

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 746 311**

51 Int. Cl.:

C07J 9/00 (2006.01)

A61K 31/575 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.06.2012 E 16192999 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019 EP 3138850**

54 Título: **Composiciones que contienen ácido desoxicólico y agua desionizada al 10 % en etanol, dirigidas a la purificación del ácido desoxicólico**

30 Prioridad:

16.06.2011 US 201161497924 P

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

05.03.2020

73 Titular/es:

**ALLERGAN SALES, LLC (100.0%)
5 Giralda Farms
Madison, NJ 07940, US**

72 Inventor/es:

**GANLEY, DANIEL J. y
WILT, JEREMY**

74 Agente/Representante:

MARTÍN BADAJOZ, Irene

ES 2 746 311 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

Composiciones que contienen ácido desoxicólico y agua desionizada al 10 % en etanol, dirigidas a la purificación del ácido desoxicólico

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUD RELACIONADA

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención

En el presente documento se divulga la síntesis del ácido desoxicólico y sales del mismo, así como intermedios útiles en la síntesis del ácido desoxicólico. En el presente documento se divulgan además composiciones de ácido desoxicólico purificado y procedimientos para su purificación, en los que el ácido desoxicólico tiene una pureza de al menos un 99 %.

Estado de la técnica

La rápida eliminación de la grasa corporal es una antigua aspiración, y muchas sustancias han reivindicado el logro de dichos resultados, aunque pocas han demostrado resultados. La "mesoterapia", o el uso de inyectables para la eliminación de la grasa, no está ampliamente aceptada entre los médicos debido a las preocupaciones acerca de su seguridad y eficacia, aunque se han reivindicado sus beneficios homeopáticos y cosméticos desde la década de 1950. La mesoterapia se concibió originalmente en Europa como un procedimiento de uso de inyecciones cutáneas que contenían una mezcla de compuestos para el tratamiento de las afecciones médicas y cosméticas locales. Aunque la mesoterapia se empleó tradicionalmente para el alivio del dolor, sus aplicaciones cosméticas, en particular, la eliminación de la grasa y celulitis, recientemente han recibido atención en los Estados Unidos. Uno de dichos tratamientos informados para la reducción de la grasa localizada, que se popularizó en Brasil y usa inyecciones de fosfatidilcolina, se ha considerado erróneamente como sinónimo de mesoterapia. A pesar de su atractivo como una supuesta inyección "que disuelve la grasa", existen pocos datos acerca de la seguridad y eficacia de estos tratamientos cosméticos. Véase Rotunda, A.M. y M. Kolodney, *Dermatologic Surgery* 32:, 465-480 (2006) ("Mesotherapy and Phosphatidylcholine Injections: Historical Clarification and Review").

La literatura publicada recientemente informa de que el ácido biliar, el ácido desoxicólico y sales del mismo, tienen propiedades de eliminación de la grasa al inyectarse en depósitos de grasa *in vivo*. Véanse los documentos WO 2005/117900 y WO 2005/112942, así como los documentos US2005/0261258; US2005/0267080; US2006/127468; y US2006/0154906, todos incorporados en el presente documento por referencia en su totalidad). El desoxicolato inyectado en el tejido adiposo degrada los adipocitos por medio de un mecanismo citolítico. Debido a que el desoxicolato inyectado en la grasa se inactiva rápidamente mediante la exposición a proteínas y, a continuación, regresa rápidamente al contenido intestinal, sus efectos se mantienen espacialmente. Como resultado de este efecto de atenuación que confiere seguridad clínica, los tratamientos de eliminación de la grasa típicamente requieren de 4 - 6 sesiones. Esta eliminación de la grasa localizada sin la necesidad de cirugía es beneficiosa no solo para el tratamiento terapéutico relacionado con los depósitos de grasa localizada patológica (por ejemplo, dislipidemias relacionadas con la intervención médica en el tratamiento del VIH), sino también para la eliminación de la grasa cosmética sin el riesgo asociado inherente de la cirugía (por ejemplo, liposucción). Véanse Rotunda *et al.*, *Dermatol. Surgery* 30: 1001-1008 (2004) ("Detergent effects of sodium deoxycholate are a major feature of an injectable phosphatidylcholine formulation used for localized fat dissolution") y Rotunda *et al.*, *J. Am. Acad. Dermatol.* (2005: 973-978) ("Lipomas treated with subcutaneous deoxycholate injections"), ambas incorporadas en el presente documento por referencia en su totalidad.

Además, muchos esteroides importantes tienen un sustituyente α -hidroxi en la posición 12 del anillo de C del esteroide. Dichos compuestos incluyen, a modo de ejemplo, ácidos biliares tales como ácido desoxicólico, ácido cólico, ácido litocólico y similares. Hasta ahora, dichos compuestos se obtenían típicamente de fuentes bovinas y ovinas que proporcionaban una fuente disponible de ácidos biliares de una forma rentable. Sin embargo, con el reciente descubrimiento de que los patógenos, tales como priones, pueden contaminar dichas fuentes, los procedimientos alternativos para la síntesis de ácidos biliares a partir de fuentes vegetales o materiales de partida sintéticos se han vuelto cada vez más importantes. Por ejemplo, el ácido desoxicólico a partir de animales en Nueva Zelanda es una fuente de ácidos biliares para uso humano conforme a los regímenes reguladores de EE. UU., siempre que los animales continúen estando aislados y de otro modo libres de patógenos observables. Dichas condiciones rigurosas imponen una limitación en la cantidad de ácidos biliares adecuados procedentes de mamíferos y no descartan la posibilidad de que el ácido biliar esté libre de dichos patógenos.

