(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 732 845**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/20 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.12.2014** **PCT/IL2014/051052**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **11.06.2015** **WO15083164**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2014** **E 14868582 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2019** **EP 3077047**

(54) Título: **Sales de Aramchol**

(30) Prioridad:

04.12.2013 US 201361911478 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.11.2019

(73) Titular/es:

GALMED RESEARCH & DEVELOPMENT LTD. (100.0%)
16 Ze'ev Tyomkin Street
6578317 Tel Aviv, IL

(72) Inventor/es:

BAHARAFF, ALLEN y
ESHKAR-OREN, IDIT

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 732 845 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 Aramchol

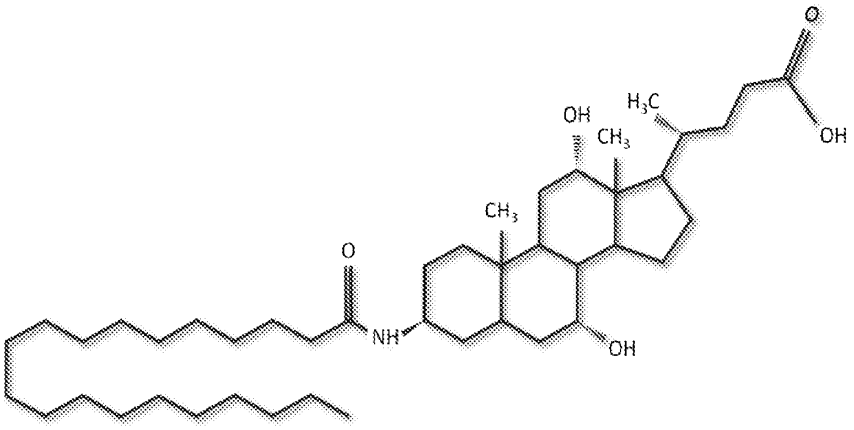
Campo de la invención

La presente invención se refiere a sales del ácido araquidilamidocolanoico (Aramchol), a composiciones farmacéuticas que comprenden las mismas, a métodos para su preparación y al uso de las mismas en un tratamiento médico.

Antecedentes de la invención

Aramchol es un conjugado de amida de ácido araquídico y ácido 3-aminocólico, eficaz para reducir el contenido de grasa hepática, así como para mejorar parámetros metabólicos asociados a la enfermedad de hígado graso. Pertenece a una familia novedosa de conjugados de ácido graso/ácido biliar (FABAC) sintéticos y está desarrollándose como tratamiento potencialmente modificador de la enfermedad para la enfermedad de hígado graso y la esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

Aramchol se denomina químicamente ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico, y se representa mediante la siguiente estructura química:



Aramchol, procedimientos para su preparación y uso del mismo se describen en los documentos U.S. 6.384.024; U.S. 6.395.722; U.S. 6.589.946; U.S. 7.501.403; U.S. 8.110.564; U.S. 2012/0214872; y el documento WO 2009/060452.

Sigue habiendo una necesidad no satisfecha de nuevas formas de Aramchol que tengan propiedades fisicoquímicas deseables.

Compendio de la invención

La presente invención proporciona nuevas sales de Aramchol, por ejemplo, sales con aminoalcoholes, aminoazúcares o aminoácidos, composiciones farmacéuticas que comprenden dichas sales, métodos para su preparación y uso de las mismas en tratamiento médico.

La presente invención se basa en parte en el descubrimiento inesperado de nuevas sales de Aramchol que tienen propiedades fisicoquímicas ventajosas. Se seleccionaron aproximadamente 30 bases farmacéuticamente aceptables en un esfuerzo por preparar sales de Aramchol con solubilidad aumentada. De estas, se encontró que las sales a base de aminas eran adecuadas y, en particular, se ha mostrado que tres sales de Aramchol, concretamente, las sales de N-metilglucamina (meglumina), lisina y trometamina, poseen propiedades ventajosas, incluyendo solubilidad aumentada, así como absorción exposición aumentadas, que se correlacionan con mayor biodisponibilidad. Por lo tanto, las sales de Aramchol de la presente invención son adecuadas para su uso farmacéutico en dosis más bajas en comparación con el ácido libre de Aramchol. Además, las nuevas sales tienen propiedades de flujo mejoradas en comparación con el ácido libre de Aramchol y, por lo tanto, pueden procesarse más fácilmente en formulaciones de dosificación sólida tales como comprimidos o cápsulas.

Según un primer aspecto, la presente invención proporciona una sal de ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico (Aramchol) con una amina. En algunas realizaciones, la amina se selecciona del grupo que consiste en amoníaco, una amina primaria, una amina secundaria, una amina terciaria, un compuesto de amonio cuaternario, un aminoalcohol, un aminoazúcar y un aminoácido. Las sales actualmente preferidas son sales de Aramchol con un aminoalcohol, aminoazúcar o aminoácido. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona sal de amonio, benzatina, trimetilglicina (betaína), etanolamina, dietanolamina, dietilamina, arginina, lisina, colina, deanol, 2-dietilaminoetanol, N-metilglucamina

(meglumina), N-etilglucamina (eglumina) o trometamina del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

En una realización actualmente preferida, la presente invención se refiere a sal de lisina del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico.

En otra realización actualmente preferida, la presente invención se refiere a sal de trometamina del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico.

En otra realización actualmente preferida, la presente invención se refiere a sal de N-metilglucamina del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico.

En otra realización, la sal del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico según la presente invención está en forma cristalina. En aun otra realización, la sal del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico según la presente invención está en forma amorfa.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para preparar la sal del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico tal como se describe en el presente documento, comprendiendo el método las etapas de: (a) mezclar ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico con una amina en presencia de un disolvente; (b) opcionalmente, calentar la mezcla hasta una temperatura igual o inferior al punto de ebullición del disolvente; (c) opcionalmente, enfriar la mezcla; y (d) aislar la sal de amina obtenida de este modo del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico.

En realizaciones alternativas, la presente invención proporciona un método para preparar la sal del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico tal como se describe en el presente documento, comprendiendo el método comprende las etapas de: (a) mezclar ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico con una amina en presencia de un disolvente; (b) opcionalmente, calentar la mezcla hasta una temperatura igual o inferior al punto de ebullición del disolvente; (c) añadir un antidisolvente; (c) opcionalmente, enfriar la mezcla; y (d) aislar la sal de amina obtenida de este modo del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico.

En algunas realizaciones, el disolvente utilizado en el procedimiento de la invención es agua. En otras realizaciones, el disolvente es un alcohol. En realizaciones particulares, el disolvente es metanol o etanol. En otras realizaciones, el disolvente es un éster de alquilo tal como acetato de etilo.

En algunas realizaciones, el antidisolvente utilizado en el procedimiento de la presente invención es una cetona tal como acetona o un éster de alquilo tal como acetato de etilo, representando cada posibilidad una realización independiente de la presente invención.

En algunas realizaciones, la amina utilizada en el procedimiento de la invención se selecciona del grupo que consiste en amoníaco, una amina primaria, una amina secundaria, una amina terciaria, un compuesto de amonio cuaternario, un aminoalcohol, un aminoazúcar y un aminoácido. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

En ciertas realizaciones, la razón entre el ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico y la amina es de aproximadamente 1:1. En diversas realizaciones, la etapa de calentar la mezcla se realiza hasta una temperatura de aproximadamente 50ºC. En realizaciones adicionales, la etapa de enfriar la mezcla se realiza hasta una temperatura de aproximadamente 20ºC. En realizaciones adicionales, la etapa de enfriar la mezcla se realiza hasta una temperatura de aproximadamente 5ºC.

La sal del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico resultante que resulta de los métodos mencionados anteriormente puede aislarse mediante cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, evaporando el disolvente para obtener un sólido, o formando un precipitado de la sal (por ejemplo, mediante la adición de un antidisolvente), y separando el precipitado de las mezclas de reacción, por ejemplo, mediante filtración.

En algunos aspectos y realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende (a) una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico tal como se describe en el presente documento; y opcionalmente (b) al menos un portador, diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptables.

En varias realizaciones, la composición farmacéutica está en una forma seleccionada del grupo que consiste en comprimidos, píldoras, cápsulas, gránulos, grageas, polvos, pastillas, sobres, obleas, parches, elixires, suspensiones, dispersiones, emulsiones, disoluciones, jarabes, aerosoles, pomadas, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, disoluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

En otras realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende (a) una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal de ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico tal como

se describe en el presente documento; y (b) al menos un portador, diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptables, para su uso en la reducción de los niveles de colesterol en la sangre o el tratamiento del hígado graso, o para el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) o cualquier enfermedad cuyo tratamiento pueda beneficiarse de la modulación del colesterol o el equilibrio lipídico.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención se usa para disolver cálculos biliares de colesterol en la bilis y para prevenir la formación de tales cálculos biliares. En otras realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención se usa para tratar la arteriosclerosis.

En cierta realización, la composición farmacéutica de la presente invención se usa para tratar una enfermedad o trastorno asociado con un metabolismo de la glucosa alterado. En una realización, la enfermedad o trastorno asociado con el metabolismo de la glucosa alterado se selecciona del grupo que consiste en hiperglucemia, diabetes, resistencia a la insulina y obesidad. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

En otras realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención se usa para tratar, prevenir o inhibir la progresión de una enfermedad cerebral caracterizada por depósitos de placa amiloide. En una realización, la enfermedad cerebral caracterizada por depósitos de placa amiloide es la enfermedad de Alzheimer.

La composición farmacéutica de la presente invención puede administrarse mediante una vía seleccionada del grupo que consiste en oral, tópica, subcutánea, intraperitoneal, rectal, intravenosa, intraarterial, transdérmica, intramuscular e intranasal. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para reducir los niveles de colesterol en la sangre o tratar el hígado graso, o tratar la NASH, o disolver cálculos biliares del colesterol en la bilis y prevenir la formación de tales cálculos biliares o tratar la arteriosclerosis, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una composición farmacéutica que comprende (a) una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico tal como se describe en el presente documento; y (b) al menos un portador, diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptables.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno asociado con un metabolismo de la glucosa alterado que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una composición farmacéutica que comprende (a) una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico tal como se describe en el presente documento; y (b) al menos un portador, diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptables. En realizaciones adicionales, la presente invención proporciona un método para tratar, prevenir o inhibir la progresión de una enfermedad cerebral caracterizada por depósitos de placa amiloide que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una composición farmacéutica que comprende (a) una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico tal como se describe en el presente documento; y (b) al menos un portador, diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptables.

En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero, preferiblemente un ser humano.

Realizaciones adicionales y el alcance completo de la aplicabilidad de la presente invención se harán evidentes a partir de la descripción detallada que se proporciona a continuación en el presente documento.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 ilustra un patrón de difracción de rayos X característico de la sal de N-metilglucamina (meglumina) de Aramchol amorfa según la presente invención.

La figura 2 ilustra un patrón de difracción de rayos X característico de la sal de lisina de Aramchol amorfa según la presente invención.

La figura 3 ilustra un patrón de difracción de rayos X característico de la sal de trometamina de Aramchol amorfa según la presente invención.

La figura 4 ilustra un espectro de ^{1}H-RMN característico de la sal de N-metilglucamina de Aramchol según la presente invención.

La figura 5 ilustra un espectro de ^{1}H-RMN característico de la sal de lisina de Aramchol según la presente invención.

La figura 6 ilustra un espectro de ^{1}H-RMN característico de la sal de trometamina de Aramchol según la presente invención.

La figura 7 ilustra un espectro de ^{1}H-RMN característico del ácido libre de Aramchol.

La figura 8 ilustra un espectro de sorción dinámica de vapor (DVS) característico de la sal de N-metilglucamina de Aramchol según la presente invención.

La figura 9 AUC/dosis calculada para Aramchol (ácido libre), sales de N-metilglucamina, trometamina y lisina. Los datos son media aritmética ± error estándar.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a sales de Aramchol que presentan propiedades fisicoquímicas mejoradas incluyendo solubilidad aumentada, absorción aumentada y exposición aumentada que se correlaciona con mayor biodisponibilidad en comparación con el ácido libre de Aramchol.

Según los principios de la presente invención, en el presente documento se proporciona una sal farmacéuticamente aceptable de Aramchol en la que el contraión se basa en una amina e incluye amoníaco, una amina primaria, una amina secundaria, una amina terciaria, un compuesto de amonio cuaternario, un aminoalcohol, un aminoazúcar o un aminoácido. La amina también puede ser una diamina o una amina cíclica. Las sales actualmente preferidas son sales de N-metilglucamina (meglumina), lisina o trometamina. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

Tal como se usa en el presente documento, el término “amina primaria” designa un compuesto de fórmula R^aNH_2 en donde R^a es alquilo, cicloalquilo o arilo. Ejemplos de aminas primarias son las alquilaminas inferiores en las que alquilo inferior significa un alquilo C_1-C_4, o arilaminas. La amina primaria puede reaccionar con el grupo ácido carboxílico de Aramchol para formar la sal Aramchol-$COO^-R^aNH_3^+$.

Tal como se usa en el presente documento, el término “amina secundaria” designa un compuesto de fórmula R^aR^bNH en donde cada uno de R^a y R^b es independientemente alquilo, cicloalquilo o arilo. Ejemplos de aminas secundarias son las dialquilaminas inferiores (R^a, R^b son cada uno un alquilo inferior), diarilaminas, o alquilarilaminas. La amina secundaria también puede ser una amina cíclica (por ejemplo, morfolina, pirrolidina, piperidina, etc.), o una diamina (por ejemplo, benzatina). La amina secundaria puede reaccionar con el grupo ácido carboxílico de Aramchol para formar la sal Aramchol-COO^- $R^aR^bNH_2^+$.

