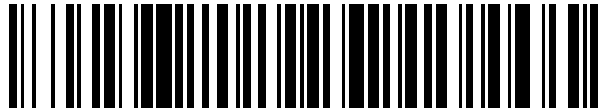


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 550 453**

51 Int. Cl.:

**C07J 9/00**

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.08.2007 E 07113916 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.09.2015 EP 1903050**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de ácidos colánicos**

30 Prioridad:

**12.09.2006 IT MI20061735**

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

**10.11.2015**

73 Titular/es:

**DIPHARMA FRANCIS S.R.L. (100.0%)  
VIA BISSONE, 5  
20021 BARANZATE (MI), IT**

72 Inventor/es:

**ALLEGRINI, PIETRO;  
SCUBLA, TIZIANO;  
GORASSINI, FAUSTO y  
FINCO, ANDREA**

74 Agente/Representante:

**LAZCANO GAINZA, Jesús**

**ES 2 550 453 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

Procedimiento para la preparación de ácidos colánicos

## 5 Campo de la invención

10 La presente invención se relaciona con un nuevo proceso para la preparación de ácidos colánicos, en particular (ácido 3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ )-3,7-dihidroxicolan-24-oico (conocido además como ácido quenodesoxicólico) y (ácido 3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,6 $\alpha$ )-3,6-dihidroxicolan-24-oico (conocido además como ácido hiodesoxicólico), de la bilis porcina. Dichos ácidos son útiles como ingredientes farmacéuticos biológicamente activos como y productos intermedios para la preparación de ingredientes farmacéuticos.

Antecedentes tecnológicos

15 Un número de procesos para la preparación de ácidos hiodesoxicólicos y quenodesoxicólicos a partir de la bilis porcina son conocidos, por ejemplo los descritos en las patentes US 2.758.120, US 3.006.927 y US 5.349.074. Sin embargo, los métodos conocidos hasta la fecha son complejos, por lo tanto, poco adecuados a escala industrial, ni garantizan los productos deseados con una pureza suficiente para el uso directo en la terapia o como intermedios en la preparación de otros productos farmacéuticos activos, tales como el ácido ursodesoxicólico.

## 20 Resumen de la invención

25 Se ha descubierto un nuevo proceso para la separación de ácidos colánicos, en particular (ácido 3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ )-3,7-dihidroxicolan-24-oico (conocido además como ácido quenodesoxicólico) y (ácido 3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,6 $\alpha$ )-3,6-dihidroxicolan-24-oico (conocido además como ácido hiodesoxicólico), a partir de la bilis porcina, que comprende:

- 30 a) hidrólisis de bilis porcina con un hidróxido de álcali;  
 b) recuperación de una mezcla cruda sin refinar de sales de ácidos colánicos mediante extracciones sucesivas a pH controlado;  
 c) separación de estos por cromatografía; y  
 d) recuperación de los ácidos en forma purificada.

35 La presente invención proporciona un proceso simple, industrialmente aplicable para la recuperación de los ácidos colánicos deseados, en particular los ácidos hiodesoxicólico y quenodesoxicólico, en forma adecuada tanto como principios activos farmacéuticos y como intermedios para la preparación de otros principios activos farmacéuticos.

Descripción detallada de la invención

40 Un objetivo de la invención es un proceso para la preparación de ácidos biliares de alta pureza, en particular (ácido 3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,6 $\alpha$ )-3,6-dihidroxicolan-24-oico y ácido(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ )-3,7-dihidroxicolan-24-oico, que comprende:

- 45 a) hidrólisis de bilis porcina con un hidróxido de álcali;  
 b) recuperación la mezcla cruda de sales de ácidos colánicos mediante extracciones sucesivas a pH controlado;  
 c) separación de estos por cromatografía; y  
 d) recuperación de los ácidos en forma purificada.