Sigue existiendo la necesidad de obtener cantidades adecuadas de ácidos biliares eficaces, tales como el ácido desoxicólico, que se sepa desde el principio que están libres de restos de origen animal (o restos patógenos que pueden actuar en un animal, en particular, un mamífero, y para uso humano, que tienen un efecto nocivo sobre un ser humano) y otros agentes perjudiciales, tales como los metabolitos animales o microbianos, toxinas, incluyendo toxinas bacterianas, tales como pirógenos, para su uso como medicamentos en seres humanos.

Además, existe la necesidad de preparar una composición de ácido biliar libre de otros ácidos biliares no deseados. A este respecto, se sabe que el ácido desoxicólico procedentes de mamíferos está contaminado con ácido cólico. A su vez, se sabe además que el ácido cólico es un componente esencial en la formación de cálculos biliares. En consecuencia, existe una necesidad continua de proporcionar procedimientos para preparar y purificar el ácido desoxicólico, no dando como resultado dichos procedimientos la contaminación con otros ácidos biliares.

El documento US-A-2.891.972 divulga una purificación del ácido desoxicólico mediante precipitación a partir de iPrOH o EtOH (u otros disolventes alcohólicos miscibles en agua) y agua blanda en presencia de bicarbonato de sodio como una base.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

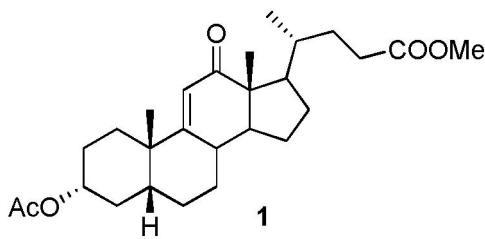
En un modo de realización divulgado en el presente documento, se proporciona un procedimiento para purificar el ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo, comprendiendo el procedimiento:

i) una primera recristalización del ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo a partir de un alcohol C₁₋₃ en cloruro de metileno para proporcionar un producto; y

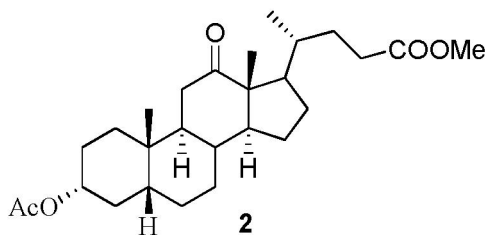
ii) una segunda recristalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de agua desionizada y un alcohol C₁₋₃ para proporcionar ácido desoxicólico puro o una sal del mismo.

En otro modo de realización divulgado en el presente documento, se proporciona un procedimiento para preparar ácido desoxicólico puro o una sal del mismo, comprendiendo el procedimiento:

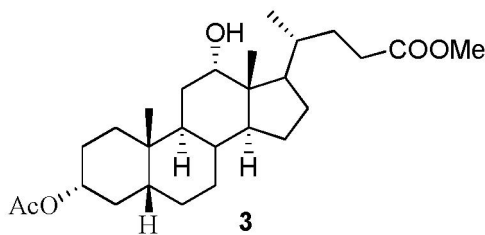
a) poner en contacto el compuesto **1**



con hidrógeno y Pd/C en condiciones de hidrogenación que comprenden hidrógeno y Pd sobre carbono en una autoclave mantenida a presión elevada, opcionalmente seguido de oxidación de cualquiera de los 12 grupos hidroxilo formados durante la hidrogenación con clorocromato de piridinio en condiciones oxidantes para proporcionar el compuesto **2**;



b) hacer reaccionar el compuesto **2** con hidruro de litio y tri-*t*-alcoxialuminio en condiciones reductoras para proporcionar el compuesto **3**:



c) exponer el compuesto **3** a condiciones de desprotección e hidrólisis para formar el ácido desoxicólico bruto

o una sal del mismo; y

d) purificar el ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo mediante un procedimiento que comprende:

5 i) una primera recristalización del ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo a partir de un alcohol C₁₋₃ en cloruro de metileno para proporcionar un producto; y

ii) una segunda recristalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de agua desionizada y un alcohol C₁₋₃ para proporcionar ácido desoxicólico puro o una sal del mismo.

10 En el presente documento también se divulgan composiciones que comprenden ácido desoxicólico o una sal del mismo y una mezcla de uno o más alcoholes C₁₋₃ y cloruro de metileno.

15 La presente invención se refiere a composiciones que consisten en ácido desoxicólico o una sal del mismo y una mezcla de agua desionizada al 10 % en etanol.

En un modo de realización, la pureza del ácido desoxicólico puro o una sal del mismo es al menos de un 99 %. En otro modo de realización, la pureza es al menos de un 99,5 %. En otro modo de realización, la pureza es al menos de un 99,75 %.

20 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

25 Como se usa en el presente documento, determinados términos pueden tener los siguientes significados definidos. Como se usa en la memoria descriptiva y reivindicaciones, la forma en singular "uno", "una" y "el/la" incluyen referencias al singular y plural a menos que el contexto lo dicte claramente de otro modo.

30 A menos que se indique de otro modo, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, condiciones de reacción, etc., usadas en la memoria descriptiva y reivindicaciones se han de entender como que están modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". En consecuencia, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos expuestos en la siguiente memoria descriptiva y reivindicaciones adjuntas son aproximaciones. Cada parámetro numérico se debe interpretar al menos en vista del número de dígitos significativos informados y aplicando técnicas de redondeo habituales.

35 Como se usa en el presente documento, el término "que comprende" pretende significar que los compuestos y procedimientos incluyen los elementos citados, pero sin excluir a otros. "Que consiste esencialmente en", cuando se usa para definir composiciones y procedimientos, significará que excluye a otros elementos de cualquier importancia esencial para los compuestos o procedimiento. "Que consiste en" significará que excluye a más de los elementos traza de otros ingredientes para los compuestos reivindicados y etapas sustanciales del procedimiento. Los modos de realización definidos mediante cada uno de estos términos de transición están dentro del alcance de la presente invención. En consecuencia, se pretende que los procedimientos y compuestos puedan incluir etapas y componentes adicionales (que comprendan) o de forma alternativa incluyan etapas y compuestos adicionales de ninguna importancia (que consistan esencialmente en) o de forma alternativa que estén destinados solo las etapas o compuestos de los procedimientos señalados (que consistan en).

