiempo, dando lugar a la formación de
15 complejos en disolución.

En concreto, la presente invención se refiere a un solvente eutéctico profundo de origen natural (NADES, siglas en inglés) cuya formulación se compone de agua, glicerina y un aminoácido que es arginina en una relación molar comprendida entre
20 1:1:0,05 hasta 2:1:0,05, que presenta complejos que son macromoléculas en disolución formadas mediante interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina, el agua y el grupo carboxilo y los grupos amino del grupo guanidinio de la arginina, y donde la glicerina y este aminoácido son compuestos aceptores y donadores de enlaces de hidrógeno a la
25 vez.

Efectivamente, además de comprender agua en la cantidad definida, una característica exclusiva de este complejo es que habitualmente en los NADES se identifica una sustancia que actúa como compuesto donador de enlaces de hidrógeno
30 (HBD, hydrogen bond donor, siglas en inglés) y la otra como compuesto aceptor (HBA, hydrogen bond acceptor, siglas en inglés). El glicerol por ejemplo es típicamente un HBD con el cloruro de colina o con otros aminoácidos que no sean la arginina, que actúan como HBA. Pues bien, cuando el aminoácido es la arginina, debido al carácter básico del grupo guanidinio y la tendencia a formar puentes de hidrógeno a partir de
35 estos grupos amino, puede actuar como HBD y HBA simultáneamente en la

composición descrita, por lo que obliga a la glicerina a actuar con esta misma dualidad. Por primera vez en la literatura técnica se describe un NADES con estas características, en el cual sus compuestos formantes actúan como HBD y HBA simultáneamente.

5

En efecto, la ventaja de la presencia de arginina es la correspondiente presencia del grupo guanidinio en la molécula, que además también cumple funciones de control de glucosa en sangre, objetivo fundamental de la presente invención, como se muestra más adelante. De este modo, al mezclar y dispersar el agente bioactivo (como es la silimarina) en el NADES, los complejos en disolución del compuesto que se prepara se forman no sólo mediante las interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina, los grupos carboxilo y guanidinio de la arginina y el agua, sino también con los grupos hidroxilo fenólicos del agente activo.

10

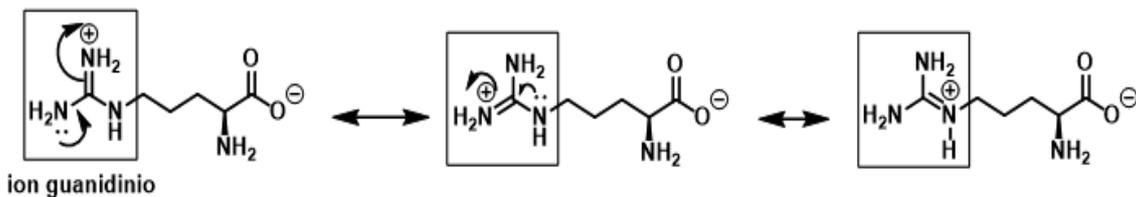
15

La presencia de agua en el NADES no es accesorio, ya que además de mejorar la viscosidad del NADES y de los compuestos con los que éste se utiliza para preparar composiciones con agentes bioactivos, como son los extractos naturales, mejora aún más la solubilidad de dichos agentes activos con los que se combina el NADES, concretamente si el agua aparece en la cantidad definida en esta invención.

20

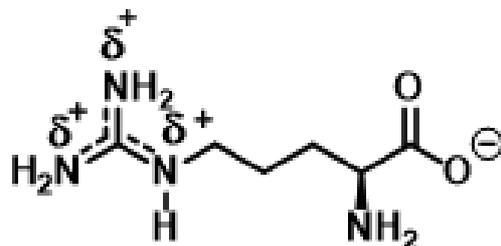
Las siguientes imágenes representan la estructura molecular de la arginina y sus formas resonantes: La L-arginina es el más básico de los 20 aminoácidos naturales porque su cadena lateral de ión guanidinio está protonado bajo todas las condiciones que se encuentran de manera habitual dentro de las células. Este ión guanidinio podemos representarlo mediante las siguientes formas resonantes:

25

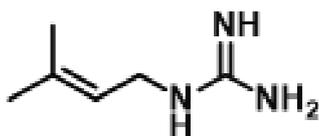


Como se ve en la siguiente estructura promedio, esa carga positiva está repartida por igual por los tres nitrógenos de la función guanidínica.

30

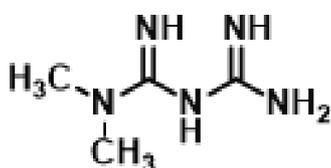


La función guanidínica está presente en varios compuestos que han sido utilizados tradicionalmente e incluso en la actualidad para el control de glucemia en sangre. Es de destacar la galegina, que se extrae de la planta *Galega officinalis*, un compuesto tóxico que se usó en el pasado para el tratamiento de la diabetes, hasta que se obtuvieron mejores medicamentos de síntesis no tóxicos, como la metformina. A continuación se representa la estructura química de la galegina:



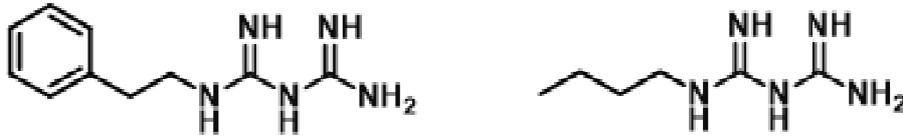
10

La metformina, o el preparado comercial clorhidrato de metformina, es un fármaco antidiabético del tipo biguanida. Se utiliza comúnmente en el tratamiento y la prevención de la diabetes Mellitus tipo II. Desde el año 2009, la metformina es uno de dos antiglicemiantes orales que pertenecen a la lista modelo de medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud, junto con la glibenclamida, y es el único medicamento conocido capaz de prevenir las enfermedades cardiovasculares asociadas a la diabetes. La estructura de la metformina se representa a continuación:



20

Hay otras biguanidas, como son la fenformina y la buformina, ya retiradas del mercado:



Estos compuestos citados tienen su origen histórico en la planta *Galega officinalis* (ruda cabruna o galega) que se empleaba en la época medieval para reducir la micción exagerada de los diabéticos.

A continuación se representa la estructura química de las interacciones que se forman entre la arginina y el glicerol al formar el NADES. Se representan las moléculas con las cargas electrostáticas.

10

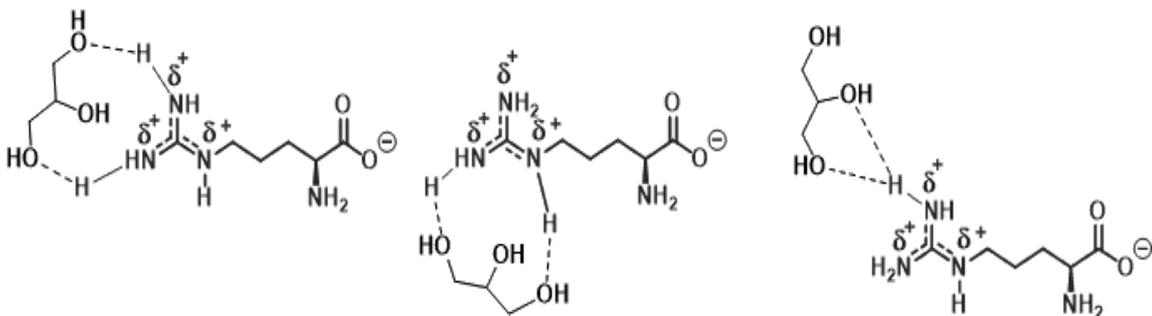
Ejemplos de formación del NADES: L-arginina-glicerol: En el glicerol encontramos diferentes posibilidades para actuar como aceptor o donador de hidrógenos:

- Como aceptor: La presencia en la arginina del ión guanidinio hace que exista una deslocalización de la deficiencia electrónica entre los tres nitrógenos por igual, como se ve al estudiar las formas resonantes. Resulta que la arginina pueda actuar como donador en la formación de puentes de hidrógeno con la glicerina, con una, dos o tres unidades de glicerina. Se presentan algunas posibilidades de las muchas que se pueden escribir:

