

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 650 914**

51 Int. Cl.:

C07J 43/00 (2006.01)

A61K 31/58 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.10.2012** **PCT/EP2012/070588**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.04.2013** **WO13057148**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2012** **E 12775237 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.09.2017** **EP 2768841**

54 Título: **Sales de adición de ácidos de 5alfa-hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]coleston-3beta-ol**

30 Prioridad:

18.10.2011 EP 11306346

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.01.2018

73 Titular/es:

**INSERM (INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET
DE LA RECHERCHE MÉDICALE) (50.0%)
101 Rue de Tolbiac
75013 Paris, FR y
AFFICHEM (50.0%)**

72 Inventor/es:

**POIROT, MARC;
POIROT, SANDRINE;
DE MEDINA, PHILIPPE y
PAILLASSE MICHAËL**

74 Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

ES 2 650 914 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

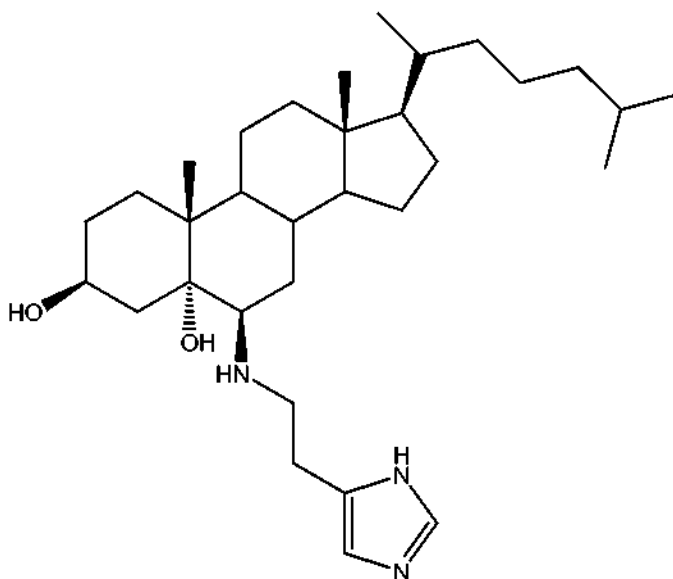
Sales de adición de ácidos de 5alfa-hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol

5 Sector de la Técnica

La presente invención se refiere a sales de adición de ácidos de 5α-hidroxi-6β-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3β-ol, a su preparación y a aplicaciones de las mismas.

10 Estado de la técnica

El compuesto farmacéuticamente activo 5α-hidroxi-6β-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3β-ol se conoce bajo el nombre Dendrogenina A. Su fórmula estructural es la siguiente:



Dendrogenina A

La Dendrogenina A se divulga en el documento WO03/89449 y en Medina et al (J. Med. Chem., 2009) en forma de la base libre. La solubilidad en agua de la base libre es de 0,47 mg/ml.

Sin embargo, hasta ahora nunca se habían desvelado las sales de adición de ácidos de Dendrogenina A reivindicadas en la presente invención.

25 Objeto de la invención

La presente invención se refiere a las sales de adición de ácidos específicas de Dendrogenina A como se reivindican en el presente documento, que poseen una considerable solubilidad en agua (hasta 130 veces mayor que la solubilidad de la base libre).

Gracias a su extraordinaria solubilidad, se espera que las sales de la presente invención tengan más biodisponibilidad que la base libre cuando se inyectan, permitiendo así la administración de dosis superiores.

Las sales de la presente invención son sales de adición de ácidos de 5α-hidroxi-6β-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3β-ol formadas con un ácido seleccionado del grupo que consiste en ácido L-láctico (ácido 2(S)-hidroxipropanoico), ácido malónico, ácido L-málico, ácido D-tartárico y ácido L-tartárico. Las sales de la invención pueden tener una solubilidad en agua comprendida entre 1 y 70 mg/ml, en particular entre 1,4 y 65 mg/ml, más específicamente:

- entre 35 y 65 mg/ml, tales como las sales formadas con ácido L-láctico, ácido malónico, ácido L-málico o ácido tartárico (D o L).

Las sales de la invención pueden prepararse reacción de Dendrogenina A en forma de la base libre con uno de los ácidos listados anteriormente. El disolvente usado para la reacción puede ser, por ejemplo, etanol, agua o tolueno. Puede calentarse o calentó durante la reacción. La sal resultante puede recuperarse de acuerdo con métodos bien conocidos por el experto en la materia.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una de las sales de adición de ácidos de Dendrogenina A mencionadas anteriormente.

- 5 La presente invención también se refiere a una de las sales de adición de ácidos de Dendrogenina A mencionadas anteriormente para uso en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, cánceres o para activar el sistema inmunitario de un paciente.