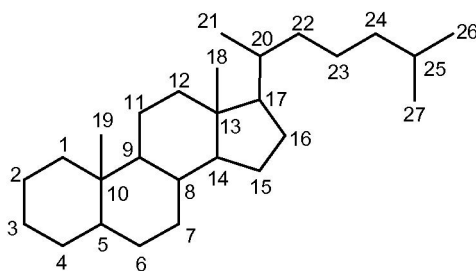
45 El término "agente oxidante" se refiere a un reactivo que puede aceptar electrones en una reacción de oxidación-reducción. De esta manera, se puede añadir oxígeno a una molécula o se puede eliminar hidrógeno de una molécula. Los agentes oxidantes incluyen, solo a modo de ejemplo, reactivo de Jones, hidroperóxido de *terc*-butilo, hipoclorito de sodio, clorocromato de piridinio y CrO₃. En un ejemplo, el agente oxidante es específico para los alcoholes vecinos (1,2) e incluye compuestos de peryodato. Dichos agentes oxidantes a veces se denominan "agentes oxidantes de alcoholes vecinos".

50 El término "agente reductor" se refiere a un reactivo que puede donar electrones en una reacción de oxidación-reducción, lo que permite que se añada hidrógeno a una molécula. Los agentes reductores adecuados incluyen hidruro de litio y aluminio, borohidruro de sodio, cianoborohidruro de sodio y similares.

55 El término "condiciones de hidrogenación" se refiere a las condiciones y catalizadores adecuados para introducir H₂ en uno o más dobles enlaces. Los catalizadores de hidrogenación incluyen los basados en metales del grupo del platino (platino, paladio, rodio y rutenio), tales como Pd/C y PtO₂.

60 El término "sal farmacéuticamente aceptable" o "sal del mismo" se refiere a sales farmacéuticamente aceptables del ácido desoxicólico, estando dichas sales derivadas de una variedad de contraiones orgánicos e inorgánicos bien conocidos en la técnica e incluyen, solo a modo de ejemplo, sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio y tetraalquilamonio.

65 La numeración del esqueleto esteroideo como se usa en el presente documento sigue la convención general:



Se ha de entender que, a menos que se especifique de otro modo, los esqueletos solo representan la posición de los átomos de carbono. Uno o más enlaces entre dos átomos de carbono adyacentes puede ser un doble enlace y uno o más de los átomos de carbono pueden estar opcionalmente sustituidos.

El término "ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo" se refiere al ácido desoxicólico con una pureza de menos de un 98 % (como se determina mediante HPLC).

El término "ácido desoxicólico puro o una sal del mismo" se refiere al ácido desoxicólico con una pureza de al menos un 99 % (como se determina mediante HPLC). Se entiende que el término "puro" no significa que las impurezas estén completamente excluidas de la composición. Están presentes algunas impurezas, pero la cantidad total de impurezas es de no más de un 1 %.

Procedimientos sintéticos

Los diversos materiales de partida, intermedios y compuestos de los modos de realización preferentes se pueden aislar y purificar cuando resulte apropiado usando técnicas convencionales, tales como precipitación, filtración, cristalización, evaporación, destilación y cromatografía. Se puede realizar la caracterización de estos compuestos usando procedimientos convencionales tales como mediante punto de fusión, espectro de masas, resonancia magnética nuclear y diversos otros análisis espectroscópicos.

Un modo de realización divulgado en el presente documento proporciona la síntesis del ácido desoxicólico a partir del compuesto 1. La síntesis del compuesto 1 se ha divulgado en el documento PCT/US2010/061150 que se incorpora por referencia en su totalidad.

Procedimientos

Un modo de realización divulgado en el presente documento proporciona un procedimiento para purificar el ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo, comprendiendo el procedimiento:

i) una primera recrystalización del ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo a partir de un alcohol C_{1-3} en cloruro de metileno; y

ii) una segunda recrystalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de agua desionizada y un alcohol C_{1-3} para proporcionar ácido desoxicólico puro o una sal del mismo.

En otro modo de realización divulgado en el presente documento, el alcohol C_{1-3} en la etapa i) comprende metanol. En otro modo de realización, el alcohol C_{1-3} en la etapa i) comprende un 1 % en mol - 5 % en mol de metanol en cloruro de metileno. En un modo de realización, el alcohol C_{1-3} en la etapa i) comprende un 1 % en mol de metanol; de forma alternativa, un 2 % en mol de metanol; de forma alternativa, un 3 % en mol de metanol; de forma alternativa, un 4 % en mol de metanol; y, de forma alternativa, un 5 % en mol de metanol. En otro modo de realización, el alcohol C_{1-3} en la etapa i) comprende un 2 % en mol de metanol en cloruro de metileno. En otro modo de realización, la etapa i) comprende además una temperatura de aproximadamente 32-42 °C; de forma alternativa, aproximadamente 34-40 °C; y, de forma alternativa, aproximadamente 35-37 °C. En otro modo de realización divulgado en el presente documento, la etapa i) comprende además una temperatura de aproximadamente 35-37 °C.

Otro modo de realización divulgado en el presente documento proporciona un procedimiento para purificar el ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo, comprendiendo el procedimiento:

i) una primera recrystalización del ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo a partir de un 2 % en mol de MeOH en CH_2Cl_2 a una temperatura de aproximadamente 35-37 °C; y

ii) una segunda recrystalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de agua desionizada y un alcohol C_{1-3} para proporcionar ácido desoxicólico puro o una sal del mismo.