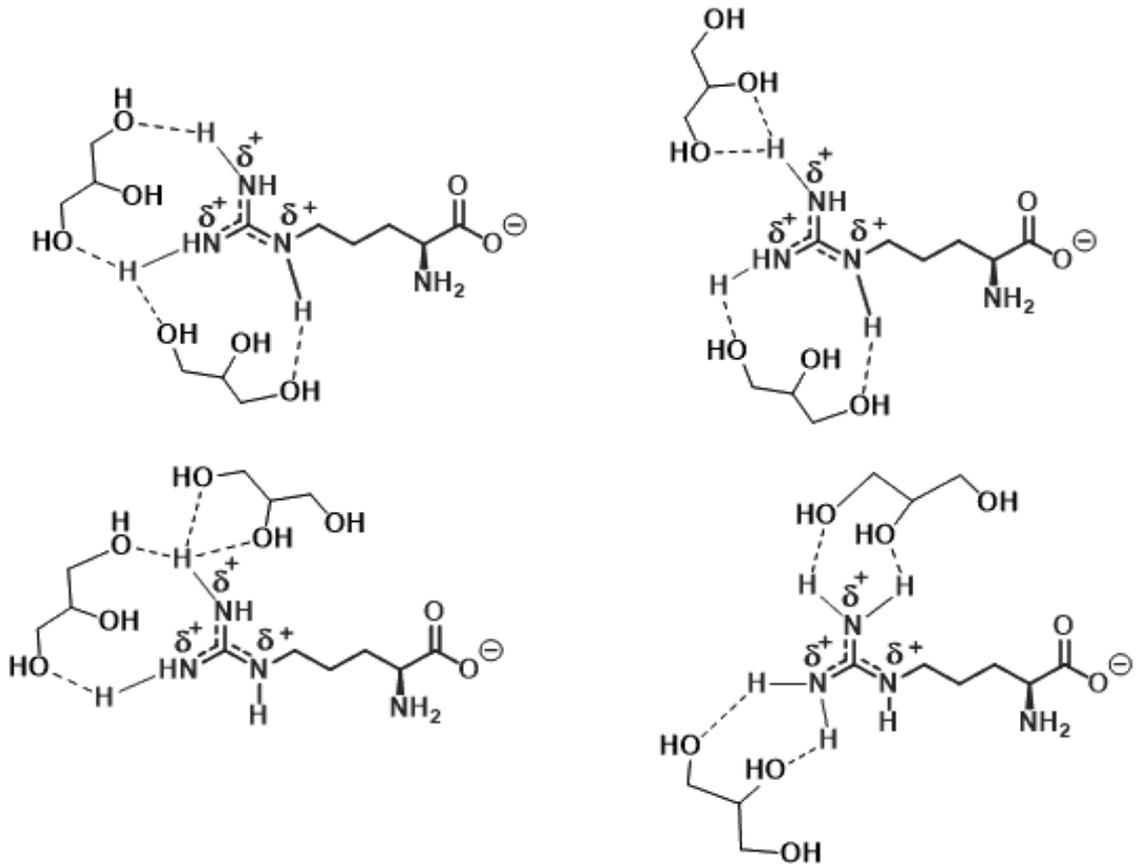
15

20

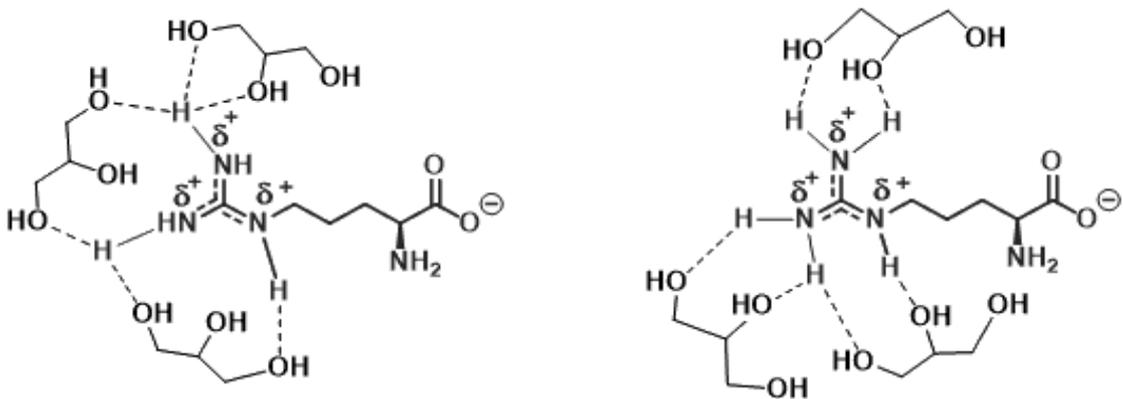
- o Con una molécula de glicerina:



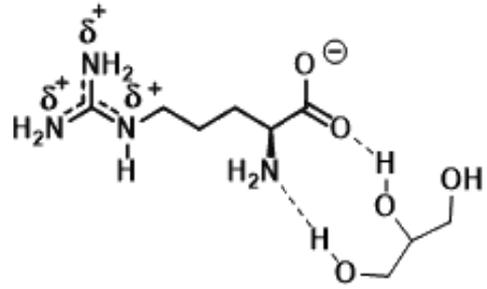
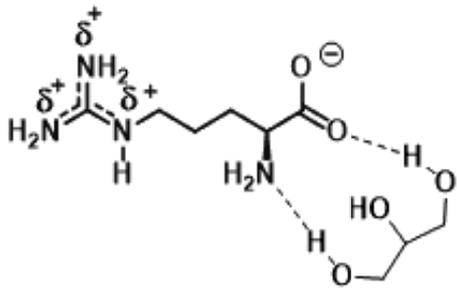
- o Con dos moléculas de glicerina:



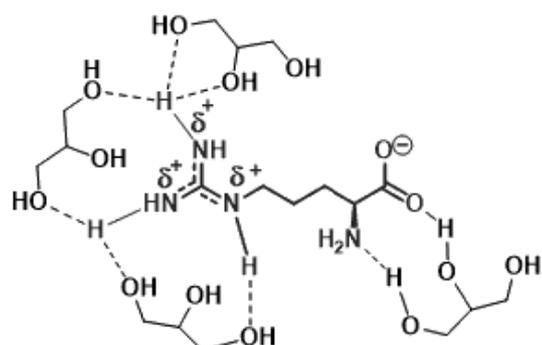
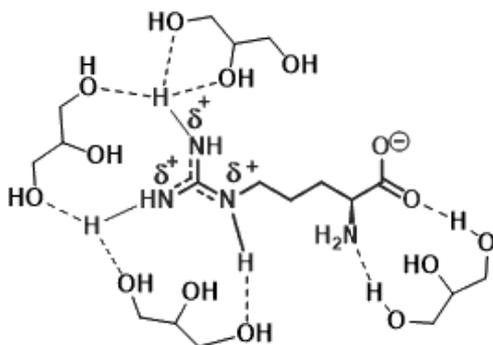
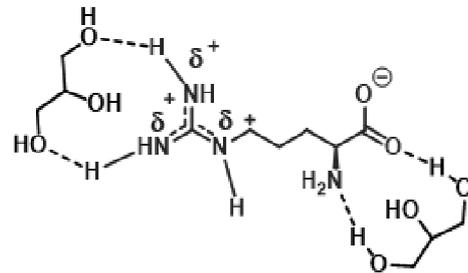
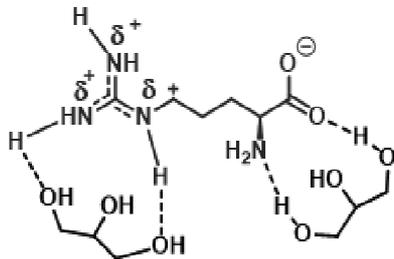
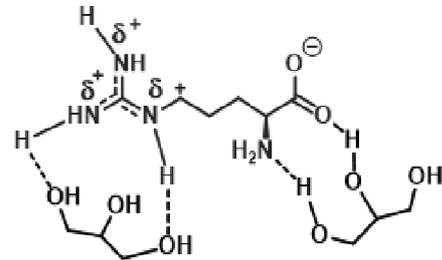
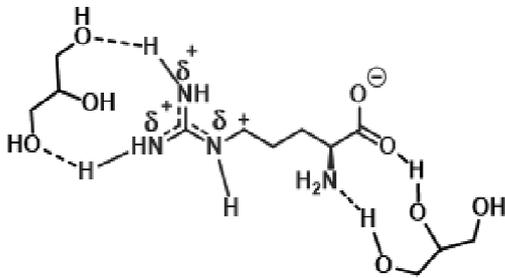
- Con tres unidades de glicerina, con los alcoholes primarios o con primarios y secundarios.