Tal como se usa en el presente documento, el término “amina terciaria” designa un compuesto de fórmula $R^aR^bR^cN$ en donde cada uno de R^a, R^b y R^c es independientemente alquilo, cicloalquilo o arilo. Ejemplos de aminas terciarias son las trialquilaminas inferiores (R^a, R^b y R^c son cada uno un alquilo inferior), triarilaminas o cualquier combinación de alquilarilaminas. La amina terciaria también puede ser una amina cíclica (por ejemplo, N-metilpirrolidina, N-metilpiperidina, etc.) o una diamina. La amina terciaria puede reaccionar con el grupo ácido carboxílico de Aramchol para formar la sal Aramchol-COO^- $R^aR^bR^cNH^+$.

Tal como se usa en el presente documento, el término “compuesto de amonio cuaternario” designa un compuesto de fórmula $R^aR^bR^cR^dN^+$ X^- en donde cada uno de R^a, R^b, R^c y R^d es independientemente alquilo, cicloalquilo o arilo y X^- es un contraión. Ejemplos de compuestos de amonio cuaternario son las tetraalquilaminas inferiores (R^a, R^b, R^c y R^d son cada uno un alquilo inferior), tetraarilaminas o cualquier combinación de alquilarilaminas. Ejemplos específicos de compuestos de amonio cuaternario que pueden formar sales con Aramchol según la presente invención son $Bu_4N^+X^-$, colina ($Me_3N^+CH_2CH_2OH]X^-$) o trimetilglicina ($(CH_3)_3N^+CH_2CO_2HX^-$, también conocido como betaína), en donde X es un contraión, por ejemplo, OH, halógeno (F, Cl, Br, I) y similares. El compuesto de amonio cuaternario puede reaccionar con el grupo ácido carboxílico de Aramchol para formar la sal Aramchol-COO^- $R^aR^bR^cR^dN^+$.

Tal como se usa en el presente documento, el término “aminoalcohol” o “alcanolamina”, usado en el presente documento de manera intercambiable, significa compuestos que contienen grupos funcionales tanto hidroxilo (-OH) como amino (-NH_2, -NHR, y -$N(R)_2$) en una estructura principal de alcano. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a trometamina, etanolamina, dietanolamina, 2-dietilaminoetanol y 2-dimetilaminoetanol.

Tal como se usa en el presente documento, el término “aminoazúcar” o “alcohol de aminoazúcar” significa un resto de azúcar o alcohol de azúcar en el que uno de los hidroxilos del azúcar se ha reemplazado por un grupo amino. Ejemplos de aminoazúcares son N-alquilglucaminas, por ejemplo N-metilglucamina (meglumina), N-etilglucamina (eglumina), N-propilglucamina, N-butilglucamina y similares.

Por lo tanto, en algunas realizaciones a modo de ejemplo, la presente invención proporciona sales de Aramchol con aminas orgánicas adecuadas tales como, pero no limitadas a, alquilaminas inferiores no sustituidas o sustituidas, diaminas, aminas cíclicas saturadas y compuestos de amonio cuaternario. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los ejemplos particulares incluyen, pero no se limitan a, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina (TRIS), 1-amino-2-propanol, 3-amino-1-propanol , hexametilentetramina, deanol, 2-dietilaminoetanol, N-metilglucamina (meglumina), N-etilglucamina (eglumina), piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, benzatina, trimetilglicina (betaína), colina y similares. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

En algunos aspectos y realizaciones, la presente invención proporciona la sal de N-metilglucamina (meglumina) de Aramchol. En una realización, la sal de N-metilglucamina de Aramchol es amorfa.

En aspectos y realizaciones adicionales, la presente invención proporciona la sal de trometamina (TRIS) de Aramchol. En una realización, la sal de trometamina de Aramchol es amorfa.

En aspectos y realizaciones adicionales, la presente invención proporciona la sal de amonio de Aramchol. En una realización, la sal de amonio de Aramchol es cristalina. En otra realización, la sal de amonio de Aramchol se caracteriza por un termograma de DSC-TGA que tiene un pico a aproximadamente 76ºC con un inicio a aproximadamente 60ºC y un pico a aproximadamente 117ºC con un inicio a aproximadamente 114ºC. En realizaciones específicas, el pico a aproximadamente 76ºC está acompañado por una pérdida de peso de aproximadamente el 2%. En aun otra realización, la sal de amonio de Aramchol se caracteriza por un termograma de DSC-TGA que tiene un pico a aproximadamente 57ºC con un inicio a aproximadamente 55ºC. En realizaciones particulares, el pico a aproximadamente 57ºC está acompañado por una pérdida de peso de aproximadamente el 5%.

En otros aspectos y realizaciones, la presente invención proporciona la sal de benzatina de Aramchol. En una realización, la sal de benzatina de Aramchol es amorfa.

En aspectos y realizaciones adicionales, la presente invención proporciona la sal de trimetilglicina (betaína) de Aramchol. En una realización, la sal de trimetilglicina (betaína) de Aramchol es amorfa.

En aún otros aspectos y realizaciones, la presente invención proporciona la sal de etanolamina de Aramchol. En una realización, la sal de etanolamina de Aramchol es amorfa. En otra realización, la sal de etanolamina de Aramchol es cristalina. En realizaciones específicas, la sal de etanolamina cristalina de Aramchol se caracteriza por un termograma de DSC-TGA que tiene un pico a aproximadamente 50ºC con un inicio a aproximadamente 45ºC, un pico a aproximadamente 72ºC con un inicio a aproximadamente 63ºC, un pico a aproximadamente 86ºC con un inicio a aproximadamente 80ºC, y un pico a aproximadamente 122ºC con un inicio a aproximadamente 105ºC. En realizaciones particulares, los picos se caracterizan por una pérdida de peso continua de aproximadamente el 25%.

En ciertos aspectos y realizaciones, la presente invención proporciona la sal de dietanolamina de Aramchol. En una realización, la sal de dietanolamina de Aramchol es amorfa.

En aspectos y realizaciones adicionales, la presente invención proporciona la sal de dietilamina de Aramchol. En una realización, la sal de dietilamina de Aramchol es amorfa.

En otros aspectos y realizaciones, la presente invención proporciona la sal de colina de Aramchol. En una realización, la sal de colina de Aramchol es amorfa.

En aún otros aspectos y realizaciones, la presente invención proporciona la sal de deanol de Aramchol. En una realización, la sal de deanol de Aramchol es amorfa.

En varios aspectos y realizaciones, la presente invención proporciona la sal de 2-dietilaminoetanol de Aramchol. En una realización, la sal de 2-dietilaminoetanol de Aramchol es amorfa.

En algunos aspectos y realizaciones, la presente invención proporciona las sales de aminoácidos de Aramchol que incluyen, pero no se limitan a, aminoácidos básicos tales como lisina, arginina, histidina y ornitina. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los aminoácidos, según los principios de la presente invención, pueden ser D-aminoácidos, L-aminoácidos o derivados racémicos de aminoácidos. En una realización, la presente invención proporciona la sal de arginina de Aramchol. En otra realización, la presente invención proporciona la sal de lisina de Aramchol. En algunas realizaciones, las sales de aminoácidos de Aramchol son distintas de las sales de glicina y taurina de Aramchol. En ciertas realizaciones, las sales de aminoácidos de Aramchol son amorfas. Una sal de aminoácido actualmente preferida de Aramchol es la sal de lisina. En algunas realizaciones, la sal de lisina es amorfa.

Se entiende que las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención, cuando se aíslan en forma sólida o cristalina, también incluyen hidratos o moléculas de agua atrapadas en ellas.

La presente invención proporciona además métodos para la preparación de sales de Aramchol de la presente invención. Los métodos utilizan el ácido libre de Aramchol que se prepara mediante cualquier método conocido en la técnica, incluyendo, por ejemplo, los métodos descritos en los documentos U.S. 6.384.024; U.S. 6.395.722; U.S. 6.589.946; U.S. 7.501.403; U.S. 8.110.564; U.S. 2012/0214872; y el documento WO 2009/060452. Los contenidos de las referencias mencionadas anteriormente se incorporan como referencia en el presente documento. Debe entenderse que la conjugación entre el radical de ácido graso y el ácido biliar en Aramchol puede ser en la configuración α o β. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Según una realización, el ácido libre de Aramchol se mezcla con la base correspondiente de la sal que va a formarse, normalmente en una razón 1:1 en presencia de un disolvente adecuado. Entonces, la mezcla se calienta opcionalmente hasta temperaturas que están por encima de temperaturas ambiente, pero por debajo del punto de ebullición del disolvente o en el punto de ebullición del disolvente (es decir, a reflujo). Normalmente, la mezcla se calienta hasta aproximadamente 50ºC. La mezcla se enfría opcionalmente hasta temperaturas, normalmente por debajo de temperaturas ambiente (por ejemplo, 5ºC). La sal así obtenida de la presente invención se aísla luego tal como se

conoce en la técnica, por ejemplo, mediante evaporación del disolvente, cristalización, precipitación con antidisolvente y similares. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

En una realización particular, el ácido libre de Aramchol se mezcla con la base correspondiente de la sal que va a formarse, normalmente en una razón 1:1 en presencia de un disolvente adecuado. Entonces, la mezcla se calienta opcionalmente tal como se describió anteriormente. Luego se añade un antidisolvente y la mezcla se enfría opcionalmente tal como se describió anteriormente, para formar un precipitado de la sal de Aramchol.

Los métodos adicionales para la preparación de las sales de Aramchol de la presente invención incluyen, por ejemplo, precipitación mediante enfriamiento a vacío, sublimación, saponificación, crecimiento a partir de una masa fundida, transformación en estado sólido a partir de otra fase, precipitación de un fluido supercrítico y pulverización por chorro. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Las técnicas para la precipitación a partir de un disolvente o mezcla de disolventes incluyen, por ejemplo, la evaporación del disolvente, la disminución de la temperatura de la mezcla de disolventes, la liofilización de la mezcla de disolventes y la adición de antidisolventes (contradisolventes) a la mezcla de disolventes. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

Las sales de Aramchol de la presente invención pueden ser amorfas o cristalinas en cualquier forma polimórfica.

Los disolventes adecuados para preparar las sales de la presente invención incluyen disolventes polares y no polares. La elección del disolvente o disolventes depende normalmente de uno o más factores, incluyendo la solubilidad del compuesto en tal disolvente y la presión de vapor del disolvente. Se pueden emplear combinaciones de disolventes según los principios de la presente invención. Los disolventes adecuados incluyen, pero no se limitan a, disolventes polares apróticos, disolventes polares próticos y mezclas de los mismos. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los ejemplos particulares de disolventes polares próticos adecuados incluyen, pero no se limitan a, agua y alcoholes tales como metanol (MeOH), etanol (EtOH), 1-butanol e isopropanol (IPA), así como ésteres y cetonas orgánicos tales como acetato de etilo (EtOAc) o acetona. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. En una realización, el disolvente es agua. En otra realización, el disolvente es etanol. En otra realización, el disolvente es acetato de etilo.

El antidisolvente puede ser cualquiera de los disolventes descritos anteriormente, siendo un antidisolvente actualmente preferido acetona o acetato de etilo.

Las sales novedosas de la presente invención son útiles como productos farmacéuticos para tratamiento médico. La presente invención proporciona así composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de las sales de Aramchol descritas en el presente documento y al menos un portador, diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptables. Las sales de la presente invención pueden administrarse de manera segura por vía oral o no oral. Las vías de administración incluyen, pero no se limitan a oral, tópica, subcutánea, intraperitoneal, rectal, intravenosa, intraarterial, transdérmica, intramuscular, tópica e intranasal. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Las vías de administración adicionales incluyen, pero no se limitan a mucosa, nasal, parenteral, gastrointestinal, intraespinal, intrauterina, intraocular, intradérmica, intracraneal, intratraqueal, intravaginal, intracerebroventricular, intracerebral, oftálmica, bucal, epidural y sublingual. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Normalmente, las sales de Aramchol de la presente invención se administran por vía oral.