En otro modo de realización divulgado en el presente documento, el alcohol C₁₋₃ en la etapa ii) comprende etanol. En otro modo de realización, la etapa ii) comprende una segunda recrystalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de agua desionizada al 5 % en etanol; de forma alternativa, agua desionizada al 10 % en etanol; y, de forma alternativa, agua desionizada al 15 % en etanol. En otro modo de realización divulgado en el presente documento, la etapa ii) comprende una segunda recrystalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de agua desionizada al 10 % en etanol.

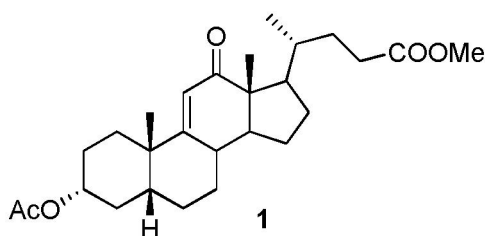
En otro modo de realización, en el presente documento se divulga un procedimiento para purificar el ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo, comprendiendo el procedimiento:

i) una primera recrystalización del ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo a partir de un 2 % en mol de metanol en cloruro de metileno a una temperatura de aproximadamente 35-37 °C; y

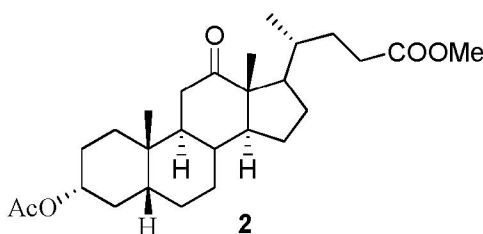
ii) una segunda recrystalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de agua desionizada al 10 % en etanol para proporcionar ácido desoxicólico puro o una sal del mismo.

En otro modo de realización, en el presente documento se divulga un procedimiento para preparar ácido desoxicólico o una sal del mismo, comprendiendo el procedimiento:

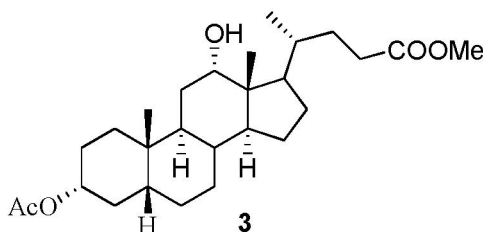
a) poner en contacto el compuesto **1**



con hidrógeno y Pd/C en condiciones de hidrogenación que comprenden hidrógeno y Pd sobre carbono en una autoclave mantenida a presión elevada, opcionalmente seguido de oxidación de cualquiera de los 12 grupos hidroxilo formados durante la hidrogenación con clorocromato de piridinio en condiciones oxidantes para proporcionar el compuesto **2**;



b) hacer reaccionar el compuesto **2** con hidruro de litio y tri-*t*-alcoxialuminio en condiciones reductoras para proporcionar el compuesto **3**:



c) exponer el compuesto **3** a condiciones de desprotección e hidrólisis para formar el ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo; y

d). purificar el ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo mediante un procedimiento que comprende:

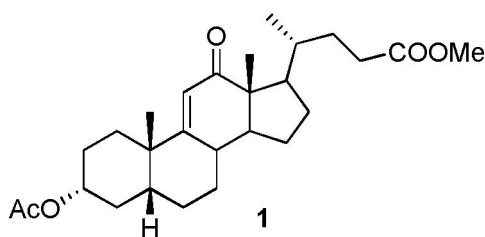
i) una primera recrystalización del ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo a partir de un alcohol C₁₋₃ en cloruro de metileno; y

ii) una segunda recrystalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de agua desionizada y un alcohol C₁₋₃ para proporcionar ácido desoxicólico puro o una sal del mismo.

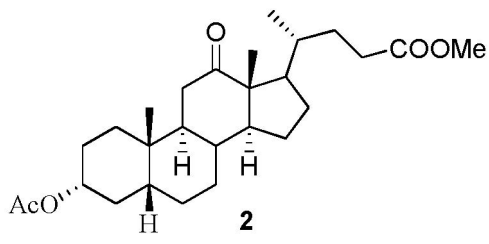
5 En otro modo de realización como se divulga en el presente documento, el alcohol C₁₋₃ en la etapa d)i) comprende metanol. En otro modo de realización, el alcohol C₁₋₃ en la etapa d)ii) comprende etanol. En otro modo de realización divulgado en el presente documento, el alcohol C₁₋₃ en la etapa d)i) comprende metanol y el alcohol C₁₋₃ en la etapa d)ii) comprende etanol.

10 En otro modo de realización, en el presente documento se divulga un procedimiento para preparar ácido desoxicólico puro o una sal del mismo, comprendiendo el procedimiento:

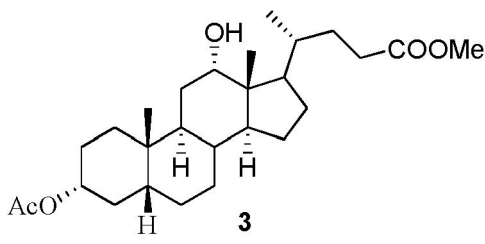
a) poner en contacto el compuesto **1**



15 con hidrógeno y Pd/C en condiciones de hidrogenación que comprenden hidrógeno y Pd sobre carbono en una autoclave mantenida a presión elevada, opcionalmente seguido de oxidación de cualquiera de los 12 grupos hidroxilo formados durante la hidrogenación con clorocromato de piridinio en condiciones oxidantes para proporcionar el compuesto **2**;



25 b) hacer reaccionar el compuesto **2** con hidruro de litio y tri-*t*-alcoxialuminio en condiciones reductoras para proporcionar el compuesto **3**:



30 c) exponer el compuesto **3** a condiciones de desprotección e hidrólisis para formar el ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo; y

d). purificar el ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo mediante un procedimiento que comprende:

35 i) una primera recrystalización del ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo a partir de un 2 % en mol de metanol en cloruro de metileno a una temperatura de aproximadamente 35-37 °C; y

ii) una segunda recrystalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de una mezcla de agua desionizada al 10 % en etanol para proporcionar ácido desoxicólico puro o una sal del mismo.