Descripción detallada de la invención

- 10 Los siguientes Ejemplos ilustran la preparación de sales de adición de ácidos de Dendrogenina A de acuerdo con la presente invención y otras sales, no cubiertas por las presentes reivindicaciones, y se incluyen con fines de comparación.

15 Comparativo

Ejemplo 1: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, clorhidrato:

- 20 Se añade ácido clorhídrico acuoso (0,9 g, 37 %) a una solución de 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol (5,14 g, 10 mmol) en etanol (10 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo resultante se recrystaliza en metanol. El producto se retira por filtración y se recrystaliza en etanol para proporcionar, después del filtrado y el secado, 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, clorhidrato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 77,11; H, 10,40; N, 7,79; Cl, 6,58 %. H₂O, 1,75 %. Calculado para C₃₆H₅₆ClN₃O₂·0,52H₂O: C, 77,09; H, 10,37; N, 7,78; Cl, 6,57 %. H₂O, 1,73 %.

Ejemplo 2: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, L-tartrato:

- 30 Se añade 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol (5,4 g, 10 mmol) a una solución de ácido (2R,3R)-2,3-dihidroxibutanodioico (ácido L-(+)-tartárico; Fluka; 1,5 g 10 mmol) en etanol (40 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo resultante se recrystaliza en metanol. El producto se retira por filtración y se recrystaliza para proporcionar, después del filtrado y el secado, 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etil-amino]colestan-3beta-ol, tartrato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 66,61; H, 9,42; N, 6,48 %. H₂O, 2,23 %. Calculado para C₃₆H₆₁N₃O₈·0,8H₂O: C, 66,60; H, 9,46; N, 6,48 %. H₂O, 2,22 %.

Ejemplo 3: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, L-malato:

- 40 Se añade 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol (5,4 g, 10 mmol) a una solución de ácido (2S)-(-)-hidroxibutanoico (ácido L-(-)-málico; Fluka; 1,34 g 10 mmol) en agua/Etanol (1:1) (40 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo resultante se recrystaliza en metanol. El producto se retira por filtración y se recrystaliza para proporcionar, después del filtrado y el secado, 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, malato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 67,22; H, 9,53; N, 6,51 %. H₂O, 0,65 %. Calculado para C₃₆H₆₁N₃O₇·0,23H₂O: C, 67,20; H, 9,49; N, 6,53 %. H₂O, 0,64 %.

Comparativo

50 Ejemplo 4: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, succinato:

- Se añade 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol (5,4 g, 10 mmol) a una solución de ácido butanodioico (ácido succínico; Fluka; 1,18 g 10 mmol) en Etanol (40 ml). La solución se calienta a 90 °C, se trata con agua (18 g) y se filtra. Después de la refrigeración, el producto cristaliza, se filtra y se seca para proporcionar 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, succinato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 68,99; H, 9,81; N, 6,72 %. H₂O, 0,78 %. Calculado para C₃₆H₆₁N₃O₆·0,25H₂O: C, 68,95; H, 9,74; N, 6,70 %. H₂O, 0,72 %.

Comparativo

60 Ejemplo 5: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, benzoato:

- Se añade 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol (5,4 g, 10 mmol) a una solución de ácido benzoico (Fluka; 1,22 g 10 mmol) en tolueno (40 ml). La solución se calienta y se filtra. Después de la refrigeración, el producto cristaliza, se filtra y se seca para proporcionar 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, benzoato en forma de un sólido cristalino de color

pardo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 73,73; H, 9,66; N, 6,63 %. Calculado para C₃₉H₆₁N₃O₄: C, 73,70; H, 9,61; N, 6,61 %.

Comparativo

Ejemplo 6: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol, benceno sulfonato:

Se añade 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol (5,4 g, 10 mmol) a una solución de ácido bencenosulfónico (Fluka; 1,61 g 10 mmol) en tolueno caliente (40 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo resultante se recrystaliza en etanol-acetato de etilo. El producto se retira por filtración y se seca para proporcionar 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol, bencenosulfonato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 72,80; H, 9,89; N, 5,77 %. H₂O, 1,11 %. Calculado para C₃₈H₆₁N₃O₅·0,38H₂O: C, 72,78; H, 9,85; N, 5,75 %. H₂O, 1,09 %

Comparativo

Ejemplo 7: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol, pamoato:

Una mezcla de 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol (5,4 g, 10 mmol) y 4,4'-metilenbis(ácido 3-hidroxi-2-naftoico) (Fluka; 3,88 g 10 mmol) se calienta en etanol (40 ml). Se añade agua (25 ml). Después de la refrigeración, el producto cristaliza, se filtra y se seca para proporcionar 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etil-amino]colestán-3beta-ol, pamoato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 74,96; H, 8,15; N, 4,78 %. H₂O, 2,37 %. Calculado para C₅₅H₇₁N₃O₈·1,15H₂O: C, 74,93; H, 8,08; N, 4,77 %. H₂O, 2,35 %