Las composiciones farmacéuticas pueden formularse como comprimidos (incluyendo, por ejemplo, comprimidos recubiertos con película), polvos, grageas, cápsulas (incluyendo cápsulas blandas), comprimidos que se disgregan por vía oral, píldoras, gránulos, pastillas, sobres, obleas, parches, elixires, suspensiones, dispersiones, emulsiones, disoluciones, jarabes, aerosoles, pomadas, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, disoluciones inyectables estériles, polvos estériles envasados y preparaciones de liberación sostenida, tal como se conoce bien en la técnica. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

Los portadores, diluyentes, vehículos o excipientes farmacológicamente aceptables que pueden usarse en el contexto de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, tensioactivos, lubricantes, aglutinantes, cargas, auxiliares de compresión, disgregantes, polímeros solubles en agua, sales inorgánicas, conservantes, antioxidantes, agentes colorantes, agentes edulcorantes, agentes de acidificación, agentes de burbujeo y saborizantes. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

Los ejemplos específicos no limitativos de portadores, diluyentes, vehículos o excipientes adecuados incluyen, por ejemplo lactosa, D-manitol, almidón, almidón de maíz, celulosa cristalina, anhídrido silícico ligero y óxido de titanio. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los tensioactivos adecuados incluyen, por ejemplo lecitina y fosfatidilcolina. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los lubricantes adecuados incluyen, por ejemplo estearato de magnesio, ésteres de ácidos grasos de sacarosa, polietilenglicol, talco y ácido esteárico. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los aglutinantes adecuados incluyen, por ejemplo hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa cristalina, α-almidón, polivinilpirrolidona, polvo de goma arábiga, gelatina, pululano e hidroxipropilcelulosa de baja sustitución. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los disgregantes

adecuados incluyen, por ejemplo povidona reticulada (cualquier homopolímero de 1-etenil-2-pirrolidinona reticulada, incluyendo polivinilpirrolidona (PVPP) y homopolímero de 1-vinil-2-pirrolidinona), carmelosa de sodio reticulada, carmelosa de calcio, carboximetilalmidón de sodio, hidroxipropilcelulosa de baja substitución, almidón de maíz y similares. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los polímeros solubles en agua adecuados incluyen, por ejemplo derivados de celulosa tales como hidroxipropilcelulosa, polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa y carboximetilcelulosa de sodio, poliacrilato de sodio, alcohol de polivinilo, alginato de sodio, goma guar, y similares. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Las sales inorgánicas adecuadas incluyen, por ejemplo sales inorgánicas básicas de sodio, potasio, magnesio y/o calcio. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Las realizaciones particulares incluyen las sales inorgánicas básicas de magnesio y/o calcio. Las sales inorgánicas básicas de sodio incluyen, por ejemplo, carbonato de sodio, hidrogenocarbonato de sodio, hidrogenofosfato de disodio, y similares. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Las sales inorgánicas básicas de potasio incluyen, por ejemplo, carbonato de potasio, hidrogenocarbonato de potasio, y similares. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Las sales inorgánicas básicas de magnesio incluyen, por ejemplo, carbonato de magnesio pesado, carbonato de magnesio, óxido de magnesio, hidróxido de magnesio, aluminato metasilicato de magnesio, silicato de magnesio, aluminato de magnesio, hidrotalcita sintética, alúmina hidróxido magnesio, y similares. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Las sales inorgánicas básicas de calcio incluyen, por ejemplo, carbonato de calcio precipitado, hidróxido de calcio, y similares. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

Los conservantes adecuados incluyen, por ejemplo benzoato de sodio, ácido benzoico y ácido sórbico. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los antioxidantes adecuados incluyen, por ejemplo sulfitos, ácido ascórbico y α-tocoferol. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los agentes colorantes adecuados incluyen, por ejemplo colores alimentarios tales como color alimentario amarillo n.º 5, color alimentario rojo n.º 2 y color alimentario azul n.º 2, y similares. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los agentes edulcorantes adecuados incluyen, por ejemplo glicirretinato dipotásico, aspartamo, estevia y taumatina. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los agentes de acidificación adecuados incluyen, por ejemplo ácido cítrico (anhídrido cítrico), ácido tartárico y ácido málico. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Los agentes de burbujeo adecuados incluyen, por ejemplo bicarbonato de sodio. Los aromatizantes adecuados incluyen sustancias sintéticas o sustancias naturales, incluyendo, por ejemplo, limón, lima, naranja, mentol y fresa. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende como principio activo una única sal de Aramchol de la presente invención y al menos un portador, diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptables. En otras realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende como principio activo una pluralidad de sales de Aramchol de la presente invención y al menos un portador, diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptables.

Las sales de Aramchol de la presente invención son particularmente adecuadas para administración oral en forma de comprimidos, cápsulas, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares. Cada posibilidad representa una realización independiente de la presente invención. Un comprimido puede fabricarse por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más excipientes tal como se conoce en la técnica. Específicamente, pueden fabricarse comprimidos moldeados por moldeo en una máquina adecuada de una mezcla del principio activo en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden marcarse o prepararse opcionalmente con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica. También pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del principio activo en el mismo usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas y similares. El principio activo también puede estar en forma microencapsulada, si procede, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

La presente invención proporciona un método para reducir los niveles de colesterol en sangre o para tratar el hígado graso que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una cualquiera de las sales de Aramchol de la presente invención. La presente invención proporciona un método para tratar la enfermedad del hígado graso y la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una cualquiera de las sales de Aramchol de la presente invención. La presente invención proporciona además un método para disolver cálculos biliares de colesterol en la bilis y para prevenir la formación de tales cálculos biliares que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una cualquiera de las sales de Aramchol de la presente invención. En otras realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar la arteriosclerosis que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una cualquiera de las sales de Aramchol de la presente invención. La presente invención también proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno asociado con un metabolismo alterado de la glucosa, particularmente hiperglucemia, diabetes, resistencia

a la insulina y obesidad, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una cualquiera de las sales de Aramchol de la presente invención. La presente invención proporciona además un método para tratar, prevenir o inhibir la progresión de una enfermedad cerebral caracterizada por depósitos de placa amiloide, particularmente enfermedad de Alzheimer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una cualquiera de las sales de Aramchol de la presente invención.

Una “cantidad terapéuticamente eficaz” tal como se usa en el presente documento se refiere a una cantidad de un agente que es eficaz, tras la administración de una dosis única o múltiple al sujeto para proporcionar un beneficio terapéutico al sujeto. En realizaciones adicionales, las sales de Aramchol de la presente invención se usan para la preparación de un medicamento para tratar las enfermedades o trastornos mencionados anteriormente.

Los siguientes ejemplos se presentan con el fin de ilustrar de manera más completa ciertas realizaciones de la invención. Sin embargo, no deben interpretarse en modo alguno como limitantes del amplio alcance de la invención. Un experto en la técnica puede idear fácilmente muchas variaciones y modificaciones de los principios descritos en el presente documento sin apartarse del alcance de la invención.

Ejemplo 1 - Síntesis de sales de Aramchol:

Las sales de Aramchol de la presente invención se prepararon según el siguiente procedimiento: se mezcló el ácido libre de Aramchol con la base correspondiente en una razón de 1:1 en agua o etanol. Se calentó la mezcla hasta 50ºC a una velocidad de 1ºC/min. Se mantuvo la mezcla a 50ºC durante 2 horas, y se enfrió a una velocidad de 0,1ºC/min hasta 20ºC. En los casos en que las sales no precipitaron después del enfriamiento, se mantuvieron las mezclas de reacción en bruto durante 3 días y se midió la pureza mediante HPLC. Las sales de Aramchol que proporcionaron una disolución transparente no mostraron impurezas adicionales en HPLC. Los resultados se resumen en la tabla 1.

Se encontró que las siguientes sales de Aramchol eran solubles (> 50 mg/ml a 50ºC) en agua: sal de L-arginina, sal de colina, sal de N-metilglucamina, sal de dietilamina, sal de 2-dietil-aminoetanol, sal de deanol, sal de etanolamina y sal de dietanolamina. Se encontró que las siguientes sales de Aramchol eran solubles (> 50 mg/ml a 50ºC) en etanol a 50ºC: sal de L-arginina, sal de colina, sal de trimetilglicina (betaína), sal de dietilamina, sal de benzatina, 2-dietilamina-etanol, sal de deanol, sal de trometamina y sal de dietanolamina. No se obtuvieron sales usando glicina o taurina.

Usando agua como disolvente, las siguientes sales de Aramchol precipitaron como material amorfo: sal de L-arginina, sal de L-lisina, sal de colina, sal de N-metilglucamina, sal de dietilamina, sal de benzatina, sal de 2-dietilamino-etanol, sal de deanol, sal de etanolamina y sal de dietanolamina. Se obtuvo una sal de amonio cristalina de Aramchol a partir de agua (Forma I). La forma se caracterizó por análisis térmico. El perfil de DSC mostró un primer pico a 76,32ºC con un inicio a 60,07ºC (ΔE = -29,33 J/g) y un segundo pico a 117,12ºC con un inicio a 114,08ºC (ΔE = -67,16 J/g). La pérdida de peso durante el primer pico fue del 2,05%.

Tabla 1

Base	Disuelto (50 mg/ml) a 50ºC	XRPD	La sal permanece en disolución después de enfriar hasta 20ºC	Estabilidad en agua (HPLC) después de 3 días
L-Arginina	Sí	n.a.	no	-
L-lisina	No	Material de partida	-	-
Colina	Sí	n.a.	sí	buena
Amoníaco	No	Cristalina	no	-
N-metilglucamina	Sí	n.a.	no	-
Trimetilglicina (betaína)	No	Material de partida	-	-
Dietilamina	Sí	n.a.	no	-
Benzatina	No	Amorfa	-	-
2-dietilamino-etanol	Sí	n.a.	sí	buena
Deanol	Sí	n.a.	sí	buena
Trometamina	No	Material de partida	-	-
Etanolamina	Sí	n.a.	no	-

Dietanolamina	Sí	n.a.	sí	buena

n.a. = no disponible

Usando etanol como disolvente, las siguientes sales de Aramchol precipitaron como material amorfo: sal de L-arginina, sal de colina, sal de trimetilglicina (betaína), sal de dietilamina, sal de benzatina, sal de 2-dietilamino-etanol, sal de deanol, sal de trometamina y sal de dietanolamina. Se obtuvo una sal de amonio cristalina de Aramchol a partir de etanol. La forma se caracterizó mediante análisis térmico. El perfil de DSC mostró un pico a 56,57ºC con un inicio a 55,37ºC (ΔE = -45,57J/g). La pérdida de peso durante el pico fue del 5,44%. Se obtuvo una sal de etanolamina cristalina de Aramchol a partir de etanol. La forma se caracterizó mediante análisis térmico. El perfil de DSC mostró un primer pico a 50,12ºC con un inicio a 44,87ºC (ΔE = -8,45 J/g); un segundo pico a 72,27ºC con un inicio a 62,58ºC (ΔE = 6,28 J/g); un tercer pico a 85,86ºC con un inicio a 80,06ºC (ΔE = -6,20 J/g); y un cuarto pico a 122,42ºC con un inicio a 104,82ºC (ΔE = -45,78 J/g). Se observó una pérdida de peso continua del 25,37% utilizando TGA.

Ejemplo 2 - Solubilidad de las sales de Aramchol:

Las sales de Aramchol de la presente invención se evaluaron adicionalmente por su solubilidad en agua. Se sometió a prueba la solubilidad acuosa a 20ºC utilizando el método de agitación en matraz. Se pesaron 5 mg de cada sal. Se añadió agua por etapas hasta que se obtuvo una disolución transparente (tabla 2, solubilidad en agua). Se midió el pH de cada disolución (tabla 2, pH tras solubilidad). Los resultados se resumen en la tabla 2.

Tabla 2

Base	XRPD	Solubilidad en agua (mg/ml)	pH de la disolución
L-Arginina	Amorfa	<11	n.a.
L-Lisina	Amorfa	10-32	8
L-Lisina	Cristalina	11-35	8
Amoníaco	Cristalina	<11	n.a.
N-metilglucamina	Amorfa	113-1130	7
Betaína	Amorfa	<11	n.a.
Betaína	Cristalina	<11	n.a.
Dietilamina	Amorfa	<11	n.a.
Dietilamina	Cristalina	<11	n.a.
Trometamina	Poco cristalina	<11	n.a.
Trometamina	Cristalina	32-95	8
Etanolamina	Cristalina	<11	n.a.
Dietanolamina	Cristalina	<11	n.a.

n.a. = no disponible

En comparación, el Aramchol (ácido libre) tiene solubilidad limitada en medios acuosos (solubilidad en tampón a pH 6.0 < 0,001 mg/ml, solubilidad máx de 0,66 mg/ml en FeSSIF, pH = 5).

Ejemplo 3:

Materiales y métodos:

Difracción de rayos X de polvo (XRPD)

Los estudios de difracción de rayos X de polvo se realizaron utilizando un instrumento Bruker AXS D2 PHASER en la configuración Bragg-Brentano, equipo n.º 1549. Usando un ánodo de Cu a 30 kV, 10 mA; giro estándar de platina; monocromatización mediante un filtro κβ (0,5% de Ni). Rendija: rendijas de divergencia fija de 1,0 mm (= 0,61º), rendija Soller axial primaria de 2,5º, rendija Soller axial secundaria de 2,5º. Detector: detector lineal LYNXEYE con apertura del detector de 5º de rendija de recepción. El soporte de muestra convencional (cavidad de 0,1 mm en oblea de silicio (510)) tuvo una contribución mínima a la señal de fondo.

Condiciones de medición: intervalo de barrido 5-45º 2 , rotación de muestra 5 rpm, 0,5 s/paso, 0,010º/paso, rendija del detector de 3.0 mm; y todas las condiciones de medición se registraron en el archivo de control del instrumento. Como idoneidad del sistema, se midió diariamente una muestra de corindón (estándar de NIST).

El software utilizado para la recogida de datos es Diffrac.Commander v3.3.35. El análisis de los datos se realizó utilizando Diffrac.Eva v 3.0. No se aplicó corrección de fondo ni suavizado a los patrones. El aporte del Cu-Kα_2 se eliminó usando el software Diffrac.Eva. Los resultados se resumen en la tabla 3.

Tabla 3

Base	XRPD
L-Arginina	Amorfo
L-Lisina	Material cristalino (sin formación de sal)
Amoníaco	Material cristalino (sin formación de sal)
N-metilglucamina	Amorfo
Betaína	Material cristalino/amorfo
Dietilamina	Material cristalino/amorfo (sin formación de sal)
2-Dietilamino-etanol	Amorfo
Deanol	Material cristalino (sin formación de sal)
Trometamina	Amorfo/amorfo + pico adicional
Etanolamina	Material cristalino (sin formación de sal)
Dietanolamina	Amorfo/amorfo + pico adicional (sin formación de sal)

Análisis termogravimétrico/Calorimetría diferencial de barrido (TGA/DSC)

Los TGA/DSC se realizaron utilizando un instrumento Mettler Toledo TGA/DSC1 STARe System con un muestreador automático de 34 posiciones, equipo n.º 1547.