40 En el presente documento se divulgan composiciones que comprenden ácido desoxicólico o una sal del mismo y una mezcla de uno o más alcoholes C₁₋₃ y cloruro de metileno. En un modo de realización de este tipo, el alcohol

C₁₋₃ comprende metanol. En otro modo de realización de este tipo, el alcohol C₁₋₃ comprende un 1 % en mol - 5 % en mol de metanol. En otro modo de realización de este tipo, la composición comprende un 2 % en mol de metanol. En otro modo de realización de este tipo, la invención comprende composiciones, en las que dicho ácido desoxicólico o una sal del mismo es sintético.

En el presente documento se divulgan composiciones que comprenden ácido desoxicólico sintético o una sal del mismo y una mezcla de uno o más alcoholes C₁₋₃ y agua desionizada. En un modo de realización de este tipo, el alcohol C₁₋₃ comprende etanol. En otro modo de realización de este tipo, la composición comprende una mezcla de agua desionizada al 5 % en etanol; de forma alternativa, agua desionizada al 10 % en etanol; y, de forma alternativa, agua desionizada al 15 % en etanol. En otro modo de realización de este tipo, la composición comprende una mezcla de agua desionizada al 10 % en etanol. En otro modo de realización de este tipo, la invención comprende composiciones, en las que dicho ácido desoxicólico o una sal del mismo es sintético.

La presente invención se refiere a composiciones que consisten en ácido desoxicólico o una sal del mismo y una mezcla de agua desionizada al 10 % en etanol.

Ejemplos

En los ejemplos a continuación y en otra parte en la memoria descriptiva, las siguientes abreviaturas tienen los significados indicados. Si una abreviatura no está definida, tiene su significado aceptado en general.

Ac	Acetilo
DCA	Ácido desoxicólico
DCM (CH ₂ Cl ₂)	Diclorometano
ELSD	Detección evaporativa por dispersión de la luz
EtOH	Etanol
EtOAc	Acetato de etilo
g	Gramos
h	Hora
HCl	Ácido clorhídrico
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta presión
Hz	Hercio
LiAl(O ^{<i>t</i>} Bu) ₃ H	Hidruro de litio y tri- <i>tert</i> -butoxialuminio
PPS	Pérdida por secado
Me	Metilo
MeOH	Metanol
MHz	Megahercio
Min	Minutos
ml	Mililitro
Mmol	Milimoles
Mol	Moles
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NMD	No más de
Pd/C	Paladio sobre carbono
PtO ₂	Óxido de platino
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TLC	Cromatografía en capa fina
UV	Ultravioleta
Wt	Peso

General: se realizaron todas las manipulaciones de los materiales sensibles al oxígeno y a la humedad con matraces secados a la llama estándar de dos bocas en una atmósfera de argón o nitrógeno. Se realizó la cromatografía en columna usando gel de sílice (malla de 60-120). Se realizó la cromatografía en capa fina (TLC) analítica en placas de Merck Kiesinger 60 F₂₅₄ (0,25 mm). La visualización de las manchas fue mediante luz UV (254 nm) o bien mediante carbonización con una solución de ácido sulfúrico (5 %) y *p*-anisaldehído (3 %) en etanol.

Aparato: se registraron los espectros de resonancia magnética nuclear de protón y carbono-13 (RMN de ¹H y RMN de ¹³C) en un espectrómetro Varian Mercury-Gemini 200 (RMN de ¹H, 200 MHz; RMN de ¹³C, 50 MHz) o en uno Varian Mercury-Inova 500 (RMN de ¹H, 500 MHz; RMN de ¹³C, 125 MHz) con resonancias del disolvente como patrones internos (RMN de ¹H, CHCl₃ a 7,26 ppm o DMSO a 2,5 ppm y DMSO-H₂O a 3,33 ppm; RMN de ¹³C, CDCl₃ a 77,0 ppm o DMSO a 39,5 ppm). Se informa de los datos de RMN de ¹H como sigue: desplazamiento químico (δ,

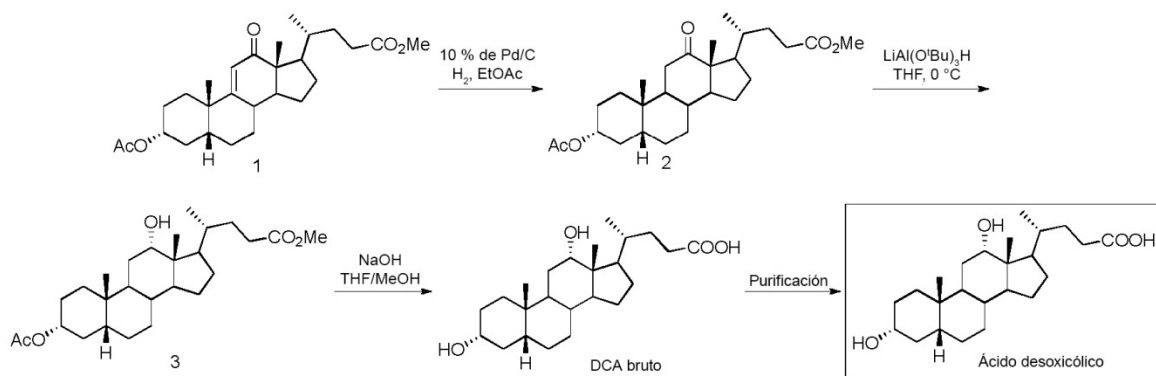
ppm), multiplicidad (s = singlete, d = doblete, t = triplete, c = cuadruplete, a = ancho, m = multiplete), constantes de acoplamiento (Hz) e integración. Se llevaron a cabo los espectros de infrarrojo (FT-IR) en un modelo JASCO-460⁺. Se obtuvieron los espectros de masas con un espectrómetro Perkin Elmer API-2000 usando el modo ES⁺. Se determinaron los puntos de fusión usando un aparato de medición de puntos de fusión de LAB-INDIA y no están corregidos. Se registraron los cromatogramas de HPLC usando un modelo SHIMADZU-2010 con un detector de PDA. Se determinaron las rotaciones ópticas específicas empleando un JASCO-1020 a 589 nm y no están corregidas.