Comparativo

Ejemplo 8: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol, glutarato:

Una solución de ácido 1,5-pentanodioico (ácido glutárico, Fluka, 660 mg, 5 mmol) se añade a una solución de 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol (2,57 g, 5 mmol) en etanol caliente (100 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo resultante se recrystaliza en etanol. El producto se retira por filtración y se recrystaliza para proporcionar, después del filtrado y el secado, 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etil-amino]colestán-3beta-ol, glutarato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 71,09; H, 10,74; N, 6,76 %. H₂O, 3,38 %. Calculado para C₃₇H₆₃N₃O₆·1,15H₂O: C, 71,07; H, 10,68; N, 6,72 %. H₂O, 3,31 %

Ejemplo 9: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol, malonato:

Una solución de ácido 1,3-propanodioico (ácido malónico, Fluka, 520 mg, 5 mmol) se añade a una solución de 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol (2,57 g, 5 mmol) en etanol caliente (100 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo resultante se recrystaliza en etanol. El producto se retira por filtración y se recrystaliza para proporcionar, después del filtrado y el secado, 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etil-amino]colestán-3beta-ol, malonato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 69,09; H, 9,77; N, 5,95 %. H₂O, 1,53 %. Calculado para C₃₅H₅₉N₃O₆·0,51H₂O: C, 69,05; H, 9,70; N, 5,92 %. H₂O, 1,51 %

Comparativo

Ejemplo 10: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol, fumarato:

Se añade ácido (trans)-butenodioico (ácido fumárico, Fluka; 1,16 g, 10 mmol) a una solución de 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol (5,14 g, 10 mmol) en etanol (20 ml). La solución se calienta a 90 °C, se trata con agua (18 g) y se filtra. Después de la refrigeración, el producto cristaliza, se filtra y se seca para proporcionar 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol, fumarato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 68,01; H, 9,58; N, 6,63 %. H₂O, 1,05 %. Calculado para C₃₆H₅₉N₃O₆·0,36H₂O: C, 67,98; H, 6,58; N, 6,61 %. H₂O, 1,02 %.

Comparativo

Ejemplo 11: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol, sulfato:

Una solución de ácido sulfúrico (Fluka, 5 ml, 1 M) en etanol se añade a una solución de 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestán-3beta-ol (2,57 g, 5 mmol) en etanol caliente (100 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo resultante se recrystaliza en etanol. El producto se

retira por filtración y se recrystaliza en etanol para proporcionar, después del filtrado y el secado, 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, sulfato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 62,84; H, 9,39; N, 6,94 %. H₂O, 5,72 %. Calculado para C₃₂H₅₇N₃O₆S-1,92H₂O: C, 62,81; H, 9,32; N, 6,87 %. H₂O, 5,65 %

Comparativo

Ejemplo 12: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, tosilato:

Se añade 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol (5,4 g, 10 mmol) a una solución de ácido 4-metilbencenosulfónico (Tosilato, Fluka; g 10 mmol) en tolueno caliente (40 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo resultante se recrystaliza en etanol-acetato de etilo. El producto se retira por filtración y se seca para proporcionar 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, tosilato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 69,52; H, 9,39; N, 6,28 %. H₂O, 1,77 %. Calculado para C₃₉H₆₃N₃O₅S-0,64H₂O: C, 69,49; H, 9,35; N, 6,24 %. H₂O, 1,71 %

Comparativo

Ejemplo 13: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, mesilato:

Una solución de ácido metilsulfónico (ácido mesílico, Fluka, 5 ml, 1 M) en etanol se añade a una solución de 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol (2,57 g, 5 mmol) en etanol caliente (100 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo resultante se recrystaliza en etanol. El producto se retira por filtración y se recrystaliza en etanol para proporcionar, después del filtrado y el secado, 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, mesilato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 66,10; H, 9,89; N, 7,05 %. H₂O, 1,63 %. Calculado para C₃₄H₅₉N₃O₅S-0,53H₂O: C, 66,06; H, 9,84; N, 7,01 %. H₂O, 1,59 %

Comparativo

Ejemplo 14: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, acetato:

Se añade ácido acético (sigma, 0,6 g, 10 mmol) a una solución de 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etil-amino]colestan-3beta-ol (5,14 g, 10 mmol) en etanol (40 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo resultante se recrystaliza en metanol. El producto se retira por filtración y se recrystaliza en etanol para proporcionar, después del filtrado y el secado, 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, acetato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 71,52; H, 10,38; N, 7,41 %. H₂O, 0,44 %. Calculado para C₃₄H₅₉N₃O₄-0,13H₂O: C, 71,50; H, 10,34; N, 7,36 %. H₂O, 0,41 %