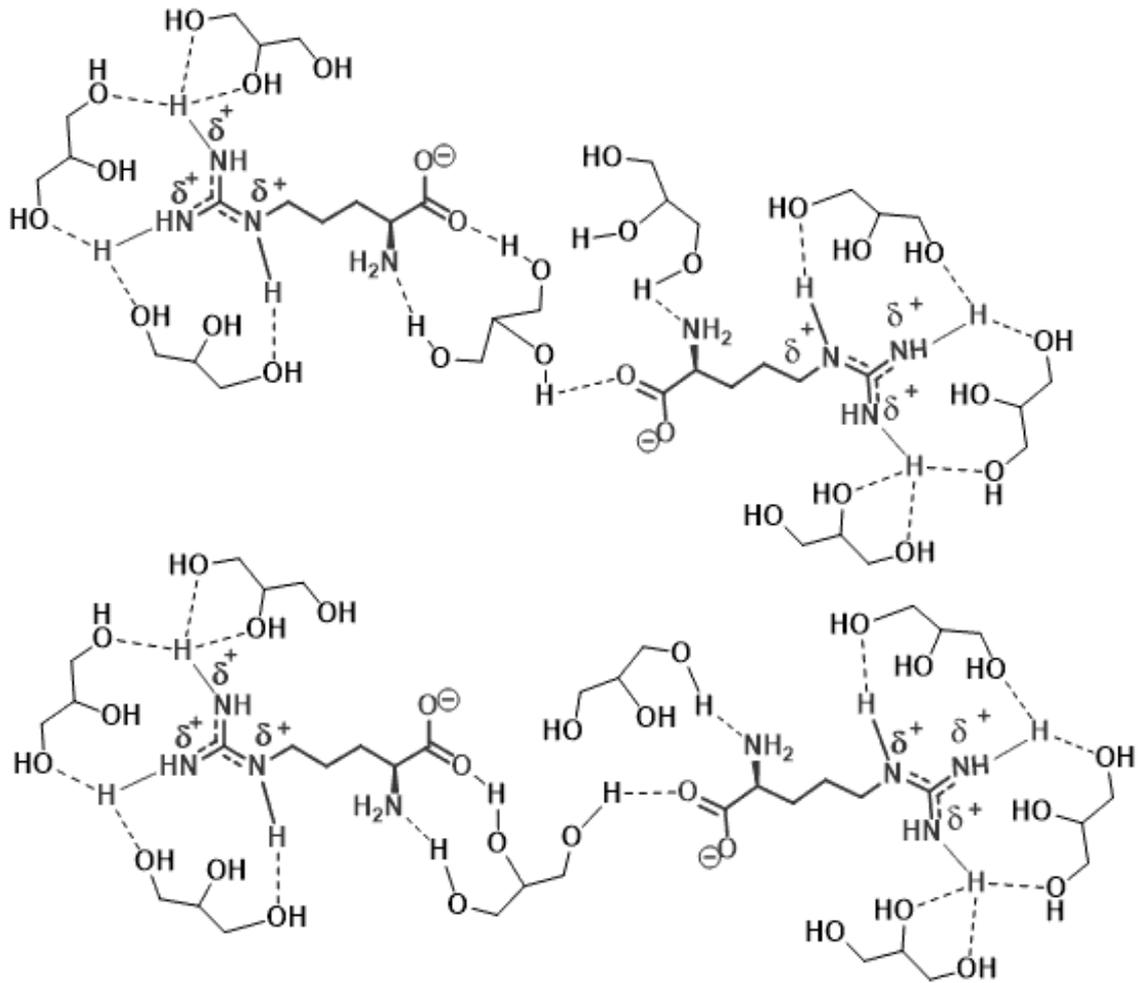


- 5 - Como donador: La glicerina con el aminoácido L-arginina también puede actuar en la formación de NADES como donante de hidrógenos:



- En la misma molécula de arginina se pueden dar las dos posibilidades anteriores y todas las posibles variaciones:





Otro objeto de la presente invención es el método de preparación del solvente eutéctico profundo de origen natural aquí descrito, que comprende:

- 5 a) precalentar glicerina y agua a una temperatura comprendida entre 50°C-65°C, en una proporción molar comprendida entre 1:1 y 2:1; y
- b) mezclar la mezcla precalentada en la anterior etapa con la arginina en una proporción molar de agua:glicerol:arginina que varía entre 1:1:0,05 y 2:1:0,05, hasta formar complejos que son macromoléculas en disolución mediante
- 10 interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina, el agua y los grupos carboxilo y guanidinio de la arginina, y donde la glicerina y la arginina son compuestos aceptores y donadores de enlaces de hidrógeno a la vez.

Preferiblemente, la temperatura a la que se precalienta la mezcla de glicerina y agua es de 60°C, que es la temperatura a la que se prepara el NADES durante todo el proceso.

5 Asimismo, la presente invención se refiere al uso del NADES descrito en esta memoria como agente vehiculizante de compuestos bioactivos en la formación de composiciones farmacéuticas, siendo el compuesto activo de forma preferible la silimarina. Las ventajas de este uso se describen a continuación al definir las composiciones bioactivas que se preparan a partir del NADES.

10

Así, otro objeto de la presente invención lo constituye una composición farmacéutica caracterizada por que comprende:

- un agente bioactivo que es silimarina o uno cualquiera de sus constituyentes activos; disuelto en

15

- un agente vehiculizante que es un solvente eutéctico profundo de origen natural (NADES), que comprende al menos un 75% en peso de glicerina con respecto al peso total del agente vehiculizante, es decir, como constituyente principal;

20

en una proporción de silimarina y agente vehiculizante comprendida entre 1:10 y 1:25 en peso, donde la composición es una disolución de complejos macromoleculares formados al menos mediante interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina y los grupos hidroxilo fenólicos de la silimarina.

25

La técnica presentada en este documento radica en la elaboración de una composición natural, sin aditivos ni emulsionantes, a partir del empleo de solventes eutécticos profundos de origen natural (NADES) basados en glicerol, una sustancia natural e inocua que se puede ingerir de forma segura *quantum satis*, comercializada habitualmente en su forma bidestilada y, evidentemente (por su aplicación) de grado

30

La silimarina es un extracto más o menos estandarizado de las semillas de cardo mariano, que contiene una mezcla de flavonolignanos, incluyendo así silibinina (silibina), isosilibinina, silicristina y silidianina, entre otros constituyentes (ver definición

35

en el apartado Descripción de la invención, que por referencia se integra aquí también

como definición de la invención), que actúan como agentes activos también de forma independiente unos de otros. Así, esta composición farmacéutica, como queda aquí descrito, puede prepararse partiendo del extracto de silimarina completo como agente bioactivo, tal cual se encuentra y comercializa, o utilizando uno o más de sus moléculas o componentes activos como dicho agente activo, como es el caso preferido de la silibina.

En cuanto al solvente eutéctico profundo de origen natural, éste contiene glicerina preferentemente en una cantidad comprendida entre 75%-85% en peso de la composición total del NADES. También preferentemente, el NADES comprende agua, lo que mejora sus propiedades disolventes. Debe indicarse que en este NADES el glicerol actúa netamente como HBD, ya que es el tipo de relación molecular que establece con los demás componentes (como hemos dicho, la arginina es una rarísima excepción en la que ambos, glicerol y arginina, actúan doblemente como HBD y HBQ). Por tanto, este NADES incluye además un compuesto adicional que es un HBA de origen natural, preferentemente un aminoácido, que más preferentemente es seleccionado dentro del grupo formado por: arginina, betaina, clouro de colina y ácido cítrico.

La proporción de silimarina y NADES en la mezcla está preferentemente comprendida entre 1:15 en peso.

En la realización particular más preferida, la invención se refiere a una composición farmacéutica como la definida anteriormente pero que comprende particularmente:

- un agente bioactivo que es silimarina o uno cualquiera de sus constituyentes activos, disuelto en:
- un agente vehiculizante que es el solvente eutéctico profundo de origen natural descrito en la presente memoria, cuya formulación se compone de agua, glicerina y un aminoácido que es arginina en una relación molar comprendida entre 1:1:0,05 hasta 2:1:0,05, que presenta complejos macromoleculares en disolución formados mediante interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina, el agua y el grupo carboxilo y los grupos amino del grupo guanidinio de la arginina, y donde la glicerina y este aminoácido son compuestos aceptores y donadores de enlaces de hidrógeno a la vez;

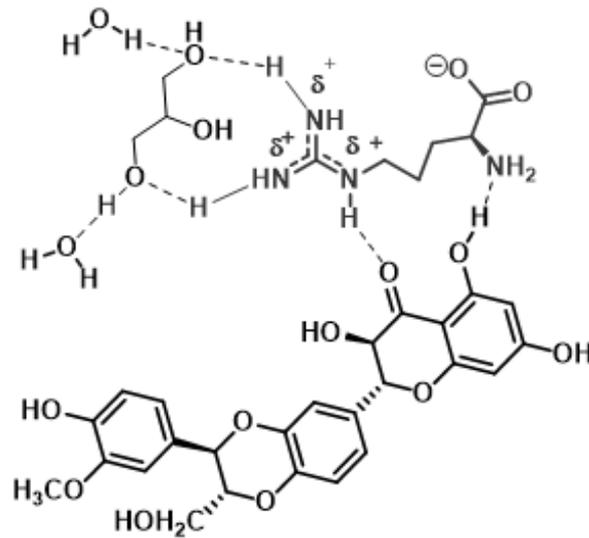
en una proporción de silimarina y agente vehiculizante comprendida entre 1:10 y 1:25 en peso, donde la composición es una disolución de complejos macromoleculares formados mediante interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina, el agua, los grupos carboxilo y
5 guanidinio de la arginina y los grupos hidroxilo fenólicos de la silimarina.