Productos químicos: a menos que se advierta de otro modo, los reactivos disponibles comercialmente se usaron sin purificación. Se destilación éter dietílico y THF a partir de sodio/benzofenona. Se usaron DMF anhidra de calidad de laboratorio, DCM, acetato de etilo y hexano disponibles comercialmente.

Ejemplo 1

En el esquema 1 a continuación, se proporciona un esquema para la síntesis y purificación del ácido desoxicólico a partir del compuesto 1.

Esquema 1



Conversión del compuesto 1 en el compuesto 2:

Se añadió la hidrogenación del compuesto 1 en una balanza de 10,0 g usando un 10 % de Pd/C seco (15 % en peso) en acetato de etilo (20 partes) y se aplicó una presión con hidrógeno de aproximadamente 50 psi (0,34 MPa) y la temperatura se elevó a 70 °C. Después de alcanzar una temperatura de 70 °C, se observó un incremento de la presión con hidrógeno a aproximadamente 60 psi (0,41 MPa), en estas condiciones mantenidas durante 60 h. Después de 60 horas, todavía se observaban un 0,6 % del compuesto 2 y un 2,75 % de alcohol alílico, así que se agitó adicionalmente durante 12 h adicionales (se observó un 0,16 % de alcohol alílico y un 0,05 % del compuesto 2). Después del tratamiento, la reacción proporcionó 9,5 g de residuo.

Otra reacción de hidrogenación de 25 g del compuesto 1 con las condiciones anteriores durante 76 h proporcionó 24,5 g de residuo.

Procedimiento A

Se añadió un 10 % de Pd/C (900 mg) a una solución del compuesto 1 (2,0 g, 4,5 mmol) en EtOAc (150 ml) y se hidrogenó la suspensión resultante en un aparato Parr (50 psi (0,34 MPa)) a 50 °C durante 16 h. En este punto, se determinó que la reacción se había completado mediante TLC. Se filtró la mezcla a través de un pequeño tapón de Celite® y se eliminó el disolvente a vacío, proporcionando el compuesto 2 (1,6 g, rendimiento de un 80 %) como un sólido blanco.

TLC: carbonización con *p*-anisaldehído, R_f para 2 = 0,36.

Fase móvil para TLC: EtOAc al 20 % en hexanos.

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ = 4,67-4,71 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,45-2,50 (t, *J* = 15 Hz, 2H), 2,22-2,40 (m, 1H), 2,01 (s, 3H), 1,69-1,96 (m, 9H), 1,55 (s, 4H), 1,25-1,50 (m, 8H), 1,07-1,19 (m, 2H), 1,01 (s, 6H), 0,84-0,85 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H).

RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ = 214,4, 174,5, 170,4, 73,6, 58,5, 57,4, 51,3, 46,4, 43,9, 41,2, 38,0, 35,6, 35,5, 35,2, 34,8, 32,0, 31,2, 30,4, 27,4, 26,8, 26,2, 25,9, 24,2, 22,6, 21,2, 18,5, 11,6.

Masa (m/z) = 447,0 [$M^+ + 1$], 464,0 [$M^+ + 18$].

IR (KBr) = 3445, 2953, 2868, 1731, 1698, 1257, 1029 cm^{-1} .

5 P.f. = 142,2-144,4 °C (a partir de la mezcla de EtOAc/hexanos).

$[\alpha]_D = +92$ ($c = 1\%$ en CHCl_3).

10 Pureza mediante ELSD: 96,6 %: Tiempo de retención = 9,93 (Inertsil ODS 3V, 250 × 4,6 mm, 5 μm , ACN: TFA al 0,1 % en agua (90:10))

Procedimiento B

15 Se añadió una suspensión de un 10 % de Pd/C (9 g en 180 ml de acetato de etilo) a una solución del compuesto **1** (36 g, 81 mmol) en EtOAc (720 ml) y la suspensión resultante se trató con gas hidrógeno (50 psi (0,34 MPa)) a 45-50 °C durante 16 h. (Se puede usar un total de 1080 ml de disolvente). En este punto, se determinó que la reacción se había completado mediante HPLC (NMD un 1 % del compuesto **1**). Se filtró la mezcla a través de Celite® (10 g) y se lavó con acetato de etilo (900 ml). Se concentró el filtrado a un 50 % de su volumen por medio de destilación a vacío por debajo de 50 °C. A la solución concentrada se le añadió clorocromato de piridinio (20,8 g) a 25-35 °C y se agitó la mezcla durante 2 h a 25-35 °C, cuando la reacción se completó mediante HPLC (el contenido de alcohol alílico es de NMD un 1 %).