50 La bilis porcina usada como materia prima puede tener un contenido de agua de aproximadamente 10 a 80 %, y contiene ácidos colánicos, en particular los ácidos hiodesoxicólico, quenodesoxicólico e hiocólico, en forma de conjugados de taurina. Alternativamente, la bilis porcina concentrada puede usarse, que se diluye después hasta un contenido total de sólidos (11 % - 12 %) similar al de la bilis fresca.

55 La hidrólisis de los ácidos colánicos puede llevarse a cabo mediante el tratamiento con hidróxidos alcalinos, típicamente hidróxidos de sodio o potasio, preferentemente hidróxido de sodio, en cantidades en el intervalo de 5% a 20% del peso de la bilis, preferentemente de 8 % a 12 %. La reacción puede llevarse a cabo mediante reflujo de la mezcla por un tiempo de 10 a 30 horas, preferentemente de 18 a 22 horas.

60 La mezcla cruda de ácidos colánicos, en forma de las sales de álcali correspondientes, puede recuperarse mediante extracciones sucesivas, típicamente dos, con un solvente a pH controlado. En particular, la mezcla se acidifica hasta pH en el intervalo de 3 a 6, preferentemente de 4 a 5, con un ácido mineral, por ejemplo, ácido clorhídrico, y después se extrae con un a solvente inmiscible en agua, típicamente un solvente éster, tal como acetato de etilo, acetato de butilo o acetato de isopropilo, preferentemente acetato de etilo. La fase orgánica que contiene los productos como los ácidos libre y algunos subproductos se trata después con agua y la mezcla se alcaliniza hasta pH en el intervalo de 9 a 13, preferentemente de 10 a 12, mediante la adición de una solución de hidróxido de sodio. La mezcla de ácidos colánicos, en forma de las sales de sodio correspondientes, se extrae después en la fase acuosa mientras que los subproductos permanecen en la fase orgánica. La fase acuosa se separa y se usa directamente en la etapa posterior.

La separación de los ácidos colánicos, es decir, ácido hiodesoxicólico y ácido quenodesoxicólico, en forma salificada, se puede llevar a cabo por medio de procedimientos cromatográficos, por ejemplo, por elución en una columna que contiene una fase estacionaria. Dicha fase estacionaria puede ser, por ejemplo, una resina de intercambio iónico, por ejemplo, una resina catiónica fuerte, resina catiónica débil, resina aniónica fuerte, resina aniónica débil, o una resina adsorbente, como Amberlite<sup>®</sup>, Polyclar<sup>®</sup>, Sephadex<sup>®</sup>, una resina DIAION<sup>®</sup>, particularmente DIAION<sup>®</sup> HP 20 SS. La fase móvil puede ser agua, un alcohol de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, preferentemente metanol, o mezclas de estos. La elución puede ser isocrática o en gradiente, y preferentemente es en gradiente agua-metanol, de 100 % de agua a 100 % de metanol. De esta forma, se obtienen las fracciones que contienen la sal sódica de ácido quenodesoxicólico puro y las fracciones que contienen una mezcla de las sales sódicas de los ácidos hiodesoxicólico e hiocólico.

Los ácidos quenodesoxicólico e hiodesoxicólicos de alta pureza pueden recuperarse a partir de las respectivas fracciones como se indica en la presente descripción más abajo.

Como para el ácido quenodesoxicólico, las fracciones se tratan con una cantidad de ácido orgánico carboxílico, por ejemplo, ácido acético, suficiente para liberar la sal de sodio y se evapora hasta obtener un residuo. El residuo se trata con una mezcla de solvente caliente capaz de disolver el ácido quenodesoxicólico; típicamente a una temperatura en el intervalo de 30 a 60 °C, preferentemente de 45 a 55 °C; por ejemplo, una mezcla acetato de etilo/tolueno en una relación en el intervalo de 1:1 a 1:10, preferentemente 1:5. El material no disuelto se filtró y la solución resultante se enfrió para cristalizar el ácido quenodesoxicólico con una pureza igual a o mayor que 99 %.