Las propiedades descritas anteriormente para el NADES, tanto esenciales como preferentes, son aplicables a las composiciones farmacéuticas que se preparan a partir de dichos solventes. Asimismo, la proporción de silimarina y NADES en esta
10 mezcla concreta está también preferentemente comprendida entre 1:15 en peso.

Los estudios de solubilidad y caracterización de la estabilidad de la silimarina en el NADES cuando se forma la composición se han llevado a cabo con un espectrofotómetro de UV-VIS y/o un cromatógrafo-masas HPLC-Masas. Se ha
15 verificado además mediante estos análisis que, de forma inesperada, la solubilidad en agua de los complejos que forman parte de la disolución resultante se mantiene incluso en diluciones acuosas sucesivas. Este resultado es clave para formular un producto concentrado y, posteriormente, poder consumirlo diluido en agua. Así, la composición obtenida mantiene la solubilidad en agua en etapas de dilución posterior,
20 desde 1 a 50 hasta incluso 1 a 100 en peso de compuesto:agua. En un caso preferido, la composición puede ser consumida diluida en agua en una proporción en peso comprendida entre 1:1 a 1:100.

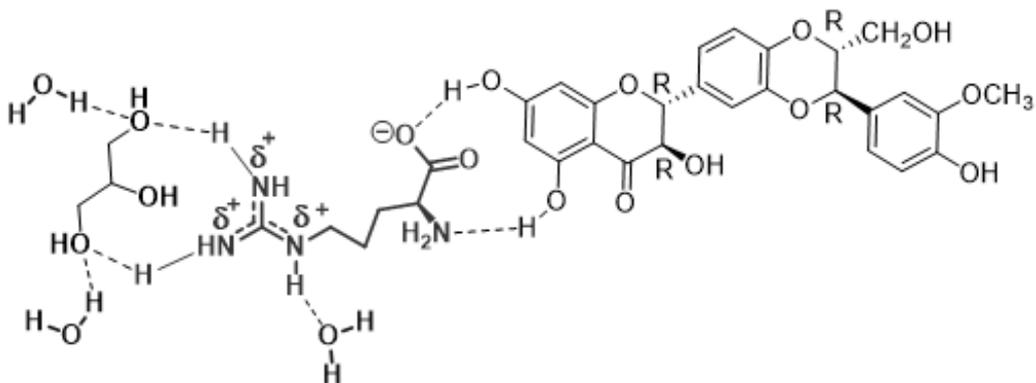
A continuación se representa la estructura química de las macromoléculas que se encuentran en disolución en la composición farmacéutica objeto de protección formada
25 por el NADES y la silimarina, donde, como ya se ha dicho en el caso preferido del NADES, el aminoácido de la composición es la arginina. Se representan las moléculas con las cargas electrostáticas. Se produce una solvatación del NADES con el agua y una interacción por puentes de hidrógeno con la silimarina (se ha elegido la molécula
30 de la silibina A para representar esta interacción, que, como se ha dicho, podría actuar como agente bioactivo independiente, habiendo sido extraída de la silimarina). No se ha considerado la solvatación del complejo.

- El glicerol y el agua unidos a ión guanidinio: En este primer ejemplo, el agua actúa como donador de enlaces de hidrógeno frente al glicerol y la arginina, igual con respecto a la silimarina:

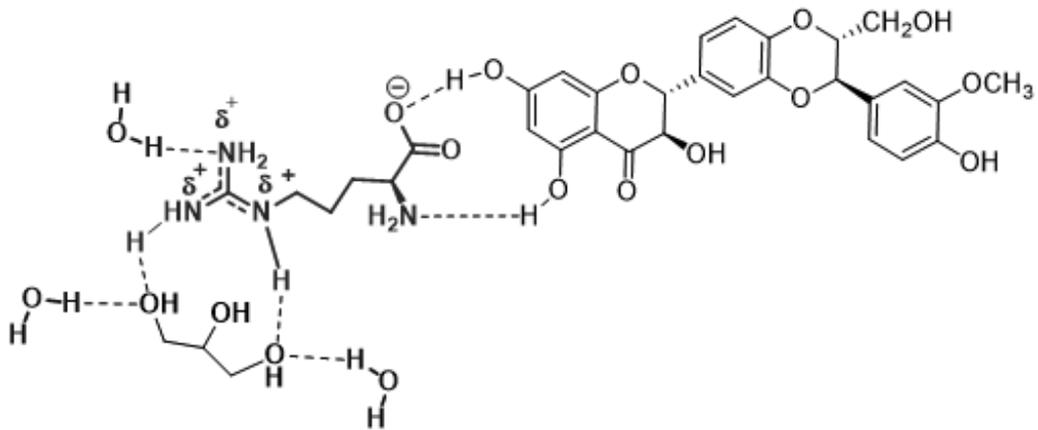


5

En este segundo caso el agua dona enlaces de hidrógeno a la glicerina y a la arginina. La silibina se los cede al aminoácido a través de los fenoles de la flavona:

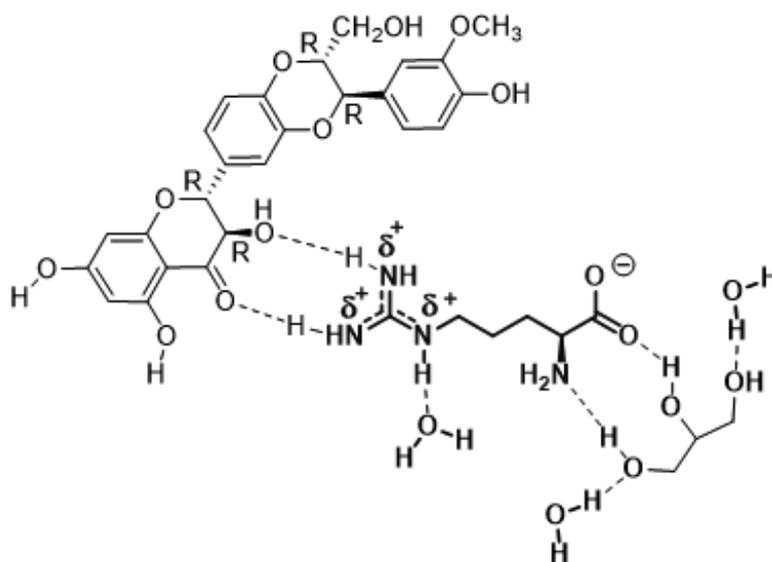


10

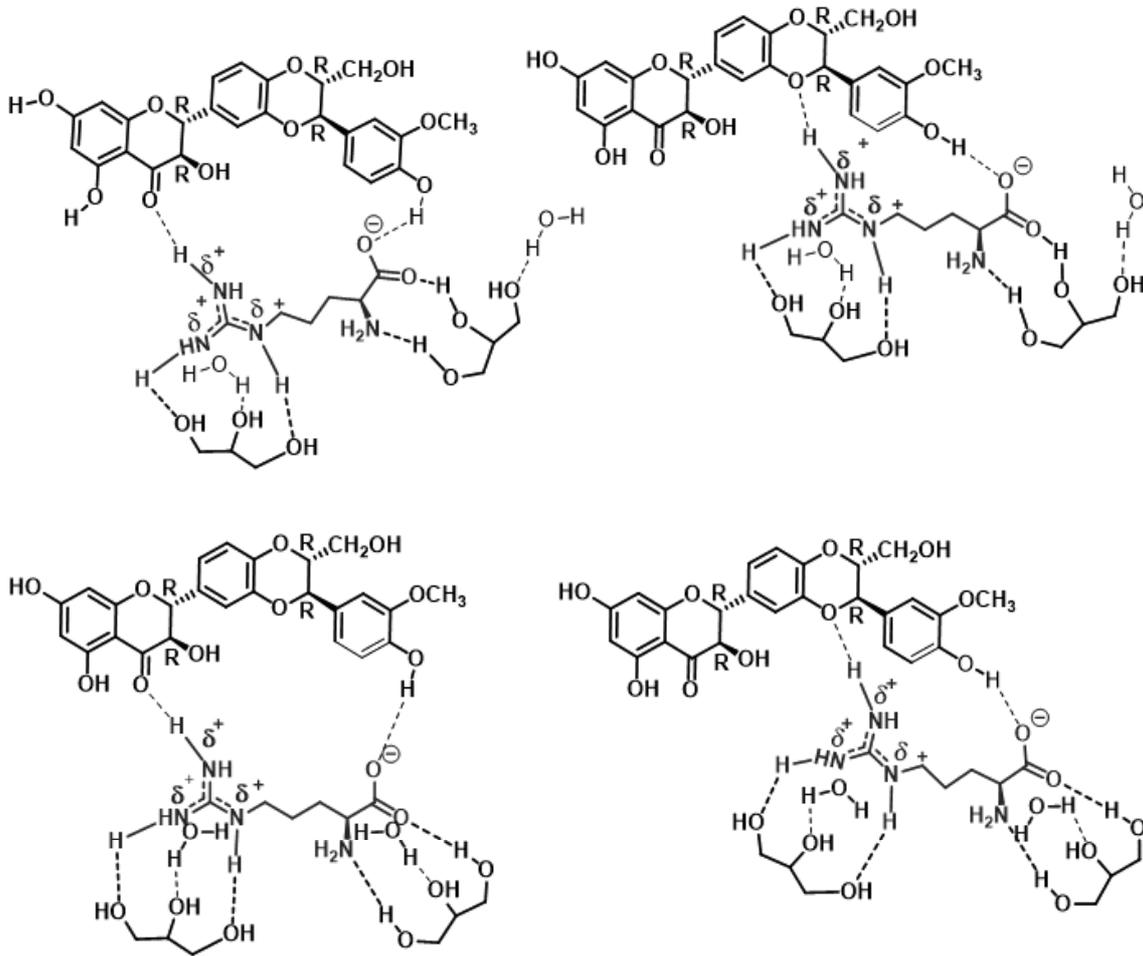


- El glicerol unido a la zona del alfa del aminoácido:

5



- Dos unidades de glicerol, una unida al ión guanidinio y otra al aminoácido:



- 5 En las imágenes anteriores se ha representado una pluralidad de posibilidades en los enlaces por puente de hidrógeno que tienen lugar durante la formación del NADES, con la arginina y la silimarina como agente activo en la composición farmacéutica. Estas estructuras no son excluyentes de otras análogas que puedan tener lugar. Simplemente deben considerarse indicativas de los puentes electrostáticos entre los
- 10 diferentes compuestos y que tienen lugar para la formación del complejo total.

15 Cuando la composición farmacéutica descrita, tras ser obtenida, se diluye adicionalmente en agua (por ejemplo, antes de ser ingerida), los grupos hidroxilo y amino presentes en el complejo se solvatan con la misma, aumentando la solubilidad de todo el complejo, lo que es una ventaja adicional si se piensa que la invención parte de un agente bioactivo, que es un extracto natural, la silimarina, con una solubilidad en agua muy baja, casi nula. La solvatación es una interacción de un soluto con un

Hemos verificado que este hecho ocurre en el complejo formado, lo que conlleva, de

forma inesperada, un aumento drástico de la solubilidad en agua del complejo formado entre el NADES y la silimarina.

Otro objeto de la presente invención consiste en un método de obtención de la
5 composición farmacéutica descrita a partir del solvente eutéctico profundo de origen natural (NADES) como agente vehiculizante, que comprende:

- mezclar y disolver un agente bioactivo que es silimarina en el solvente eutéctico profundo de origen natural, mediante agitación durante al menos 3 minutos a una temperatura comprendida entre 50°C y 65°C, en una proporción de
10 silimarina y NADES comprendida entre 1:10 y 1:25 en peso, hasta formar complejos macromoleculares mediante interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina y los grupos hidroxilo fenólicos de la silimarina.

15 Cuando en la realización más preferida el NADES utilizado es el que se protege en la presente invención, entonces los complejos macromoleculares se forman mediante interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina, el agua, los grupos carboxilo y guanidinio de la arginina y los grupos hidroxilo fenólicos de la silimarina.

20 Durante el proceso de síntesis de la composición, la temperatura de partida de la mezcla es preferiblemente de 60°C. En cualquier caso, nunca supera los 65°C, es decir, es la misma temperatura a la que se obtiene el solvente eutéctico profundo de origen natural por separado. De este modo, se garantiza que cuando se proceda a
25 dispersar el extracto o agente activo en el DES, la estructura molecular de los compuestos activos en la silimarina no se degradan por el efecto negativo de la temperatura excesiva aplicada en la molécula. Así se evita la degradación de las propiedades bioquímicas de las moléculas. Este resultado es de gran importancia para que se mantengan íntegras las características bioquímicas y organolépticas a la hora
30 de ser usado como farmacéutico.

En este método, la temperatura de la mezcla es preferentemente la misma a la que se prepara el NADES, y a la que éste se encuentra una vez obtenido. Como consecuencia de lo anterior, en una realización particular de la invención el método de
35 obtención de la composición farmacéutica, que incluye la silimarina como agente

bioactivo, comprende combinar la preparación del NADES siguiendo las indicaciones dadas en esta memoria con la subsiguiente preparación de la composición, también con el método aquí descrito, en un mismo proceso. De esta forma, la última etapa se lleva a cabo a la temperatura a la que se ha obtenido previamente el NADES, evitando
5 el calentamiento previo del NADES antes de mezclarse con el agente activo.

En una realización particular, el tiempo de agitación está comprendido entre 3 y 7 minutos, y más preferiblemente está comprendido entre 5 y 7 minutos. En una realización más particular, la agitación de la mezcla para conseguir el acomplejamiento
10 del agente activo con el agente vehiculizante se lleva a cabo durante 5 minutos.

Todas las limitaciones y variaciones descritas para la composición farmacéutica son aplicables asimismo para el método de preparación de la misma. Así, dicha composición tiene preferentemente una proporción de silimarina y NADES de 1:15 en
15 peso.

Otro aspecto de la presente invención es el uso del compuesto farmacéutico descrito en medicina, es decir, la invención contempla asimismo un compuesto como el descrito para uso farmacéutico y médico. Concretamente, de manera preferida, el
20 compuesto farmacéutico descrito se usa para la prevención y el tratamiento de la diabetes y del colesterol de bajo peso molecular LDL, habiéndose observado tras su ingesta un efecto del compuesto en la reducción de ambos, la diabetes y el colesterol de bajo peso molecular LDL. Este efecto beneficioso se debe a sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, y regeneradoras de las células Beta pancreáticas,
25 situadas en el interior de los islotes de Langherans.

La dosificación a ingerir diariamente para el tratamiento es preferentemente de 5 ml., durante al menos 3 meses, que es el tiempo que tarda en producirse una disminución significativa de la hemoglobina glicosada; no obstante, la bajada de la glucosa en
30 sangre precisa un menor tiempo con este tratamiento, incluso en cuestión de días. Por otra parte, la dosificación a ingerir diariamente para la prevención es preferentemente de 3 ml.

Se presenta a continuación un análisis de la actividad del compuesto farmacéutico
35 descrito, concretamente de su agente activo, la silimarina, sobre la función endocrina

del páncreas, incluyendo su mecanismo de acción, de especial relevancia de cara a sustentar la solidez de la investigación realizada y la importancia de los resultados obtenidos.

5 La célula beta pancreática es una célula altamente especializada, localizada en el interior de unas estructuras denominadas islotes de Langerhans. Desempeñan un papel único en la fisiología del organismo, ya que es la única capaz de sintetizar la hormona insulina. Posteriormente, la insulina viaja por el torrente sanguíneo hasta alcanzar los tejidos periféricos para promover la captación, utilización y el
10 almacenamiento de los nutrientes. Sus efectos directos son permitir el paso de la glucosa al interior de todas las células, y así mantener el equilibrio entre los niveles de glucosa e insulina en el organismo.

La exposición crónica a niveles elevados de glucosa y ácidos grasos libres (FFA)
15 causa disfunción de las células β y puede inducir su apoptosis originando la diabetes de tipo I y I diabetes de tipo II. La exposición a glucosa alta tiene efectos duales, desencadena inicialmente "hipersensibilización" y después apoptosis, a través de diferentes mecanismos que se explican más adelante.

20 Los islotes pancreáticos producen una variedad de citocinas y quimiocinas como respuesta a la estimulación fisiológica y patológica inducida por los nutrientes que se ingieren. La fuente celular de estos mediadores inflamatorios incluye células inmunes alfa, beta, endoteliales... y las citocinas producidas en los islotes promueven la adaptación y reparación de las células alfa y beta a corto plazo. Eventualmente, el
25 estrés metabólico crónico puede inducir un proceso autoinflamatorio nocivo en los islotes que conduce al fracaso de la secreción de la insulina y a la diabetes final. La comprensión del papel específico de las citocinas y quimiocinas permite intervenciones clínicas específicas destinadas a remodelar la inflamación de los islotes y prevenir su destrucción.