Las muestras se prepararon utilizando crisoles de aluminio (40 µl; perforados). Normalmente, se cargaron 5-10 mg de cada muestra en un crisol de aluminio pesado previamente y se mantuvo a 30ºC durante 5 minutos, después de lo cual se calentó a 10ºC/min desde 30ºC hasta 300ºC. Se mantuvo una purga de nitrógeno sobre la muestra de 40 ml/min. Como verificación de la idoneidad del sistema, se utilizaron indio y zinc como referencias de calibración.

El software utilizado para la recogida y evaluación de datos fue STARe Software v10.00 build 2480. No se aplicaron correcciones a los patrones. Los resultados se resumen en la tabla 4.

Tabla 4

Base	T_{pico} de DSC (ºC)	Integral normalizada (J/g)	Pérdida de masa de TGA (%)
L-Arginina	50,8	-17,5	8,3 (40-120ºC)
	79,2	-83,5	3,7 (200-260ºC)
	131,9	-3,0	
	238,4	-80,3	
	270,4	-62,2	
	278,1	8,9	
	283,5	-12,2	
L-Arginina	93,5	-69,0	3,3 (40-120ºC)
	132,2	-2,8	3,2 (190-250ºC)
	230,5	-21,2	
L-Lisina	54,8	-1,5	1,1 (40-100ºC)
	80,3	-3,1	6,5 (170-250ºC)
	117,3	-45,8	
	166,4	-10,9	
	225,3	-100,2	
L-Lisina	92,7	-4,6	3,0 (40-100ºC)

	112,4 145,5 166,8 223,9	-14,6 8,3 -14,9 -94,9	6,1 (160-260ºC)
Amoníaco	49,4 87,6	-3,5 -41,9	1,2 (40-100ºC)
Amoníaco	88,1 151,8	-34,6 -11,1	0,2 (80-100ºC) 0,3 (120-180ºC)
N-metilglucamina	49,9 77,2 224,2	-25,9 -63,8 -134,7	8,1 (50-130ºC)
N-metilglucamina	58,9 79,0	-24,5 -28,5	3,1 (50-130ºC)
Betaína	50,5 65,3 134,4 259,0	-29,0 -13,5 -30,2 -164,0	2,4 (40-100ºC) 2,7 (100-170ºC) 12,9 (200-280ºC)
Betaína	56,5 84,1 261,3	10,6 43,8 159,9	1,9 (40-115ºC) 11,9 (210-280ºC)
Dietilamina	56,7 77,7 106,1 260,6	-5,4 -1,3 -51,5 -0,9	3,2 (40-90ºC) 13,7 (90-220ºC)
Dietilamina	64,4 99,2 151,1 260,2	-44,5 -7,6 -6,6 -2,1	2,9 (60-110ºC) 2,8 (120-175ºC)
2-Dietilaminoetanol	45,8 108,6 119,6 179,3 198,2 260,7	-15,3 -28,4 -53,3 0,9 2,3 -2,1	16,2 (100-210ºC)
Deanol	87,5 93,9 106,8	-12,2 -30,7 -56,9	20,9 (80-170ºC)
Deanol	53,4 67,0 138,0 232,6	-9,1 -22,7 -28,8 11,3	1,0 (60-120ºC) 7,5 (120-220ºC)
Trometamina	57,9 205,7	-77,2 -130,0	9,4 (40-110ºC) 8,0 (150-300ºC)
Trometamina	49,0 113,4	-2,3 -9,0	1,4 (100-140ºC)

Etanolamina	55,0 85,5 105,8 192,7	-8,5 -2,3 -13,2 -47,7	3,6 (50-110ºC) 5,4 (140-220ºC)
Etanolamina	103,6 187,7	-53,1 -71,1	0,5 (75-120ºC) 6,2 (125-235ºC)
Dietanolamina	49,0 95,3 103,0 202,1	-14,5 -33,0 -49,6 -28,1	1,2 (50-80ºC) 10,8 (85-140ºC) 2,3 (180-240ºC)
Dietanolamina	59,8 77,1 103,2 142,3 205,0	-46,8 -26,0 -78,5 -0,3 -25,6	1,1 (50-90ºC) 5,3 (90-140ºC) 3,0 (175-235ºC)

Sorción dinámica de vapor (DVS)

Las pruebas de DVS se realizaron utilizando un instrumento de DVS-1 No Video de Surface Measurement System Ltd., equipo n.º 2126.

Las muestras se pesaron en una bandeja de vidrio, normalmente 20-30 mg, y se equilibraron a 0% de humedad relativa (HR). Después de que el material se hubo secado, la HR se aumentó con un 10% por etapa durante 1 hora por incremento, terminando en un 95% de HR.

El software utilizado para la recogida de datos fue DVSWin v3.01 No Video. El análisis de los datos se realizó utilizando DVS Standard Analysis Suite v6.3.0 (Estándar).

Los resultados se resumen en la tabla 5.

Tabla 5

Base	Captación de masa
L-Arginina	12,5% (por etapas; reversible)
L-lisina	23,1% (por etapas; reversible)
Amoníaco	5,4% (por etapas; reversible)
N-metilglucamina	14,9% (por etapas; reversible)
Betaína	23,0% (por etapas; reversible)
Dietilamina	14,8% (por etapas; reversible)
2-Dietilamino-etanol	12,1% (por etapas; reversible)
Deanol	17,3% (por etapas; reversible)
Trometamina	9,4% (por etapas; reversible)
Etanolamina	13,2% (por etapas; reversible)
Dietanolamina	6,9% (por etapas; reversible)

Microscopía de luz polarizada (PLM)

Los estudios de microscopía se realizaron utilizando un instrumento AxioVert 35M, equipado con una AxioCamERc5S, equipo n.º 1612. El microscopio estaba equipado con cuatro lentes, que eran Zeiss A-Plan 5×/0,12, Zeiss A-Plan 10×/0,25, LD A-Plan 20×/0,30 y Achros TIGMAT 32×/0,40. La recogida y evaluación de datos se realizó utilizando el software Carl Zeiss Zen AxioVision Blue Edition Lite 2011 v1.0.0.0.

Los resultados se resumen en la tabla 6.

Tabla 6

Base	PLM
L-Arginina	Bloques rugosos <20 μm
L-Arginina	Partículas aglomeradas redondeadas <100 μm
L-Lisina	Partículas pequeñas <1 μm
L-Lisina	Partículas pequeñas aglomeradas >100 μm
Amoníaco	Bloques pequeños <20 μm
Amoníaco	Partículas pequeñas <100 μm
N-metilglucamina	Bloques <100 μm
N-metilglucamina	Partículas aglomeradas redondeadas >100 μm
Betaína	Placas fracturadas >100 μm
Dietilamina	Placas fracturadas >100 μm
2-Dietilamino-etanol	Bloques rugosos >100 μm
Deanol	Bloques rugosos >100 μm
Trometamina	Agujas aglomeradas >100 μm
Etanolamina	Partículas aglomeradas >100 μm
Etanolamina	Bloques rugosos >100 μm
Dietanolamina	Bloques rugosos >100 μm
Dietanolamina	Partículas pequeñas aglomeradas >100 μm

Ejemplo 4 - Síntesis y caracterización de sales de N-Metilglucamina, trometamina y lisina de Aramchol

La síntesis de las sales de N-metilglucamina, trometamina y lisina de Aramchol se realizó según los métodos generales 1 y 2.

Método general 1: Se calentó una disolución acuosa o alcohólica (por ejemplo, metanol, etanol) de Aramchol y ~1 equivalente molar de la base deseada (por ejemplo, hasta reflujo) hasta que se formó una disolución homogénea, seguida de la adición de un antidisolvente (tal como acetato de etilo o acetona) para proporcionar una suspensión. La mezcla de reacción se enfrió opcionalmente. Las sales formadas se aislaron mediante filtración, se lavaron y se secaron.

La sal de N-metilglucamina de Aramchol se preparó mediante el método general 1. El ácido libre de Aramchol (5,0 g) se mezcló con 1,4 g (1 equivalente molar) de N-metilglucamina en agua, metanol o etanol, se calentó hasta reflujo, seguido de adición de acetona o acetato de etilo como antidisolvente, y de enfriamiento. Se formó un precipitado que se aisló y caracterizó como sal de N-metilglucamina de Aramchol amorfa. Se realizaron procedimientos similares utilizando 1-20 g de Aramchol y 1 equivalente molar de N-metilglucamina.

La sal de lisina de Aramchol se preparó mediante el método general 1. Se mezcló el ácido libre de Aramchol (5,0 g) con 1,0 g (1 equivalente molar) de lisina en metanol o etanol, se calentó hasta reflujo, seguido de adición de acetona o acetato de etilo como antidisolvente, y enfriamiento. Se formó un precipitado que se aisló y caracterizó como sal de lisina de Aramchol amorfa. Se realizaron procedimientos similares utilizando 1-20 g de Aramchol y 1 equivalente molar de lisina.

La sal de trometamina de Aramchol se preparó mediante el método general 1. Se mezcló el ácido libre de Aramchol (5,0 g) se mezcló con 0,9 g (1 equivalente molar) de trometamina en metanol o etanol, se calentó hasta reflujo, seguido de adición de acetona o acetato de etilo como antidisolvente, y enfriamiento. Se formó un precipitado que se aisló y caracterizó como sal de trometamina de Aramchol amorfa. Se realizaron procedimientos similares utilizando 1-20 g de Aramchol y 1 equivalente molar de trometamina.

Método general 2: Se calentaron una disolución acuosa o alcohólica de Aramchol y ~1 equivalente molar de la base deseada (por ejemplo, hasta reflujo) hasta que se formó una disolución homogénea. La reacción se enfrió opcionalmente. Luego se eliminó el disolvente (por ejemplo, mediante un evaporador rotatorio a presión reducida) para proporcionar un sólido que se aisló y se secó.

La sal de N-metilglucamina de Aramchol se preparó mediante el método general 2. Se mezcló ácido libre de Aramchol (150,0 g) con N-metilglucamina (41,7 g) en metanol, y se calentó hasta reflujo para obtener una disolución homogénea.

La disolución se concentró en un evaporador rotatorio a 50ºC para obtener un sólido, que se caracterizó como sal de N-metilglucamina de Aramchol amorfa.

La sal de lisina de Aramchol se preparó mediante el método general 2. Se mezcló ácido libre de Aramchol (50,0 g) con lisina (10,4 g) en metanol y se calentó hasta reflujo para obtener una disolución homogénea. La disolución se concentró en un evaporador rotatorio a 50ºC para obtener un sólido, que se caracterizó como sal de lisina de Aramchol amorfa.

La sal de trometamina de Aramchol se preparó mediante el método general 2. Se mezcló el ácido libre de Aramchol (50,0 g) con trometamina (8,6 g) en metanol y se calentó hasta reflujo para obtener una disolución homogénea. La disolución se concentró en un evaporador rotatorio a 50ºC para obtener un sólido, que se caracterizó como sal de trometamina de Aramchol amorfa.

Caracterización:

Se realizaron análisis de XRPD tal como se describe en el ejemplo 3, demostrando que las sales resultantes son amorfas. En la figura 1 se muestra un espectro de XRPD representativo de la sal de N-metilglucamina de Aramchol. En la figura 2 se muestra un espectro de XRPD representativo de la sal de lisina de Aramchol. En la figura 3 se muestra un espectro de XRPD representativo de la sal de trometamina de Aramchol.

Se midieron los espectros de ^{1}H-RMN de las sales, en todos los casos el protón de la función de ácido carboxílico de Aramchol (situado a 12 ppm en los espectros de RMN) ha desaparecido, lo que indica la formación de las sales. En la figura 4 se muestra un espectro de ^{1}H-RMN representativo de la sal de N-metilglucamina de Aramchol. En la figura 5 se muestra un espectro de ^{1}H-RMN representativo de la sal de lisina de Aramchol. En la figura 6 se muestra un espectro de ^{1}H-RMN representativo de la sal de trometamina de Aramchol. En la figura 7 se muestra para comparación un espectro de ^{1}H-RMN representativo del ácido libre de Aramchol.

Mediciones analíticas:

Se realizaron las siguientes pruebas en las sales: pureza por CL, Karl Fisher (para determinar cantidades trazas de agua en una muestra) y pérdida por secado (LOD) (para medir el % en masa que se pierde con el calentamiento). Los resultados muestran un patrón similar de contenido de agua y % de pérdida de masa entre las sales (tabla 7).

Tabla 7

N.º de entrada	pureza por CL (% de área) 205 nm	KF (% en peso)	LOD (% en peso)
Sal de N-metilglucamina de Aramchol	98,84	1,4	1,4
Sal de trometamina de Aramchol	99,05	0,9	1,1
Sal de lisina de Aramchol	96,26	1,3	1,3

Mediciones de DVS de Aramchol N-Metilglucamina

Se realizaron mediciones de DVS para determinar el comportamiento de sorción y desorción de la sal de N-metilglucamina de Aramchol. La sorción se midió aumentando la humedad relativa (HR) con un 10% por etapa terminando en un 95% de HR. Después de completar el ciclo de sorción, el material se secó. Se realizó XRPD antes y después de DVS. La DVS mostró una sorción gradual en respuesta al cambio en la HR con una captación de masa total del 16%, lo que sugiere que el material es higroscópico. La sorción fue reversible y reproducible. En la figura 8 se representa un espectro de DVS representativo de la sal de N-metilglucamina de Aramchol. El patrón de XRPD después de DVS mostró un material amorfo, con diferentes formas de pico e intensidades (debido al diferente tamaño y forma de partícula).