Comparativo

Ejemplo 15: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, citrato:

Una mezcla de 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol (5,4 g, 10 mmol) y ácido 2-hidroxiopropano-1,2,3-tricarboxílico (Fluka; 1,92 g 10 mmol) se calienta en etanol (40 ml). Se añade agua (25 ml). Después de la refrigeración, el producto cristaliza, se filtra y se seca para proporcionar 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, citrato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 66,06; H, 9,19; N, 6,12 %. H₂O, 2,11 %. Calculado para C₃₈H₆₃N₃O₉-0,78H₂O: C, 66,01; H, 9,12; N, 6,08 %. H₂O, 2,03 %

Ejemplo 16: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, L-Lactato:

Una mezcla de 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol (5,4 g, 10 mmol) y ácido 2(S)-hidroxiopropanoico (L-lactato, Fluka; 3,88 g 10 mmol) se calienta en etanol (40 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo resultante se recrystaliza en acetona-etanol. El producto se retira por filtración y se recrystaliza en acetato de etilo para proporcionar, después del filtrado y el secado, 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, lactato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 70,53; H, 10,01; N, 6,88 %. H₂O, 0,43 %. Calculado para C₃₆H₆₁N₃O₅-0,14H₂O: C, 70,50; H, 9,96; N, 6,85 %. H₂O, 0,41 %

Ejemplo 17: 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol, (D)-(-)-tartrato:

Se añade 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestan-3beta-ol (5,4 g, 10 mmol) a una solución de ácido (2S,3S)-2,3-dihidroxibutanodioico (ácido D-(-)-tartárico; Fluka; 1,5 g 10 mmol) en etanol (40 ml). La solución se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo resultante se recrystaliza en etanol. El producto se retira por filtración y se

recristaliza para proporcionar, después del filtrado y el secado, 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etil-amino]coleston-3beta-ol, -(D)-tartrato en forma de un sólido cristalino de color amarillo pálido, que tiene las siguientes propiedades analíticas: análisis encontrado: C, 67,98; H, 9,48; N, 6,63 %. H₂O, 4,29 %. Calculado para C₃₆H₆₁N₃O₈-1,51H₂O: C, 67,94; H, 9,59; N, 6,61 %. H₂O, 4,27 %.

Ejemplo 18-solubilidad en agua

La solubilidad en agua a temperatura ambiente de las sales de adición de ácidos de 5alfa-Hidroxi-6beta-[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]coleston-3beta-ol de los ejemplos 1-17 se midió de acuerdo con el siguiente método:

Se tomó una cantidad adecuada de cada muestra. Se añadió agua (50 % v/v) a cada muestra y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. El sobrenadante se filtró a través de un filtro y se diluyó con una solución mixta de TFA al 0,1 % en agua/acetonitrilo según fue necesario para dar una solución de muestra. La concentración (mg/ml) de la solución de muestra se midió por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con un método de curva de calibración, y se tomó como solubilidad en agua a temperatura ambiente.

Condiciones de análisis por HPLC:

Se realizaron purificaciones y análisis por HPLC usando un aparato Perkin Elmer LC200 series y detector UV con matriz de diodos, usando una columna Ultrasep C18 RP 100 de Bischoff Chromatography.

El análisis por HPLC se realizó usando un gradiente de acetonitrilo (40 % de B durante 8 min, después hasta B al 100 % en 20 min; A era 95:5 de agua/acetonitrilo, TFA al 0,1 %; B era 95:5 de acetonitrilo/TFA al 0,1 % en agua) con un tiempo de retención de 18,5 min. El caudal era de 1 ml/min.

Los resultados se muestran en la tabla 1. Para comparación, la solubilidad de la base libre es de 0,47 mg/ml.

Tabla 1

Ejemplo	Solubilidad en agua a temperatura ambiente (mg/ml)
1	23
2	42
3	46
4	28
5	31
6	31,5
7	1,4
8	11,2
9	55
10	16
11	18
12	24
13	11
14	4,5
15	7,9
16	65
17	37

REIVINDICACIONES

1. Una sal de adición de ácidos de 5α -hidroxi- 6β -[2-(1H-imidazol-4-il)etilamino]colestano-3 β -ol formada con un ácido seleccionado del grupo que consiste en ácido 2(S)-hidroxipropanoico, ácido malónico, ácido L-málico, ácido D-tartárico y ácido L-tartárico.
2. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y la sal de adición de ácidos de acuerdo con la reivindicación 1.
3. La sal de adición de ácidos de acuerdo con la reivindicación 1 para uso en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, cánceres o para activar el sistema inmunitario de un paciente.