30 Tanto en la diabetes tipo I como en la diabetes tipo II se observa un aumento de la síntesis y la liberación de citocinas proinflamatorias, que causan daño en los islotes pancreáticos y, además en la tipo II, el desarrollo de resistencia a la insulina. Ese proceso resulta de un desequilibrio final entre las citocinas proinflamatorias y las
35 protectoras. Las proinflamatorias, como la interleucina 1β (IL- 1β), el factor de necrosis

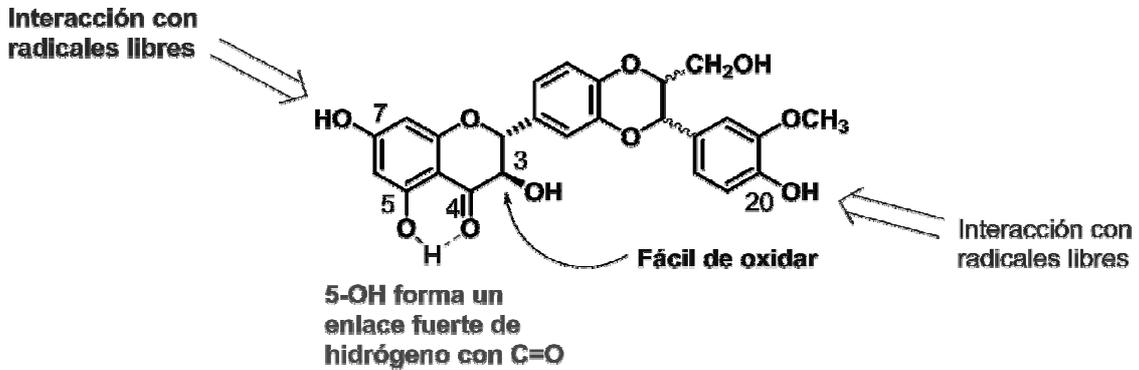
tumoral α (TNF- α) y el interferón- γ (IFN- γ), así como el factor PANDER, están involucradas en la activación de diferentes vías metabólicas que pueden acabar en la apoptosis de las células β pancreáticas. La interleucina IL-1 β activa las proteínas quinasas activadas por mitógeno (MAPK), afecta el factor nuclear kappa-potenciador de la cadena ligera de las células B activadas (NF- κ B) y activa la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS). El TNF- α y el IFN- γ activan sinérgicamente los canales de calcio, lo que conduce a la disfunción mitocondrial y la activación de las caspasas. La neutralización de las citocinas proinflamatorias, especialmente la interleucina 1 β con el antagonista del receptor de IL-1 (IL-1Ra) y/o los anticuerpos IL-1 β pueden causar la extinción del proceso inflamatorio de los islotes pancreáticos y, en consecuencia, normalizar la concentración de glucosa en sangre y disminuir la resistencia a la insulina.

En la diabetes tipo I, las células inmunes invasoras producen citocinas como IL-1 β , factor de necrosis tumoral (TNF- α) e interferón (IFN- γ). Las IL-1 β y/o el TNF- α junto al IFN- γ inducen apoptosis de células β mediante la activación de redes de genes bajo el control de los factores de transcripción NF- κ B y STAT-1. La activación del factor NF- κ B conduce a la producción de óxido nítrico (NO) y quimiocinas y al agotamiento del calcio del retículo endoplásmico (ER). La muerte de las células β se produce a través de la activación de proteínas quinasas activadas por mitógeno, a través de la activación del estrés ER y por el inicio de señales de muerte mitocondrial. Sin embargo, un nivel alto de glucosa no induce ni activa las IL-1 β , NF- κ B ni la óxido nítrico sintasa inducible. La muerte de las células β ocurre a través de la activación de proteínas quinasas activadas por mitógeno, a través de la activación del estrés ER y por la liberación de señales de muerte mitocondrial.

La silimarina posee una acusada actividad antioxidante y es capaz de captar radicales libres con la finalidad de impedir que reaccionen con los componentes celulares. Este mecanismo ocurre a través de los hidroxilos fenólicos y determina su capacidad de captar los radicales libres que se están formando.

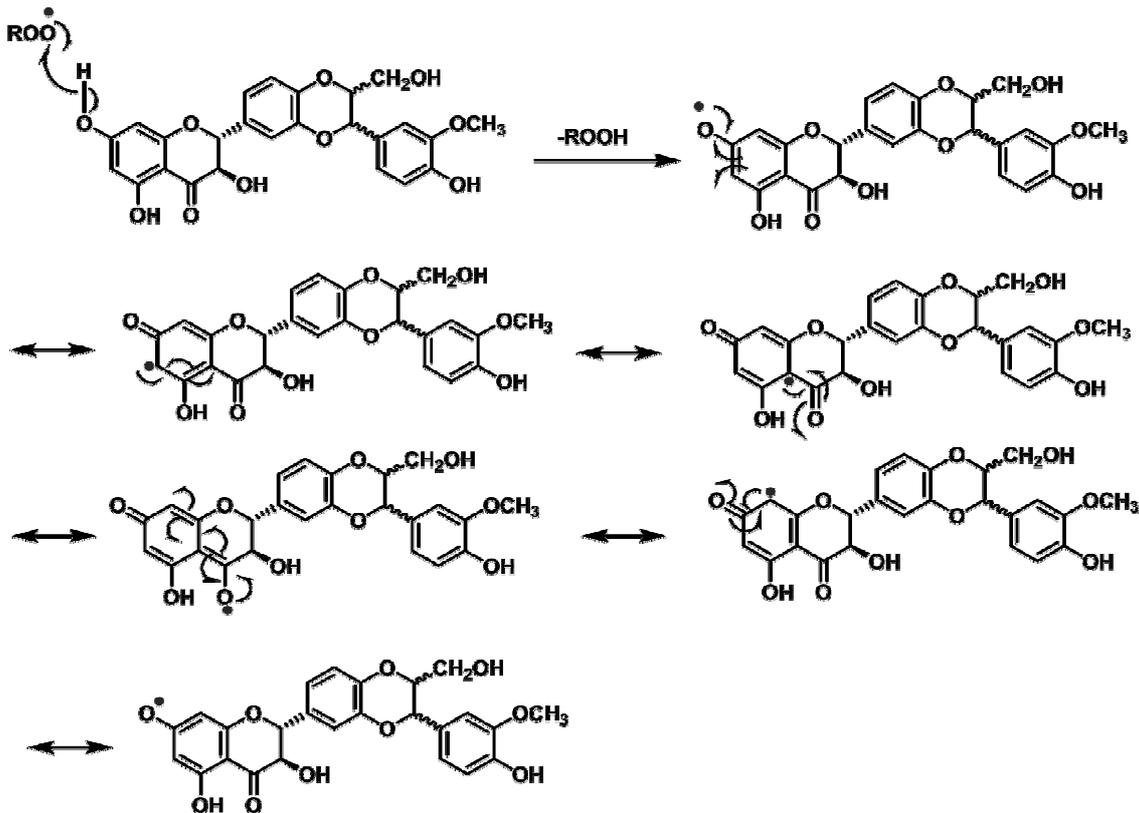
De los tres hidroxilos fenólicos presentes en la estructura de la silibina, los de la posición C-7 y C-20 son los únicos que captan radicales libres; el hidroxilo fenólico de C-5 es de alguna manera excepcional debido a su fuerte enlace de hidrógeno con el

grupo C=O adyacente, que está conjugado con el anillo aromático, lo que le inhabilita para la función de captar radicales libres:

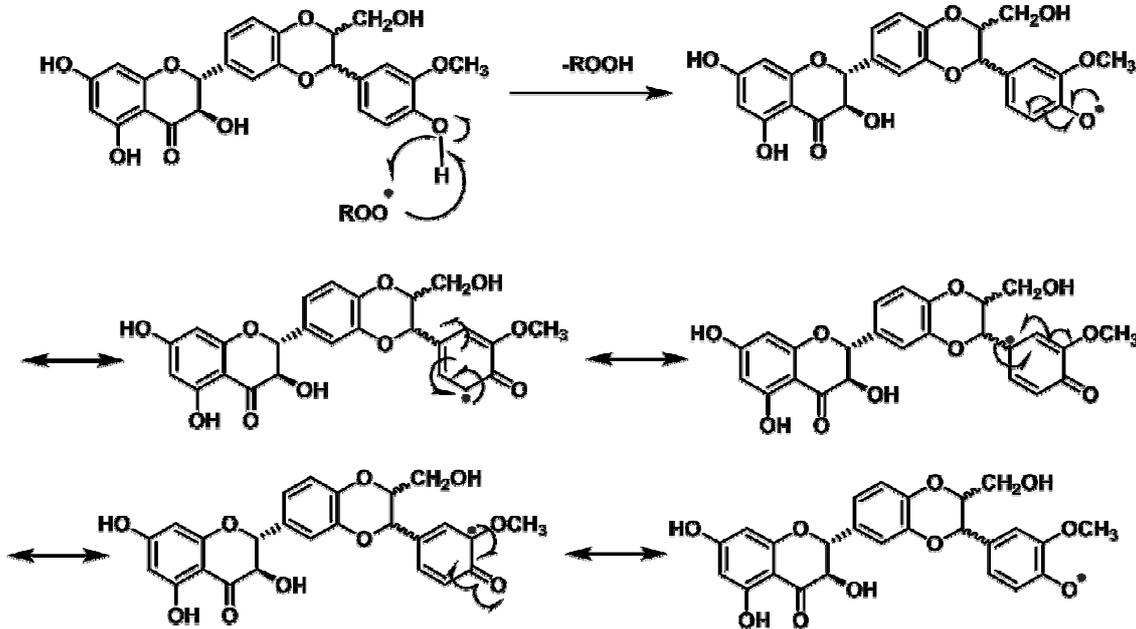


5

Es más estable el radical que se forma con el OH de la posición 7, porque la conjugación se extiende al anillo aromático y al carbonilo.



10 Respecto al radical con OH de la posición 20, la deslocalización solo ocurre en el anillo aromático.



De forma general, en el organismo se forman especies oxidantes que pueden dañar los lípidos, las proteínas y el DNA de nuestras células. El efecto antioxidante de los flavanolignanos ha sido ampliamente demostrado en numerosos estudios y se debe a mecanismos de actuación sobre los tres niveles antioxidantes del organismo, tanto de forma directa (actúan sobre los radicales libres) como indirecta (impiden la formación y propagación de los mismos).

10

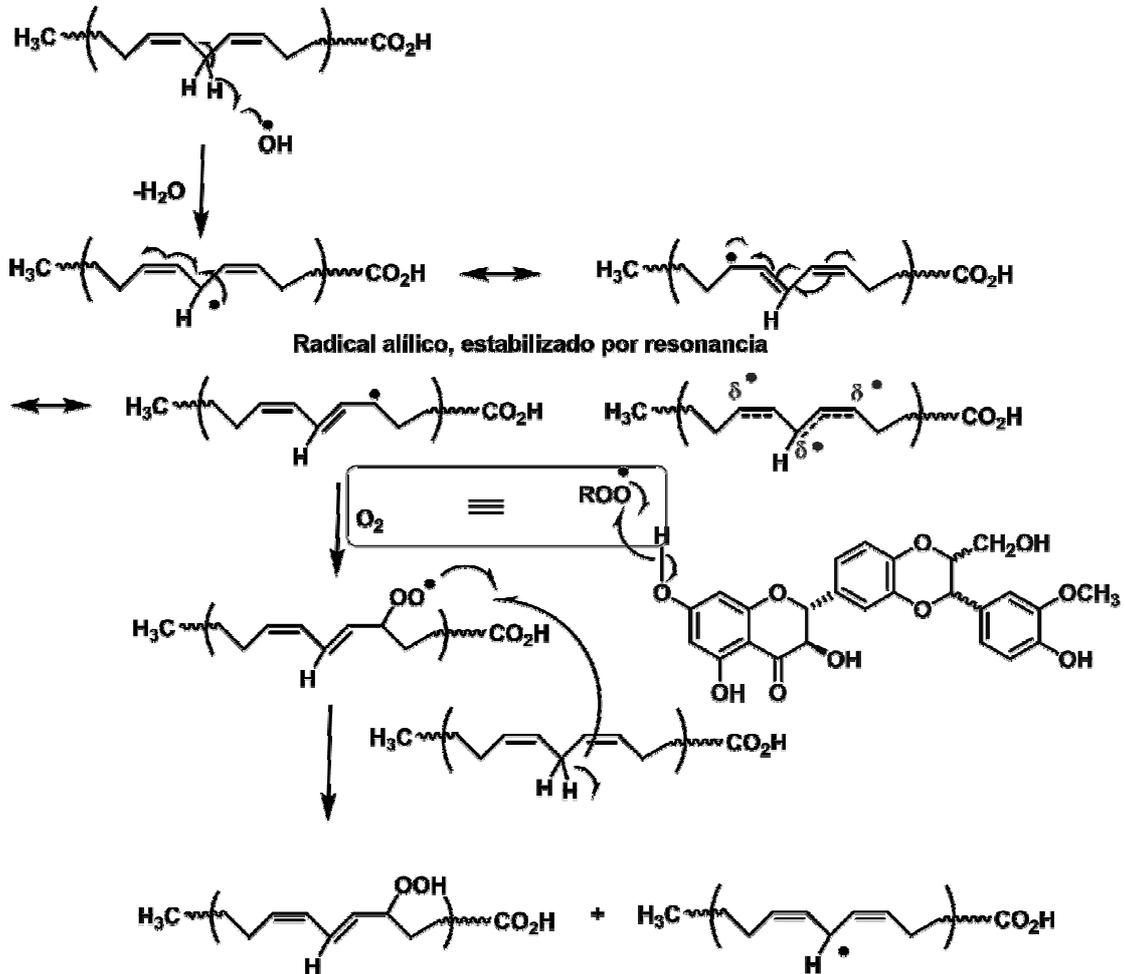
En condiciones normales, las células metabolizan la mayor parte del oxígeno (O_2) con la formación de agua sin generar intermediarios tóxicos, mientras que un pequeño porcentaje (sobre el 5%) forma tres intermediarios altamente tóxicos, dos de los cuales son literalmente radicales libres (el anión superóxido y el hidroxilo). Niveles bajos de antioxidantes o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan lo que se denomina estrés oxidativo y su presencia en el organismo puede dañar o matar las células.

15

Las células están rodeadas por una membrana que las separa del medio extracelular. La estructura básica de todas las membranas biológicas es la bicapa lipídica, que funciona como una barrera de permeabilidad selectiva. Éstas son ricas en ácidos grasos poliinsaturados y por lo tanto vulnerables al ataque de radicales libres que traen como consecuencia la peroxidación lipídica. Generalmente se induce por un radical hidroxilo, que sustrae un hidrógeno de la cadena lateral de un ácido graso

20

formando un radical carbonado, lo que genera una cadena de reacciones oxidativas como se ve en el esquema siguiente:



5

La sibilina es antioxidante debido a los grupos hidroxilo fenólicos que posee, que capturan los radicales libres para generar el radical flavínico (esquema anterior, donde se representaba la deslocalización del radical a lo largo de la molécula), que es mucho menos reactivo, ya que en él los electrones desapareados están más deslocalizados.

10 De esta forma se previene el proceso de peroxidación de lípidos, depurando especies reactivas de oxígeno antes de que puedan dañar las células.

Se ha comprobado aquí cómo la silimarina inhibe la peroxidación lipídica, pero se ha visto que también activa las enzimas antioxidantes que evitan la degradación del ADN

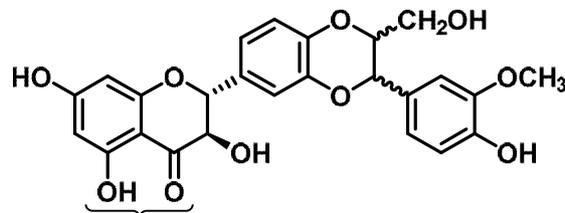
15

y es efectivo frente a la oxidación de lipoproteínas de baja densidad LDL (denominado

vulgarmente colesterol malo), entre otras. Dentro de las actividades que realiza de forma indirecta, se resaltan:

5 - Aumenta la actividad de los eritrocitos, con el consiguiente incremento en la cantidad de oxígeno que los tejidos reciben;

10 - Tiene capacidad de quelar iones de metales de transición como hierro y cobre libres, que catalizan reacciones de peroxidación de los ácidos grasos y fosfolípidos que constituyen las membranas celulares. La siguiente imagen explicita este comportamiento:



quelacion con
iones metálicos
tales como
(Fe²⁺, Cu⁺)

15 - Induce la síntesis de glutatión (principal agente antioxidante de las células, en concreto un péptido formado por tres aminoácidos, glutamato, cisteína y glicina), aumentando la disponibilidad de cisteína, esencial para su síntesis;

20 - Evita la disminución de glutatión en situaciones de estrés, reduciendo así el daño hepático. Se detecta la disminución de marcadores del daño como son el aspartato aminotransferasa (AST), la alanina aminotransferasa (ALT) y la peroxidación de ácidos grasos;

25 - Mantiene en la célula un balance redox óptimo, de especial importancia en la mitocondria, donde más especies reactivas de oxígeno (ROS) se generan. Impide la formación de ROS ya que contribuye al funcionamiento de la cadena de transporte de electrones. Esta actividad se atribuye también a la silibina, principal componente de la silimarina;

- Evita la formación de ROS al inhibir enzimas que los forman, como la Xantina oxidasa o la NADPH oxidasa; y

5 - Promueve la activación de los vitagenes. Este término surgió en 1998 y se refiere a una familia de genes encargados del mantenimiento de la homeostasis celular en situaciones de estrés. Varios estudios muestran que la silimarina puede actuar activando diferentes puntos de esta red de vitagenes.