Densidad aparente y compactada de Aramchol N-Metilglucamina

Las mediciones de densidades compactadas y aparentes se utilizan para predecir las propiedades de flujo y la compresibilidad de los polvos. Estas dos propiedades son importantes para la fabricación de formulaciones de dosificación sólida, tales como comprimidos y cápsulas. Los compuestos con valores bajos de densidades compactadas y aparentes pueden estar sujetos a dificultades en la compresión de comprimidos, y por lo tanto pueden requerir procesamiento adicional para mejorar las propiedades de flujo.

Tal como se muestra en la tabla 8, la densidad aparente de Aramchol (ácido libre) es de 0,15 g/cm^3 y la densidad compactada es de 0,17g/cm^3. Por lo tanto, para mejorar las propiedades de flujo, se utiliza un proceso de granulación húmeda antes de la compresión de comprimidos. Para Aramchol N-metilglucamina, la densidad aparente medida es de 0,57 g/ml y la densidad compactada es de 0,66 g/ml. Los valores relativamente más altos de densidad aparente y compactada para la sal de N-metilglucamina (en comparación con el ácido libre de Aramchol), sugieren que sus

propiedades de flujo mejoradas pueden acortar y simplificar el procedimiento de producción de comprimidos evitando la etapa adicional de granulación húmeda.

Tabla 8. Densidades compactadas y aparentes

Compuesto	Densidad compactada	Densidad aparente
Sal de N-metilglucamina	0,66 g/ml	0,57 g/ml
Aramchol (ácido libre)	0,17 g/cm^3	0,15 g/cm^3

Aramchol (ácido libre), y las tres sales se llenaron tal como están, en cápsula dura de HPMC (hipromelosa) de tamaño 00 (CapsCanada, ON, Canadá) sin taponar, el peso de llenado se presenta en la tabla 9.

Tabla 9: peso de llenado de una cápsula de tamaño 00

Aramchol (ácido libre)	0,15 gramos
Sal de trometamina	0,31 gramos
Sal de lisina	0,33 gramos
Sal N-Me-glucamina	0,30 gramos

El volumen de llenado demuestra un volumen compactado similar para tres sales.

Ejemplo 5. Estabilidad de Aramchol N-Metilglucamina

La sal de N-metilglucamina de Aramchol se sometió a estabilidad acelerada según las siguientes condiciones:

a) Expuesta a 40ºC/75% de HR en un matraz cerrado como disolución

b) Expuesta a 40ºC/75% de HR en un recipiente cerrado en forma de estado sólido

c) Expuesta a 40ºC/75% de HR en un recipiente abierto en forma de estado sólido

Se determinaron los siguientes parámetros en t = 0, t = 1 semana, t = 2 semanas: apariencia, pureza por CL, ensayo de CL (el ensayo se calcula frente a la referencia que es el ácido libre y, por lo tanto, los resultados son menos del 100%), contenido de agua. La tabla 10 resume los resultados de las pruebas de estabilidad. La apariencia y la pureza se mantuvieron sin cambios en las condiciones investigadas. El perfil de impurezas no mostró ni cambios significativos en impurezas presentes, ni se formaron nuevas impurezas significativas. El ensayo calculado se mantuvo relativamente sin cambios en las condiciones de investigación. El contenido de agua aumentó en las condiciones de investigación y el material parecía higroscópico. La atracción de agua en la forma de estado sólido fue más prominente para el material almacenado en un recipiente abierto.

Tabla 10. Resultados resumidos de estabilidad

	Como disolución en un matraz cerrado			En forma de estado sólido en un contenedor cerrado			En forma de estado sólido en un recipiente abierto		
	T = 0	T = 2	T = 1	T = 0	T = 1	T = 2	T = 0	T = 1	T = 2
pureza	99,5%	99,5%	99,5%	99,5%	99,4%	99,5%	99,5%	99,5%	99,5%
ensayo	74,7%	74,8%	75,3%	74,7%	72,8%	74,4%	74,7%	76,7%	71,9%
agua	no aplica			1,2%	1,6%	2,0%	1,2%	4,3%	5,7%

Para el ácido libre de Aramchol, se han generado datos de estabilidad de 6 meses a 40ºC/75% de humedad relativa y durante 12 meses a tiempo real 25ºC/60% de humedad relativa y también a las condiciones intermedias de 30ºC/65% de humedad relativa. En todas las condiciones y puntos de tiempo no se han producido cambios significativos en ningún parámetro. Por lo tanto, la comparación de la estabilidad del ácido libre de Aramchol y Aramchol N-metilglucamina demuestra un perfil de estabilidad similar de ambos compuestos. Además, aunque la exposición de la sal de meglumina de Aramchol a 40ºC/75% de HR causó un aumento del contenido de agua, no hubo cambios en los valores de pureza, que indica que, al formarse la sal, no hay cambios perjudiciales para la estabilidad de Aramchol.

Ejemplo 6. Solubilidad de las sales de Aramchol de N-metilglucamina, trometamina y L-lisina.

El Aramchol (ácido libre) tiene solubilidad limitada en medios acuosos (solubilidad en tampón a pH 6,0 <0,001 mg/ml, solubilidad máx. de 0,66 mg/ml en FeSSIF).

Se determinó la solubilidad de saturación de N-metilglucamina, trometamina y L-lisina en diferentes disoluciones tampón y medios bio-relevantes: tampón HCl de pH 1,2, tampón acetato de pH 4,5, solución salina de pH 5,5, tampón fosfato de pH 6,5, tampón fosfato de pH 7,0, PBS de pH 7,4, FaSSIF (pH 6.5), FeSSIF (pH 5,0) y agua desmineralizada (pH 7,8, no se ajustó después de la disolución). Los experimentos se realizaron suspendiendo una disolución saturada de 5 ml (~150 mg) durante 30 minutos y 24 horas a 37ºC. La excepción fue el agua: debido a la alta solubilidad, se añadieron ~1.000 mg a 5 ml. Todos los experimentos se realizaron por duplicado. La tabla 11 demuestra la solubilidad de las sales de Aramchol en medios seleccionados.

Tabla 11. Vista general de la solubilidad de sales de Aramchol seleccionadas

		N-metil glucamina	Trometamina	L-lisina	Ácido libre de Aramchol
pH 1,2	30 min	0 mg/ml	0,02 mg/ml	0 mg/ml	n.a.
	24 h	0 mg/ml	0,29 mg/ml ± 0,35	0 mg/ml	No soluble
pH 4,5	30 min	0 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	n.a.
	24 h	0 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	No soluble
pH 5,5	30 min	0,04 mg/ml ± 0,06	0,03 mg/ml ± 0,02	0,05 mg/ml ± 0,02	n.a.
	24 h	0.00 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	No soluble
pH 6,5	30 min	Gel	Gel	Gel	n.a.
	24 h	Gel	Gel	Gel	<1 μg/ml
pH 7,0	30 min	18,85 mg/ml ± 1,88	29,39 mg/ml ± 7,45	21,16 mg/ml ± 3,36	n.a.
	24 h	Gel	Gel	Gel	No soluble
pH 7,4	30 min	31,83 mg/ml ± 2,35	22,97 mg/ml ± 3,16	32,72 mg/ml ± 1,80	n.a.
	24 h	Gel	Gel	Gel	n.a.
FaSSIF	30 min	Gel	Gel	Gel	0,05 mg/ml
	24h	Gel	Gel	Gel	0,13 mg/ml
FeSSIF	30 min	Gel	Gel	Gel	0,66 mg/ml
	24 h	Gel	Gel	Gel	0,31 mg/ml
Agua desmineralizada	30 min	156,51 mg/ml ± 24,19	45,04 mg/ml ± 1,26	49,27 mg/ml ± 0,91	n.a.
	24 h	109,72 mg/ml ± 8,61	Gel	Gel	No soluble

Media aritmética de datos ± desviación estándar

n.a no disponible

Los resultados muestran que la solubilidad de las sales de Aramchol depende del pH: a pH ácido (pH 1,2-6,5) es poco soluble, aumentando la solubilidad a pH 7 y superior. A pH 7, 7,4 se demuestran solubilidades similares para las tres sales. Sin embargo, sorprendentemente, se demuestra un aumento relativamente grande de la solubilidad (5 veces) para la sal de N-metilglucamina al aumentar el pH desde 7,4 (PBS) hasta pH 7,8 (agua desmineralizada), en comparación con las otras dos sales.

En general, la comparación de la solubilidad entre el Aramchol (ácido libre) y las sales demuestra una mayor solubilidad para las sales de Aramchol a un pH fisiológico relevante (aumento de 30.000 veces de la concentración a un pH de 7,4).

Ejemplo 7. Experimentos de permeabilidad *in vivo* en ratas canuladas

Se realizó un estudio de permeabilidad *in vivo* de sales de Aramchol en ratas Wistar macho canuladas en la vena yugular y en el yeyuno. Se realizó la canulación intestinal con el fin de evitar la protonación de sales de Aramchol en pH gástrico ácido. Se administraron sales de Aramchol solubilizadas en PBS (30 mg/ml) al intestino de ratas (yeyuno) en una dosis de 100 mg/kg (basándose en ácido libre), mediante una cánula insertada en el lado proximal del yeyuno. Se administró una suspensión de ácido libre de Aramchol (en PBS, 30 mg/ml) por la misma vía y se usó como control. Se extrajeron muestras de sangre mediante una cánula insertada en la vena yugular en puntos de tiempo predeterminados (antes de la dosis, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h, 24 h después de la dosis). Se midieron las concentraciones plasmáticas de Aramchol (ácido libre) utilizando un método de cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (CL-EM-EM) de Analyst Bioanalytical Laboratories, Israel. Todos los parámetros PK se calcularon usando un análisis no compartimental. Solo se utilizaron en el análisis aquellas concentraciones plasmáticas iguales a o mayores que el límite inferior de cuantificación (LOQ) (48,66 ng/ml). Las concentraciones plasmáticas < LOQ que se produjeron desde la dosis previa hasta la primera concentración ≥ LOQ se trataron como 0. Se usaron los tiempos de muestreo reales para todos los análisis farmacocinéticos. Se calcularon los siguientes parámetros PK: concentración plasmática máxima ($C_{máx}$), tiempo hasta $C_{máx}$ ($T_{máx}$), área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo desde el momento de la administración hasta la última concentración plasmática (AUC_{0-t}), AUC/dosis, semivida de eliminación (t½). $C_{máx}$ y $T_{máx}$ se tomaron directamente de los datos. El área bajo la curva desde cero hasta la muestra final con una concentración ≥ LOQ. El AUC_{0-t} se calculó usando el método trapezoidal lineal.

Tal como se muestra en la tabla 12, la media ± error estándar de $C_{máx}$ y AUC/dosis de Aramchol (ácido libre) fue menor en comparación con las tres sales de N-metilglucamina, lisina y trometamina. Se observó un aumento sustancial tanto en AUC/dosis como en $C_{máx}$ para la sal de N-metilglucamina, en comparación con el ácido libre de Aramchol (figura 9). Con un promedio de los 2 parámetros, el aumento fue de 2,6 veces y 3,6 veces para AUC/dosis y $C_{máx}$, respectivamente.

Tomados en conjunto, los datos muestran una exposición sistémica aumentada para todas las sales de Aramchol, en comparación con la forma de ácido libre, apoyando el papel de la solubilidad acuosa en la absorción de Aramchol.

Tabla 12. Resumen de los parámetros PK para Aramchol (ácido libre) después de la administración intrayeyunal de Aramchol y sales de Aramchol

Parámetro	Aramchol (ácido libre)	Sal de N-metilglucamina	Sal de lisina	Sal de trometamina
$C_{máx}$ (ng/ml)	1362,3 ± 359,1 (5)	5012,1 ± 1879,9 (5)	7294,2 ± 5463,0 (5)	2254,9 ± 208,3 (4)
$T_{máx}$ (h)	4,0 (5)	4,0 (5) [2-4]	2,0 (5) [2-4]	2,0 (4) [2-4]
AUC_{0-t} (h x ng/ml)	12129,7 ± 3626,2 (5)	33625,2 ± 9567,7 (5)	26460,3 ± 9415,5 (5)	18583,9 ± 2283,8 (4)
AUC/dosis (h x ng x kg/ml x mg)	124,2 ± 38,9 (5)	331,7 ± 82,5 (5)	270,0 ± 99,0 (5)	184,7 ± 22,7 (4)
$t_{½}$ (h)	4,5 (1)	5,2 ± 1,0 (5)	5,2 ± 1,0 (5)	6,5 ± 2,4 (4)

Media aritmética ± error estándar (N) excepto para $T_{máx}$ para la que se notifica la mediana (N) [Intervalo]. N: número de animales en cada grupo.

Conclusiones

Se examinaron aproximadamente 30 bases farmacéuticamente aceptables en un esfuerzo por preparar sales de Aramchol. De ellas, se encontró que las sales a base de aminas eran adecuadas y, en particular, se han seleccionado tres sales de Aramchol como sales preferidas. Tal como se demuestra en el presente documento, se han preparado las sales de N-metilglucamina, lisina y trometamina de Aramchol y se ha mostrado que poseen propiedades ventajosas. A continuación en el presente documento, se resumen varios hallazgos inesperados relacionados con las sales de Aramchol en general, y las tres sales preferidas en particular.

1) La selección de una base adecuada para la formación de sales de Aramchol farmacéuticamente adecuadas no es trivial. No hay una correlación clara entre el peso molecular de la base, el pKa, la presencia de grupos polares o los factores estéricos en la formación de la sal.

2) Las diferencias sustanciales de solubilidad en un intervalo de pH estrecho (7,0-7,8) también fueron inesperadas. Por ejemplo, las tres sales sometidas a prueba muestran una solubilidad similar en pH 7 y 7,4. Sin embargo, la solubilidad de N-metilglucamina en agua desmineralizada (pH 7,8) es 5 veces mayor que en pH 7,4, mientras que para las otras dos sales la diferencia es relativamente baja.