25 Se puede realizar el siguiente procedimiento si el contenido del compuesto **1** es de más de un 5 %. Filtrar la masa de reacción a través de Celite® (10 g) y lavar con acetato de etilo (360 ml). Lavar el filtrado con agua (3 × 460 ml) y, a continuación, con salmuera saturada (360 ml). Secar la fase orgánica sobre sulfato de sodio (180 g), filtrar y lavar con acetato de etilo (180 ml). Concentrar el volumen en un 50 % por medio de destilación a vacío por debajo de 50 °C. Transferir la solución a una autoclave limpia y seca. Añadir una suspensión de un 10 % de paladio sobre carbono (9 g en 180 ml de acetato de etilo). Presurizar a 50 psi (0,34 MPa) con hidrógeno y agitar la mezcla de reacción a 45-50 °C durante 16 h.

30 Tras el consumo completo del compuesto **1** mediante HPLC (el contenido del compuesto **1** siendo de NMD un 1 %), se filtró la mezcla de reacción a través de Celite® (10 g) y se lavó la torta con acetato de etilo (900 ml). Se concentró a sequedad el disolvente por medio de destilación a vacío por debajo de 50 °C. Se añadió metanol (150 ml) y se concentró a sequedad por medio de destilación a vacío por debajo de 50 °C. Se añadió metanol (72 ml) al residuo y se agitó la mezcla durante 15-20 min a 10-15 °C, se filtró y se lavó la torta con metanol (36 ml). Se secó el sólido blanco en un secador de aire caliente a 45-50 °C durante 8 h hasta que la PPS fuera de NMD un 1 % para proporcionar el compuesto **2** (30 g, rendimiento de un 83,1 %).

Conversión del compuesto **2** en el compuesto **3**:

40

Procedimiento A

45 Se añadió gota a gota una solución en THL de hidruro de litio y tri-*tert*-butoxialuminio (1 M, 22,4 ml, 22,4 mmol) a una solución del compuesto **2** (2,5 g, 5,6 mmol) en THL (25 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar durante unas 4-5 h adicionales, se determinó que la reacción se había completado mediante TLC. La reacción se desactivó añadiendo HCl acuoso (1 M, 10 ml) y se diluyó la mezcla con EtOAc (30 ml). Se separaron las fases y se lavó secuencialmente la fase orgánica con agua (15 ml) y solución de salmuera saturada (10 ml). A continuación, se secó la fase orgánica sobre Na_2SO_4 anhidro (3 g) y se filtró. Se concentró a vacío el filtrado y se purificó el sólido resultante mediante cromatografía en columna [29 mm (A) × 500 mm (L), malla de sílice de 60-120, 50 g], eluyendo con EtOAc/hexano (2:8) [fracciones de 5 ml, supervisado mediante TLC con carbonización con *p*-anisaldehído]. Se combinaron las fracciones que contenían el producto y se concentraron a vacío para proporcionar el compuesto **3** (2,3 g, 91 %) como un sólido blanco.

50 TLC: carbonización con *p*-anisaldehído, R_f para **3** = 0,45 y R_f para **2** = 0,55.

55

Fase móvil para TLC: EtOAc al 30 % en hexanos.

60 RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 4,68$ -4,73 (m, 1H), 3,98 (s, 1H), 3,66 (s, 3H), 2,34-2,40 (m, 1H), 2,21-2,26 (m, 1H), 2,01 (s, 3H), 1,75-1,89 (m, 6H), 1,39-1,68 (m, 16H), 1,00-1,38 (m, 3H), 0,96-0,97 (d, $J = 5,5$ Hz, 3H), 0,93 (s, 3H), 0,68 (s, 3H).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 174,5$, 170,5, 74,1, 72,9, 51,3, 48,1, 47,2, 46,4, 41,7, 35,8, 34,9, 34,7, 34,0, 33,5, 32,0, 30,9, 30,8, 28,6, 27,3, 26,8, 26,3, 25,9, 23,4, 22,9, 21,3, 17,2, 12,6

65 Masa (m/z) = 449,0 [$M^+ + 1$], 466,0 [$M^+ + 18$].

IR (KBr) = 3621, 2938, 2866, 1742, 1730, 1262, 1162, 1041, cm^{-1} .

P.f. = 104,2-107,7 °C (a partir de EtOAc).

5 $[\alpha]_D = +56$ ($c = 1\%$ en CHCl_3).

Pureza mediante ELSD: 97,0 %: Tiempo de retención = 12,75 (Inertsil ODS 3V, 250 × 4,6 mm, 5 μm , ACN: Agua (60:40))

10 Procedimiento B

Se añadió una solución en THF de hidruro de litio y tri-*tert*-butoxialuminio (1 M, 107,6 ml, 107,6 mmol) durante 1 h a una solución del compuesto **2** (30,0 g, 67 mmol) en THF seco (300 ml) a 0-5 °C. Después de agitar durante unas 4 h adicionales a 5-10 °C, se determinó que la reacción se había completado mediante HPLC (NMD un 1 % del compuesto **2**). Se enfrió la reacción a 0-5 °C y se desactivó añadiendo HCl 4 N (473 ml). Se separaron las fases. Se extrajo la capa acuosa con DCM (2 × 225 ml) y se lavó secuencialmente la fase orgánica combinada con agua (300 ml) y solución de salmuera saturada (300 ml). A continuación, se concentró a sequedad la fase orgánica mediante destilación a vacío por debajo de 50 °C. Se añadió metanol (150 ml) al residuo y se concentró a sequedad mediante destilación a vacío por debajo de 50 °C. A continuación, se añadió agua (450 ml) al residuo y se agitó la mezcla durante 15-20 min, se filtró y se lavó la torta con agua (240 ml). Se secó el sólido blanco en un secador de aire caliente a 35-40 °C durante 6 h para proporcionar el compuesto **3** (30 g, 99,6 %).