Como para el ácido hiodesoxicólico, las fracciones se evaporaron hasta un residuo. El residuo se disolvió en agua, se basificó hasta pH > 12 con hidróxido de potasio, típicamente 90 %, y se trató mientras estaba caliente, a una temperatura en el intervalo de 30 a 60 °C, preferentemente de 45 a 55 °C, con una solución de sulfato de magnesio. La sal de magnesio del ácido hiodesoxicólico formada cristaliza y precipita de la solución después del enfriamiento. El producto se suspende en agua y se recupera por filtración. La mezcla se acidifica hasta pH de alrededor de 2, y después se trata mientras está caliente, típicamente a una temperatura en el intervalo de 30 a 60 °C, preferentemente de 45 a 55 °C, con un solvente capaz de disolver el ácido hiodesoxicólico caliente, por ejemplo, acetato de etilo. La fase orgánica resultante se separa y se enfría para cristalizar el ácido hiodesoxicólico con una pureza igual a o mayor que 99 %.

La invención proporciona por ello un proceso para la preparación y la purificación de ácidos biliares, en particular ácido hiodesoxicólico y quenodesoxicólico, que puede obtenerse con alto nivel de pureza, típicamente igual o superior a 99 %, en particular igual o superior a 99,9 %.

El ácido quenodesoxicólico resultante puede usarse como tal en terapia, o de forma análoga al ácido hiodesoxicólico se puede convertir en el ácido ursodesoxicólico, que se usa en la terapia también, de acuerdo con procedimientos conocidos.

#### 40 Ejemplo

1000 g de bilis porcina se sometieron a reflujo por 20 horas con 100 g de hidróxido de sodio. La mezcla se enfrió a una temperatura de 70°C y se añadió con 240 g de acetato de etilo y 6 g de peróxido de hidrógeno. La mezcla de color verde pálido formado se acidificó a pH 4-5 con 130 g de ácido clorhídrico al 37 %. Las dos fases se separaron. La fase orgánica se añadió con 140 g de agua y la solución se alcalinizó a pH 11 con 67 g de hidróxido de sodio 35 %.

La fase acuosa se separó de la fase orgánica por medio de un embudo separador. La fase acuosa que contenía los ácidos colánicos salificados se eluyó sobre una resina DIAION<sup>®</sup> HP 20SS, usando un gradiente de solvente para proporcionar la separación (agua - agua\metanol - metanol).

La elución en la resina proporciona la separación completa de la sal sódica del ácido quenodesoxicólico a partir de una mezcla que contiene sales sódicas del ácido hiocólico e hiodesoxicólico.

Las fracciones que contenían la sal del ácido quenodesoxicólico se combinaron, se trataron con una cantidad de ácido acético suficiente para liberar la sal sódica y se evaporaron hasta un residuo. El sólido resultante se disuelve después en una mezcla 1 : 5 de acetato de etilo / tolueno. El residuo insoluble mientras estaba caliente se filtró y la solución resultante se enfrió para promover la cristalización del producto. El precipitado formado se filtró y secó al vacío. Se obtuvieron 20 g de ácido quenodesoxicólico con una pureza HPLC 99,9 %.

Las fracciones que contenían la mezcla de sales sódicas de los ácidos hiodesoxicólico e hiocólico se evaporaron a presión reducida, el residuo se tomó en 500 g de agua, se agitó mecánicamente y se calentó hasta una temperatura interna de 50 °C. Se añadió una solución de 90 % de hidróxido de potasio a pH 12. Después de eso, se goteó una solución acuosa de sulfato de magnesio en la misma. La solución se enfrió, el precipitado formado se filtró y secó a 50-60°C al vacío. El precipitado consistió en sal de magnesio del ácido hiodesoxicólico, el cual se colocó en un reactor junto con 200 g de agua y 600 g de acetato de etilo; la mezcla se calentó hasta una temperatura interna de 55 °C y se

## ES 2 550 453 T3

añadió ácido sulfúrico al 35 % a pH 2. Las fase se separaron, y la fase orgánica se enfrió hasta 0/-5 °C. El precipitado blanco formado se filtró y secó al vacío a 50 °C. Se obtuvieron 24 g de ácido hiodesoxicólico, con una pureza HPLC de 99,9 %.