10 La inducción de los mecanismos explicados se traduce en un efecto protector del DNA, las proteínas y los lípidos frente a la oxidación y formación de radicales libres, que provoca alteraciones estructurales en la funcionalidad de estas moléculas e inducen finalmente la aparición de varios tipos de patologías.

15 Simultáneamente, se ha descrito un efecto antiinflamatorio de la silimarina en el tejido hepático, en el páncreas o en la enfermedad inflamatoria intestinal. Existe suficiente evidencia de que regula varios mediadores inflamatorios como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), los antagonistas de los receptores de interleucina (IL-1 β , IL-6 e IL-1) y el óxido nítrico. Además, reduce la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos, dos potentes quimioatrayentes neutrófilos, inhibe la ciclooxigenasa II, reduce la actividad citotóxica, la proliferación de CD8 y disminuye el secuestro de neutrófilos en el punto donde se produce la inflamación.

25 El estrés oxidativo y la inflamación se consideran las principales vías que contribuyen a la patogénesis diabética. La administración de silimarina reduce los niveles de citocinas inflamatorias (TNF- α e IL-1 β) y los mediadores del estrés oxidativo como la actividad mieloperoxidasa, peroxidación lipídica, carbonilo y contenido de tiol del tejido pancreático de una manera casi dependiente de la dosis.

30 Además, la silimarina posee propiedades antifibróticas. La fibrosis tiene dos causas: la inflamación y el estrés oxidativo, que se desencadenan por diferentes factores. En numerosos ensayos se han estudiado los mecanismos por los cuales la silimarina es capaz de inhibir esta fibrosis:

- Reduce la inflamación al antagonizar la liberación de leucotrienos en las células;

- Inhibe la liberación de citoquinas como TNF- α , adhesinas como E-selectina, óxido nítrico (NO) y 5-lipooxigenasa;
- Retrasan la activación de las células estrelladas al inhibir la activación de NF-kB y α -SMA, retrasando su transformación en miofibroblastos;
- 5 - Reducen la expresión de componentes de la matriz extracelular como progocolageno- α , colágeno y fibronectina; y
- Modifican la expresión de diferentes genes relacionados con la organización del citoesqueleto y con las metaloproteinasas de la matriz extracelular (TIMPs) (enzimas que degradan componentes de la matriz extracelular) al reducir la
- 10 expresión TGF- β .

El análisis que aquí se ha presentado se puede resumir de forma muy abreviada en que la acción antioxidante y antiinflamatoria que posee la silimarina es capaz de prevenir la aparición de enfermedades como la diabetes, pero también inducir su

15 recuperación a través de la regeneración progresiva de las células β .

Ejemplos

Ejemplo 1: Procedimiento de obtención del solvente eutéctico profundo de origen natural (NADES) de acuerdo con la presente invención compuestos farmacéuticos de acuerdo con la presente invención

20

El proceso de síntesis se inicia con la preparación del NADES. Se pesan 92 gramos de glicerol, 18 gramos de agua, se mezclan y se calientan a 60°C. Posteriormente se pesan 9 gramos del aminoácido arginina y se añaden al complejo anterior bajo fuerte

25 agitación. Este sistema se mantiene agitado durante 5 minutos, a esa misma temperatura.

La composición obtenida y sus propiedades se han ilustrado en la Descripción de la invención.

30

Ejemplo 2: Procedimiento de obtención de compuesto farmacéutico de acuerdo con la presente invención, a partir del NADES preparado en el Ejemplo 1

Una vez producido el NADES, que es el agente vehiculizante, se procede a mezclar el extracto de silimarina de forma progresiva bajo alta agitación con dicho NADES, a la

35 misma temperatura que este se obtuvo, en una proporción 1:15 (silimarina:NADES) en

peso. Esta agitación se mantiene también durante 5 minutos, hasta completar la total disolución de la silimarina.

5 La composición farmacéutica obtenida y sus propiedades se han ilustrado en la Descripción de la invención, donde se muestran ejemplos ilustrativos de las macromoléculas que se forman entre los componentes por puentes de hidrógeno.

Ejemplo 3: Tratamiento de la diabetes con el compuesto farmacéutico preparado en el Ejemplo 2

10 Se llevó a cabo un ensayo a pequeña escala con seis pacientes, dos con diabetes tipo I y cuatro con diabetes tipo II, con edades comprendidas entre 50 y 75 años, habiéndose observado una disminución de la hemoglobina glicosada de 0,5% cada tres meses, así como una estabilización del nivel de glucosa en torno a 130 mg/dl (en ayunas) después de 30 días de tratamiento, cuando inicialmente estaban en valores
15 superiores a 250 mg/dl.

REIVINDICACIONES

1. Un solvente eutéctico profundo de origen natural, caracterizado por que se compone de agua, glicerina y un aminoácido que es arginina en una relación molar comprendida entre 1:1:0,05 hasta 2:1:0,05, que presenta complejos macromoleculares en disolución formados mediante interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina, el agua y los grupos carboxilo y guanidinio de la arginina, y donde la glicerina y la arginina son compuestos aceptores y donadores de enlaces de hidrógeno a la vez.
2. Un método de preparación del solvente eutéctico profundo de origen natural definido según la reivindicación 1, caracterizado por que comprende:
- precalentar agua y glicerina a una temperatura comprendida entre 50°C y 65°C, en una proporción molar comprendida entre 1:1 y 2:1; y
 - mezclar la mezcla precalentada en la anterior etapa con la arginina en una proporción molar de agua:glicerina:arginina comprendida entre 1:1:0,05 y 2:1:0,05, hasta formar complejos macromoleculares en disolución mediante interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina, el agua y los grupos carboxilo y guanidinio de la arginina.
3. El método de preparación del solvente eutéctico profundo de origen natural según la reivindicación 2, donde la temperatura a la que se precalienta la mezcla de glicerina y agua es de 60°C.
4. Uso del solvente eutéctico profundo de origen natural definido según la reivindicación 1, como agente vehiculizante de compuestos bioactivos en la formación de composiciones farmacéuticas.
5. Una composición farmacéutica caracterizada por que comprende:
- un agente bioactivo que es silimarina o una cualquiera de sus moléculas constituyentes; disuelto en
 - un agente vehiculizante que es un solvente eutéctico profundo de origen natural que se compone de agua, glicerina y un aminoácido que es arginina en una relación molar comprendida entre 1:1:0,05 hasta 2:1:0,05, que presenta

complejos macromoleculares en disolución formados mediante interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina, el agua y los grupos carboxilo y guanidinio de la arginina, y donde la glicerina y la arginina son compuestos aceptores y donadores de enlaces de hidrógeno a la vez;

5

en una proporción de silimarina y agente vehiculizante comprendida entre 1:10 y 1:25 en peso, donde la composición farmacéutica es una disolución de complejos macromoleculares formados mediante interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina, el agua, los grupos carboxilo y guanidinio de la arginina y los grupos hidroxilo fenólicos de la silimarina.

10

6. La composición farmacéutica según la reivindicación 5, donde la proporción de silimarina y agente vehiculizante es de 1:15 en peso.

15

7. La composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 5 ó 6, donde el agente activo es uno o más constituyentes de la silimarina seleccionados dentro del grupo formado por: silibinina, isosilibinina, silicristina y silidianina.

20

8. La composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, que está diluida en agua en una proporción en peso comprendida entre 1:1 a 1:100.

9. Un método de obtención de la composición farmacéutica definida según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, caracterizado por que comprende:

25

- mezclar y dispersar la silimarina en el solvente eutéctico profundo de origen natural, mediante agitación durante al menos 3 minutos a una temperatura comprendida entre 50°C y 65°C, en una proporción de silimarina y solvente eutéctico profundo comprendida entre 1:10 y 1:25 en peso, hasta formar complejos macromoleculares en disolución mediante al menos interacciones intermoleculares débiles por enlaces de puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la glicerina y los grupos hidroxilo fenólicos de la silimarina.

30

10. El método de obtención de la composición farmacéutica según la reivindicación 9, donde la temperatura es de 60°C.

35