3) La predicción de la estabilidad en disolución es inesperada. Por ejemplo, la sal de N-metilglucamina muestra una estabilidad relativamente mayor en disolución en comparación con las otras dos sales (tabla 11). Por ejemplo, a pH = 7,8 (agua desmineralizada), tanto la disolución de sal de trometamina como la de sal de lisina se transformaron después de 24 horas, mientras que la sal de N-metilglucamina permaneció como disolución.

Además, hay varias propiedades ventajosas de las sales de Aramchol sometidas a prueba en comparación con el ácido libre de Aramchol:

La solubilidad *in vitro* de las sales de Aramchol se correlaciona con su absorción *in vivo*: La solubilidad aumentada de las tres sales, en comparación con el ácido libre de Aramchol en medio fisiológico (tampón de pH 7-7,8) da como resultado una exposición aumentada (medida mediante $C_{máx}$ y AUC). Además, una mayor exposición de N-metilglucamina en comparación con las sales de lisina y trometamina puede correlacionarse con su estabilidad aumentada en disolución.

Finalmente, los valores relativamente más altos de densidad aparente y compactada para la sal de N-metilglucamina (en comparación con el ácido libre de Aramchol) sugieren que sus propiedades de flujo mejoradas pueden facilitar un procedimiento de producción de comprimidos más simple evitando la etapa adicional de granulación húmeda u otras etapas diseñadas para superar el problema de compresibilidad de los polvos de baja densidad y las etapas necesarias para permitir el llenado de cápsulas duras.

REIVINDICACIONES

1. Una sal de ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico con una amina.

2. La sal según la reivindicación 1, en la que la amina se selecciona del grupo que consiste en amoníaco, una amina primaria, una amina secundaria, una amina terciaria, un compuesto de amonio cuaternario, un aminoalcohol, un aminoazúcar y un aminoácido; preferiblemente en la que la amina se selecciona del grupo que consiste en un aminoalcohol, un aminoazúcar y un aminoácido.

3. La sal según la reivindicación 1 seleccionada del grupo que consiste en sales de amonio, benzatina, trimetilglicina (betaína), etanolamina, dietanolamina, dietilamina, arginina, lisina, colina, deanol, 2-dietilaminoetanol, N-metilglucamina (meglumina), N-etilglucamina (eglumina) y trometamina.

4. La sal según la reivindicación 1, que se selecciona del grupo que consiste en:

   sal de lisina del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico;

   sal de trometamina del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico; y

   sal de N-metilglucamina del ácido β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico.

5. La sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que está en forma cristalina.

6. La sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que está en forma amorfa.

7. Un método para preparar la sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, comprendiendo el método las etapas de:

   (a) mezclar ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico con una amina en presencia de un disolvente;

   (b) opcionalmente, calentar la mezcla hasta una temperatura igual o inferior al punto de ebullición del disolvente;

   (c) opcionalmente, enfriar la mezcla; y

   (d) aislar la sal de amina así obtenida del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico.

8. Un método para preparar la sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, comprendiendo el método las etapas de:

   (a) mezclar ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico con una amina en presencia de un disolvente;

   (b) opcionalmente, calentar la mezcla hasta una temperatura igual o inferior al punto de ebullición del disolvente;

   (c) añadir un antidisolvente;

   (c) opcionalmente, enfriar la mezcla; y

   (d) aislar la sal de amina así obtenida del ácido 3β-araquidilamido-7α,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico.

9. El método según la reivindicación 7 u 8, en el que el disolvente se selecciona de agua, un alcohol y acetato de etilo.

10. El método según la reivindicación 8, en el que el antidisolvente es acetona o acetato de etilo.

11. El método según la reivindicación 7 u 8, en el que la amina se selecciona del grupo que consiste en amoníaco, una amina primaria, una amina secundaria, una amina terciaria, un compuesto de amonio cuaternario, un aminoalcohol, un aminoazúcar y un aminoácido.

12. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y opcionalmente al menos un portador, diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptables,

    preferiblemente en la que la composición está en una forma seleccionada del grupo que consiste en comprimidos, píldoras, cápsulas, gránulos, grageas, polvos, pastillas, sobres, obleas, parches, elixires, suspensiones, dispersiones, emulsiones, disoluciones, jarabes, aerosoles, pomadas, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, disoluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles,

    más preferiblemente en la que la composición es adecuada para administrar por vía oral, transdérmica o tópica.

13. La composición farmacéutica según la reivindicación 12 para su uso en:

reducir los niveles de colesterol en la sangre o tratar el hígado graso; o

tratar la esteatohepatitis no alcohólica (NASH); o

disolver cálculos biliares de colesterol en la bilis y para prevenir la formación de tales cálculos biliares; o

tratar la arteriosclerosis; o

tratar una enfermedad o trastorno asociado con un metabolismo de la glucosa alterado; o

tratar, prevenir o inhibir la progresión de una enfermedad cerebral, caracterizada por depósitos de placa amiloide.

14. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 13, en la que la enfermedad o trastorno asociado con un metabolismo de la glucosa alterado se selecciona del grupo que consiste en hiperglucemia, diabetes, resistencia a la insulina y obesidad.

15. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 13, en la que la enfermedad cerebral caracterizado por depósitos de placa amiloide es la enfermedad de Alzheimer.

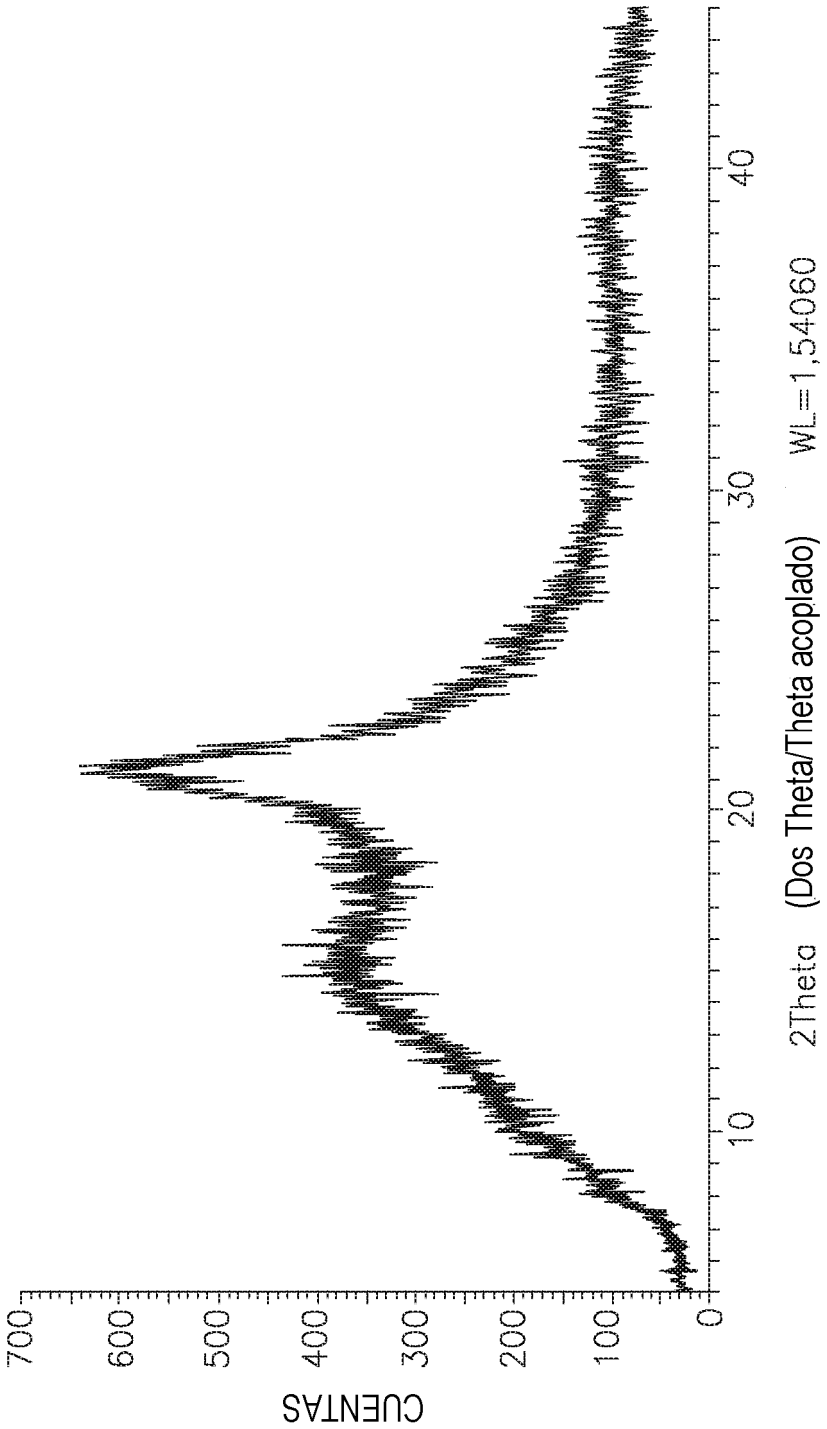

CUENTAS
700
600
500
400
300
200
100
0
10
20
30
40
2Theta (Dos Theta/Theta acoplado) WL=1,54060

Figura 1

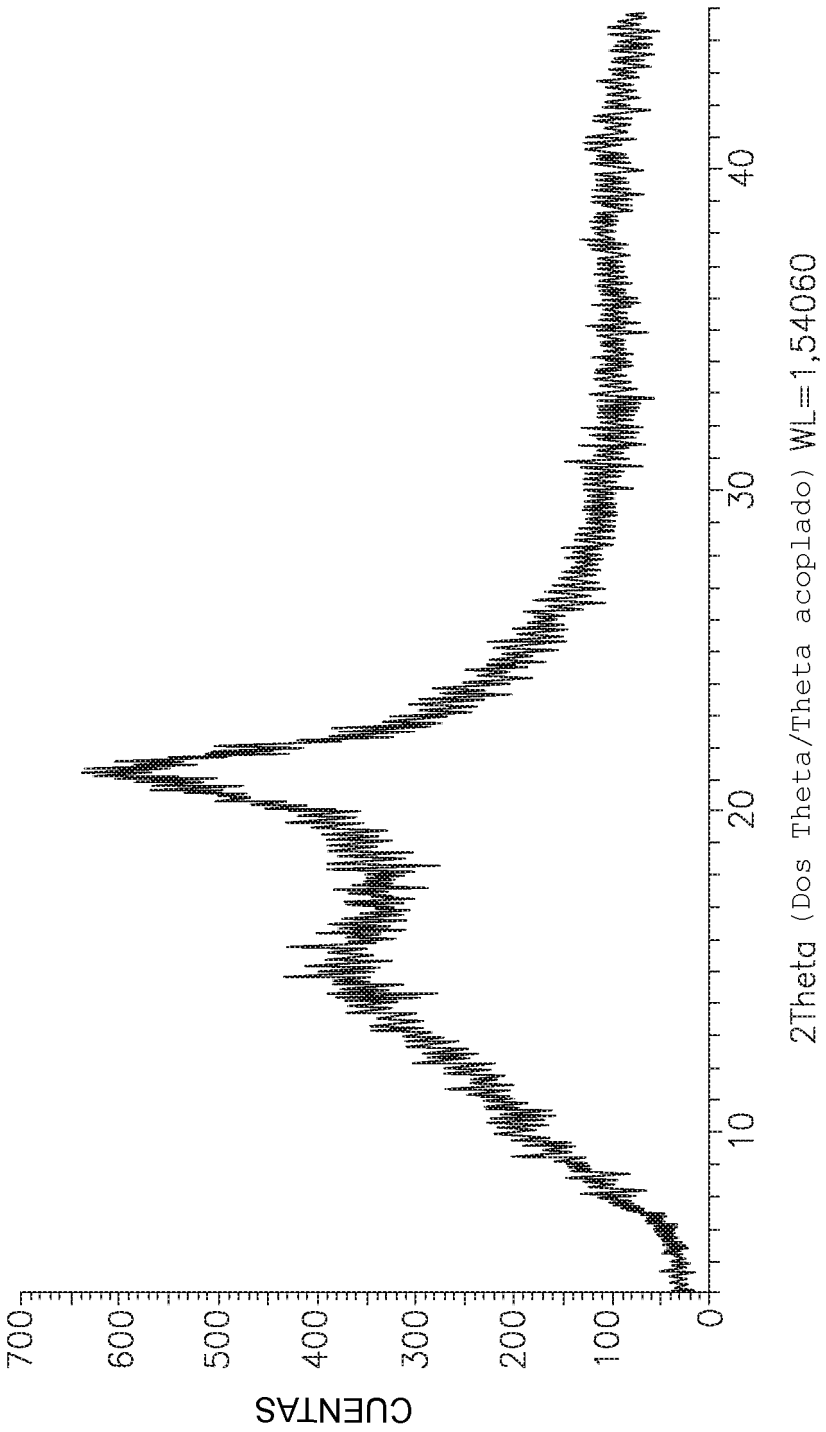

CUENTAS
700
600
500
400
300
200
100
0
10
20
30
40
2Theta (Dos Theta/Theta acoplado) WL=1,54060