## Reivindicaciones

- 5
1. Proceso para la separación de (ácido  $3\alpha,5\beta,7\alpha$ )-3,7-dihidroxicolan-24-oico y ácido ( $3\alpha,5\beta,6\alpha$ )-3,6-dihidroxicolan-24-oico a partir de bilis porcina, que comprende:
- 10
- a) hidrólisis de bilis porcina con un hidróxido de álcali;  
 b) recuperación de una mezcla cruda sin refinar de sales de ácidos colánicos mediante extracciones sucesivas a pH controlado;  
 c) separación de estos por cromatografía; y  
 d) recuperación de los ácidos en forma purificada.
- 15
2. Un proceso como el reivindicado en la reivindicación 1 etapa b), en donde en una primera extracción la mezcla se acidifica hasta un pH en el intervalo de 3 a 6.
- 20
3. Un proceso como el reivindicado en la reivindicación 2, en donde el solvente de extracción es un solvente de éster.
4. Un proceso como el reivindicado en la reivindicación 1 etapa b), en donde la mezcla de ácidos colánicos, en forma de la sal sódica correspondiente, se somete a una extracción posterior en fase acuosa.
- 25
5. Un proceso como el reivindicado en la reivindicación 1 etapa c), en donde la fase estacionaria en la cromatografía es una resina de intercambio iónico o una resina de adsorción.
6. Un proceso como el reivindicado en la reivindicación 1 etapa c), en donde en la cromatografía la fase móvil es agua, un alcohol de  $C_1$ - $C_6$  o mezclas de estos.
- 30
7. Un proceso como el reivindicado en la reivindicación 6, en donde la elución es en gradiente agua-metanol, en el intervalo de 100 % agua a 100 % metanol.
- 35
8. Un proceso como el reivindicado en la reivindicación 1 etapa d), en donde el ácido ( $3\alpha,5\beta,7\alpha$ )-3,7-dihidroxicolan-24-oico se recupera mediante un proceso que comprende el tratamiento con un ácido carboxílico, tratamiento con una mezcla solvente capaz de disolver el ácido ( $3\alpha,5\beta,7\alpha$ )-3,7-dihidroxicolan-24-oico a una temperatura en el intervalo de 30 a 60°C, y cristalización del ácido.
- 40
9. Un proceso como el reivindicado en la reivindicación 8, en donde la mezcla de solvente consiste en acetato de etilo y tolueno.
10. Un proceso como el reivindicado en la reivindicación 1 etapa d), en donde el ácido ( $3\alpha,5\beta,6\alpha$ )-3,6-dihidroxicolan-24-oico se recupera mediante un proceso que comprende la formación de su sal de magnesio, tratamiento con un solvente capaz de disolver el ácido ( $3\alpha,5\beta,6\alpha$ )-3,6-dihidroxicolan-24-oico a una temperatura en el intervalo de 30 a 60°C, y cristalización del ácido.
- 45
11. Un proceso como el reivindicado en la reivindicación 10, en donde el solvente es acetato de etilo.
12. Un proceso para la separación del ácido ( $3\alpha,5\beta,6\alpha$ )-3,6-dihidroxicolan-24-oico y del ácido ( $3\alpha,5\beta,7\alpha$ )-3,7-dihidroxicolan-24-oico con un grado de pureza igual a o mayor que 99 %, en donde el proceso se lleva a cabo de acuerdo con cada una de las reivindicaciones anteriores.
- 50
13. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes que comprende además la conversión del ácido ( $3\alpha,5\beta,7\alpha$ )-3,7-dihidroxicolan-24-oico o el ácido ( $3\alpha,5\beta,6\alpha$ )-3,6-dihidroxicolan-24-oico al ácido ( $3\alpha,5\beta,7\beta$ )-3,7-dihidroxicolan-24-oico.