Figura 2

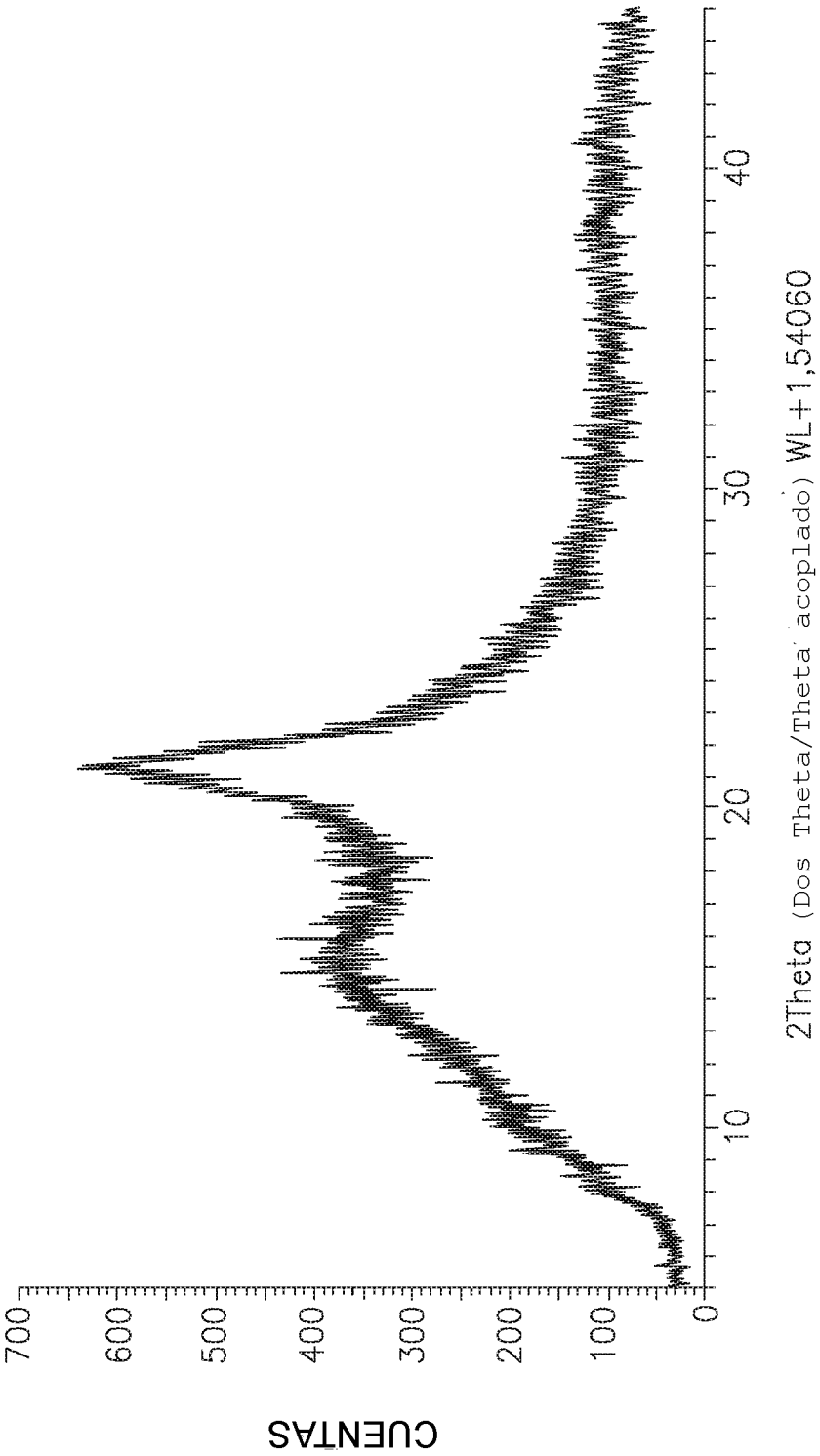

CUENTAS
700
600
500
400
300
200
100
0
10
20
30
40
2Theta (Dos Theta/Theta acoplado) WL=1,54060

Figura 3

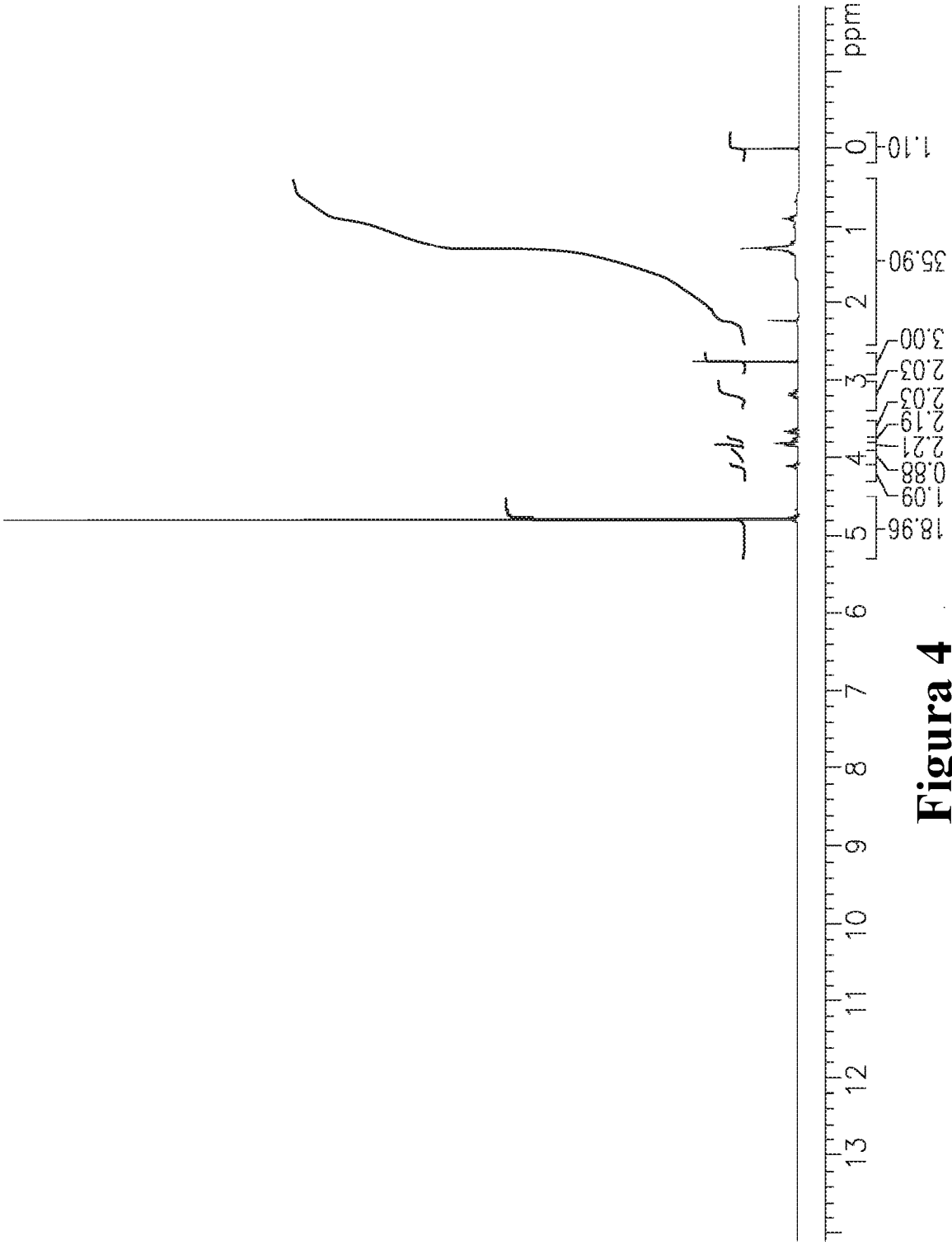

ppm
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
18,96
1,09
0,88
2,21
2,19
2,03
2,03
3,00
35,90
1,10

Figura 4

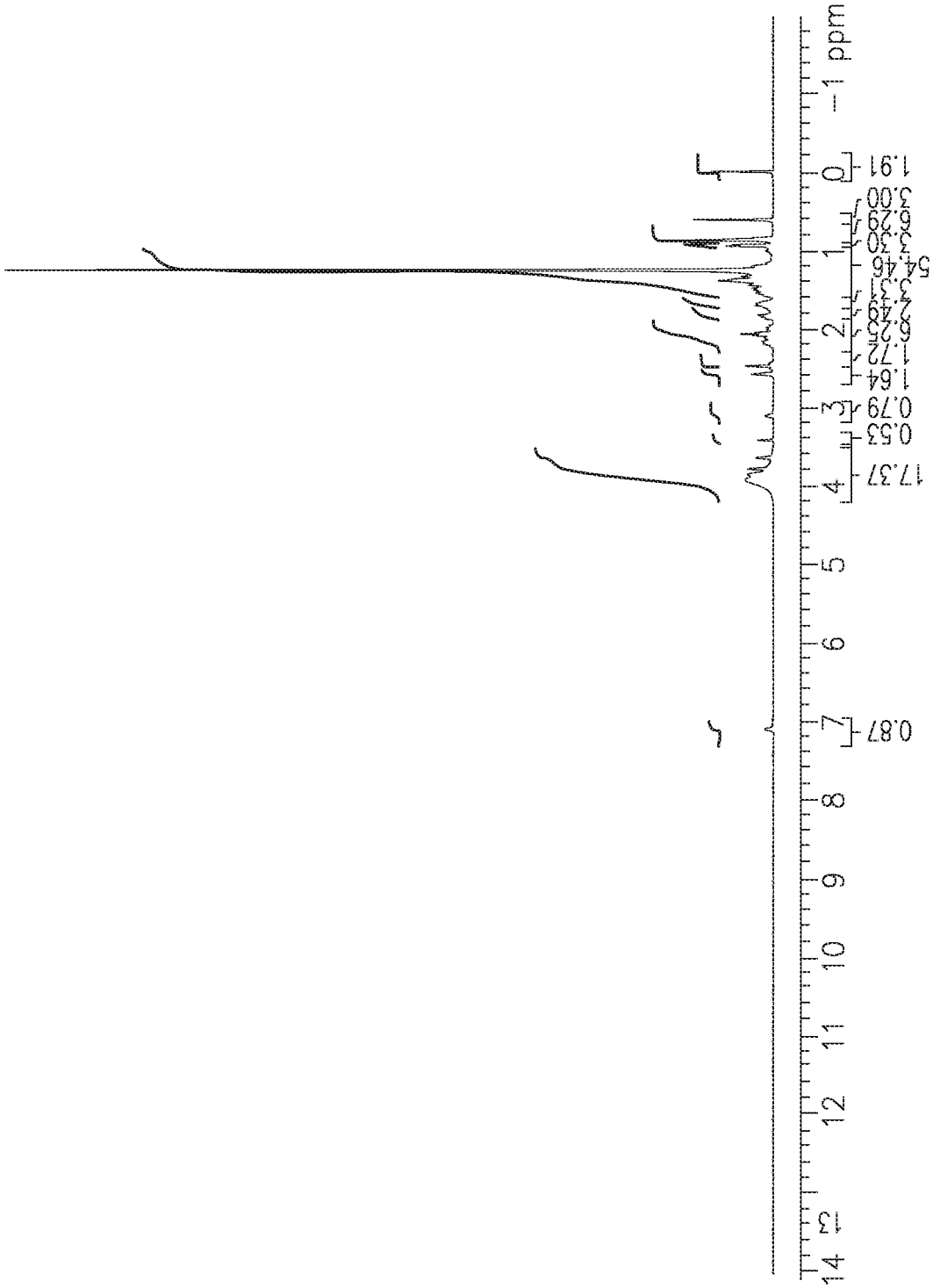

14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
−1 ppm
0,87
17,37
0,53
0,79
1,64
1,72
6,25
7,49
3,51
54,46
3,30
6,29
3,00
1,91

Figura 5

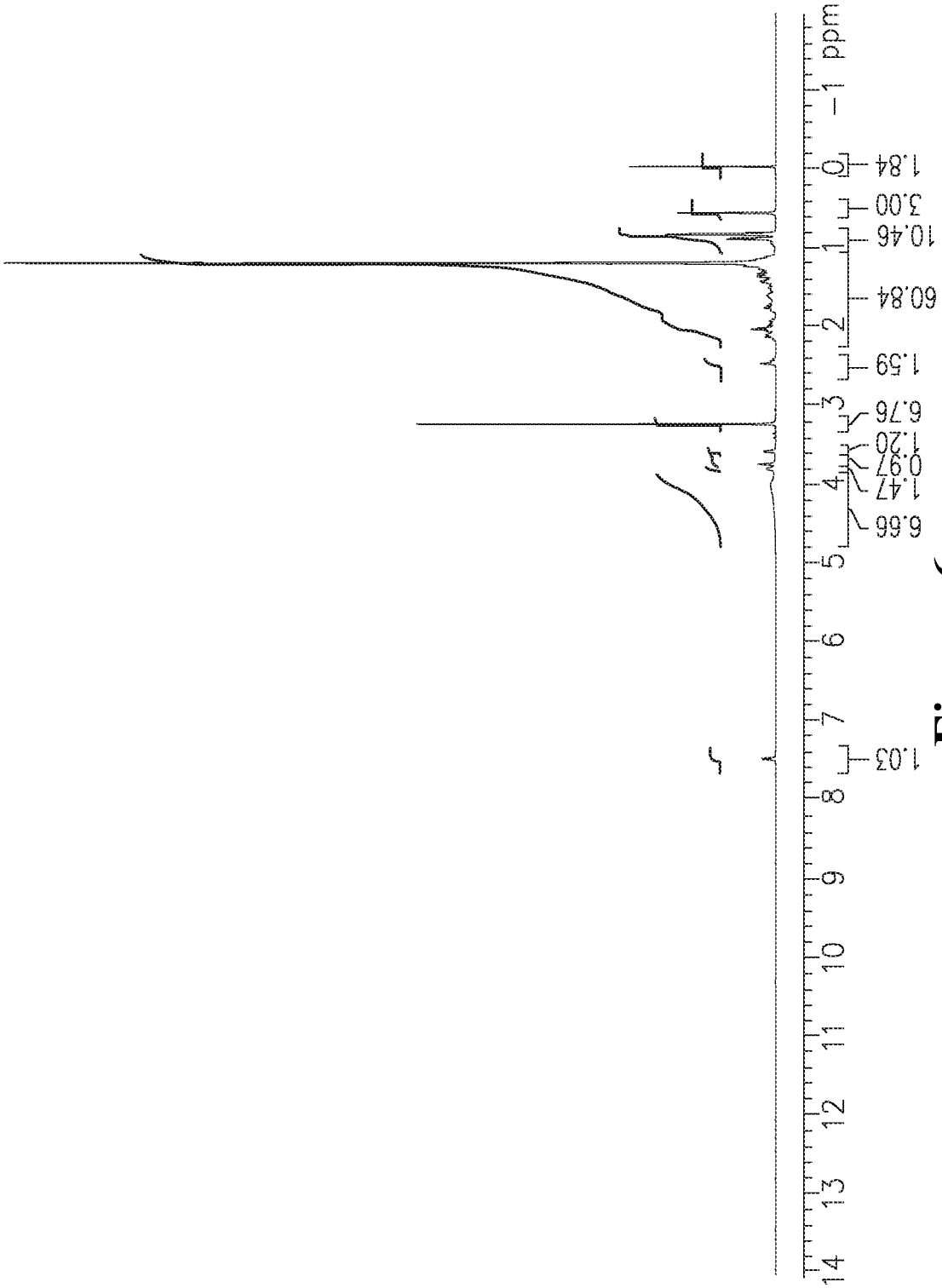

14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
−1 ppm
1.84
3.00
10.46
60.84
1.59
6.76
1.20
0.97
1.47
6.66
1.03

Figura 6

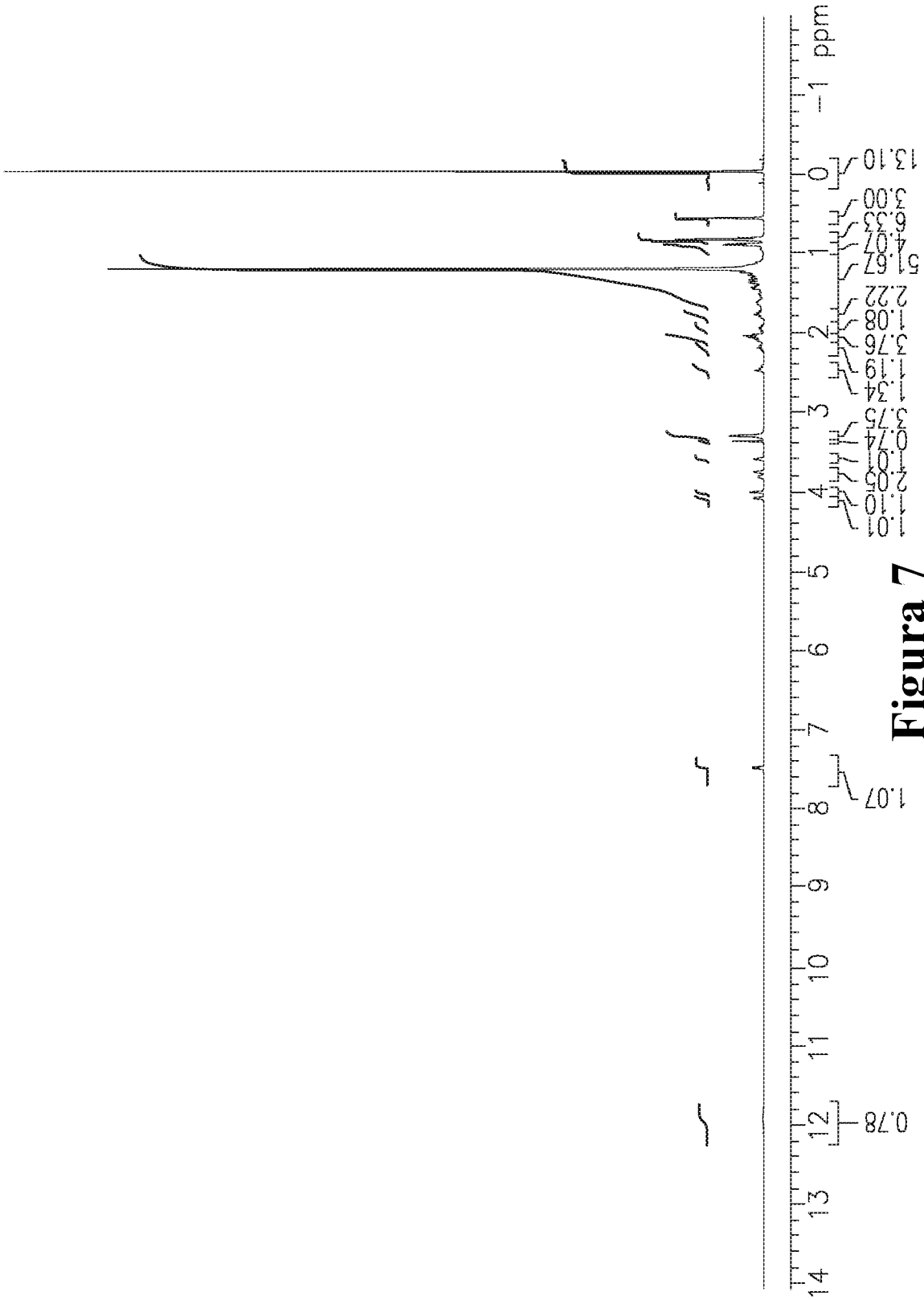

ppm
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
−1
0.78
1.07
1.01
1.10
2.05
1.01
0.74
3.75
1.34
1.19
3.76
1.08
2.22
51.67
4.07
6.33
3.00
13.10

Figura 7

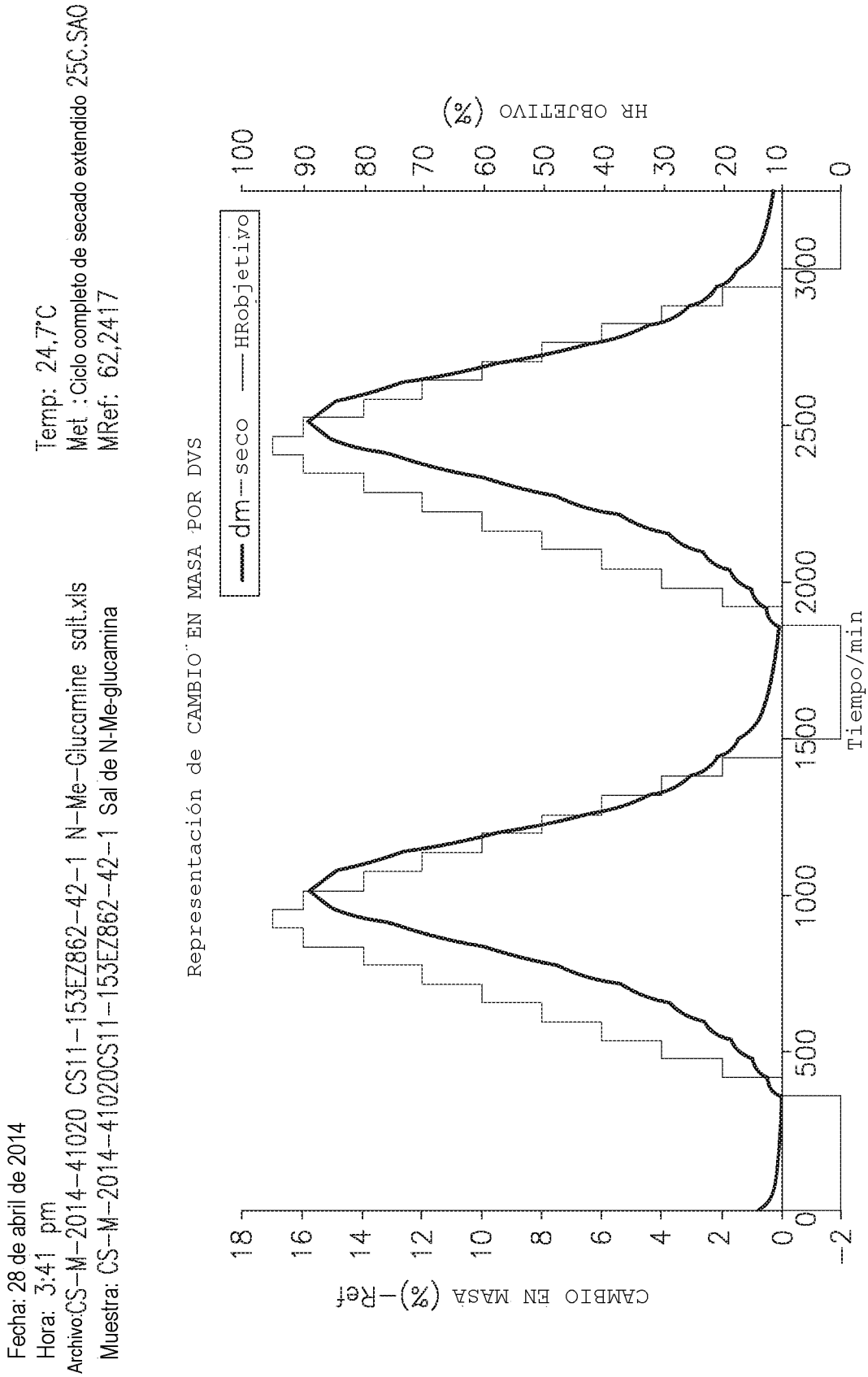

Fecha: 28 de abril de 2014
Hora: 3:41 pm
Archivo:CS-M-2014-41020 CS11-153EZ862-42-1 N-Me-Glucamine salt.xls
Muestra: CS-M-2014-41020CS11-153EZ862-42-1 Sal de N-Me-glucamina
Temp: 24,7°C
Met : Ciclo completo de secado extendido 25C.SAO
MRef: 62,2417
Representación de CAMBIO EN MASA POR DVS
dm--seco
HRobjetivo
CAMBIO EN MASA (%)-Ref
HR OBJETIVO (%)
Tiempo/min
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
-2
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
500
1000
1500
2000
2500
3000

Figura 8

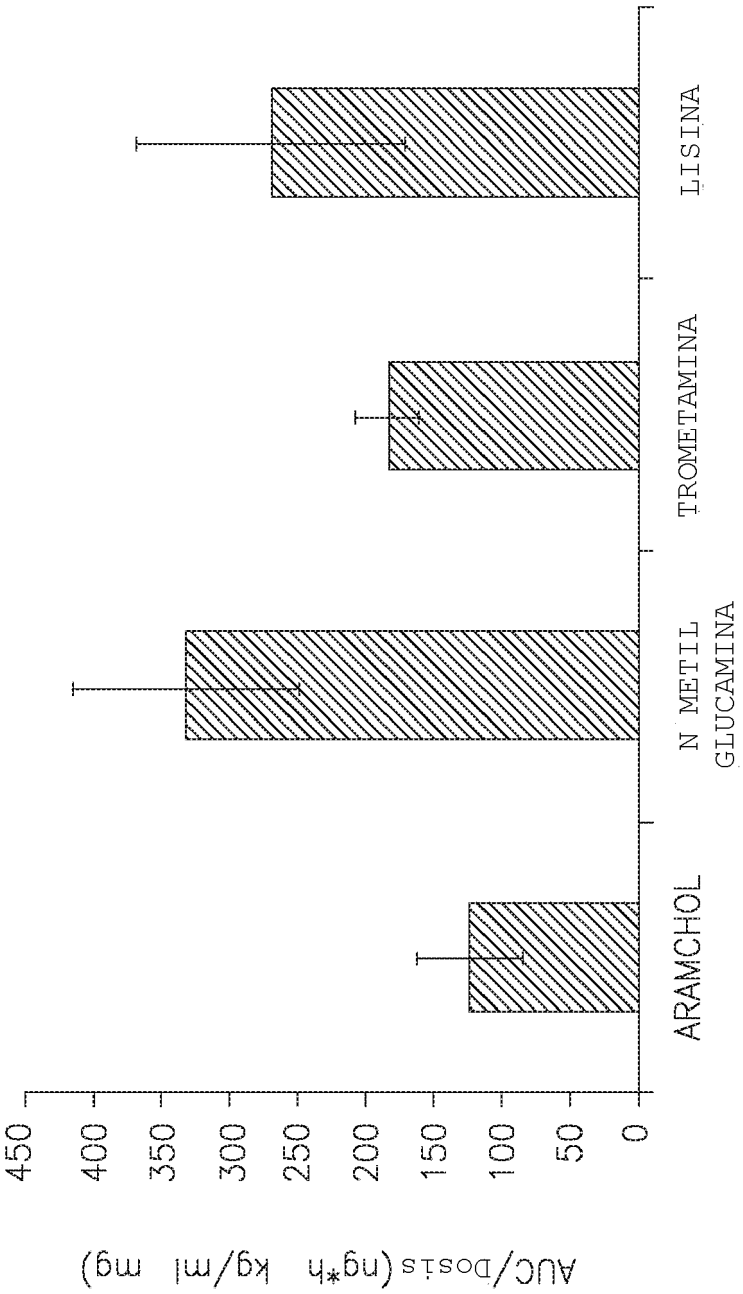

AUC/Dosis (ng*h kg/ml mg)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
ARAMCHOL
N METIL GLUCAMINA
TROMETAMINA
LISINA

Figura 9