Conversión del compuesto **3** en DCA bruto:

25 A una solución de **3** en MeOH (4 vol.) y THF (4 vol.) se le añadió una solución de NaOH (4,0 equiv.) en agua DI (5 M) manteniendo la temperatura por debajo de 20 °C. El análisis por HPLC después de 20 horas a 20-25 °C indicó un ABC <0,5 % de **3** y que quedaban los dos intermedios. La reacción se consideró completa, se diluyó con agua DI (10 vol.) y se concentró a ~10 volúmenes. Se convirtió en un azeótropo la muestra con 2-MeTHF (2 × 10 vol.) y se sometió a ensayo mediante RMN de ^1H para indicar que MeOH ya no estaba presente. Se lavó la fase acuosa enriquecida con 2-MeTHF (2 × 10 vol.) y se sometió a ensayo mediante HPLC para indicar que quedaba un ABC de un 0,3 % de la impureza de alcohol. Se diluyó la fase acuosa con 2-MeTHF (10 vol.) y se ajustó a pH = 1,7-2,0 usando HCl 2 M (~4 vol.). Se separaron las fases y se lavó la fase de 2-MeTHF con agua DI (2 × 10 vol.). Se filtró la fase de 2-MeTHF sobre Celite y la se lavó la torta de filtro con 2-MeTHF (2 vol.). Se destiló el filtrado de 2-MeTHF a ~10 volúmenes y se convirtió en un azeótropo con *n*-heptano que contenía Statsafe™ 5000 (3 × 10 vol.) hasta ~10 vol. Se sometió a ensayo la mezcla mediante RMN de ^1H para indicar que quedaba <5 % en mol de 2-MeTHF en relación con *n*-heptano. Se mantuvo la suspensión durante un mínimo de 2 horas a 20-25 °C y se filtró. Se lavó la torta de filtro con *n*-heptano (2 × 10 vol.) y se acondicionó a vacío en el filtro Nutsche con N_2 durante un mínimo de 1 hora para dar el **DCA bruto** como sólidos blancos. Pureza = 94,6 % (mediante HPLC). Análisis por HPLC para DS-DCA (NMD un ABC de un 5 %).

40 Recristalización del ácido desoxicólico (DCA)

Se diluyó el **DCA bruto** con un 2 % en mol de MeOH en CH_2Cl_2 (25 vol.) y se calentó a 35-37 °C durante 1 hora. Se dejó que enfriara la suspensión a 28-30 °C y se filtró. Se lavó la torta de filtro con CH_2Cl_2 (5 vol.) y se secó a vacío a 40 °C para dar el **DCA**. Análisis por HPLC para DS-DCA (NMD un ABC de un 0,15 %).

Se disolvió el **DCA** en agua DI al 10 %/EtOH (12 vol.), se hizo pasar a través de un filtro pulidor sobre Celite y se lavó con agua DI al 10 %/EtOH (3 vol.). Se añadió el filtrado de 15 volúmenes resultante a agua DI (30 vol.) y se proporcionó una suspensión blanca líquida. Se mantuvo la suspensión durante 24 horas, se filtró, se lavó con agua DI (20 vol.) y se secó a vacío a 40 °C para dar el DCA puro. Se realizó el análisis por OVI para CH_2Cl_2 , EtOH, *n*-heptano, MeOH y MeTHF para garantizar que cada disolvente estuviera por debajo de las directrices de la ICH. Análisis de KF realizado (NMD un 2,0 %). Pureza = 99,75 % (mediante HPLC). Rendimiento a partir del DCA bruto = 59 %.

55 Lista de modos de realización divulgados (que no forman parte de la invención como se reivindica)

Modo de realización 1. Un procedimiento para purificar el ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo, comprendiendo el procedimiento:

- 60 i) una primera recristalización del ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo a partir de un alcohol C_{1-3} en cloruro de metileno para proporcionar un producto; y
- ii) una segunda recristalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de agua desionizada y un alcohol C_{1-3} para proporcionar ácido desoxicólico puro o una sal del mismo.

65 Modo de realización 2. El procedimiento como se define en el modo de realización 1, en el que el alcohol C_{1-3} en la

etapa i) comprende metanol.

Modo de realización 3. El procedimiento como se define en el modo de realización 1, en el que el alcohol C₁₋₃ en la etapa i) comprende un 1 % en mol - 5 % en mol de metanol en cloruro de metileno.

Modo de realización 4. El procedimiento como se define en el modo de realización 3, en el que el alcohol C₁₋₃ en la etapa i) comprende un 2 % en mol de metanol en cloruro de metileno.

Modo de realización 5. El procedimiento como se define en el modo de realización 1, en el que la etapa i) comprende además una temperatura de aproximadamente 35-37 °C.

Modo de realización 6. El procedimiento como se define en el modo de realización 1, en el que la etapa i) comprende una primera recristalización a partir de un 2 % en mol de metanol en cloruro de metileno a una temperatura de aproximadamente 35-37 °C.

Modo de realización 7. El procedimiento como se define en el modo de realización 1, en el que el alcohol C₁₋₃ en la etapa ii) comprende etanol.

Modo de realización 8. El procedimiento como se define en el modo de realización 1, en el que la etapa ii) comprende una segunda recristalización a partir de una mezcla de agua desionizada al 10 % en etanol.

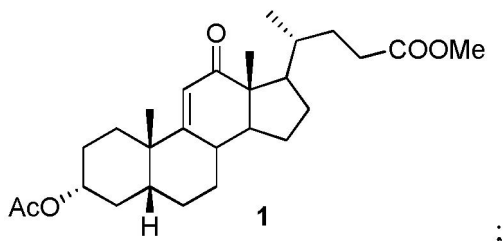
Modo de realización 9. El procedimiento como se define en el modo de realización 1, en el que el procedimiento comprende:

i) una primera recristalización del ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo a partir de un 2 % en mol de metanol en cloruro de metileno a una temperatura de aproximadamente 35-37 °C; y

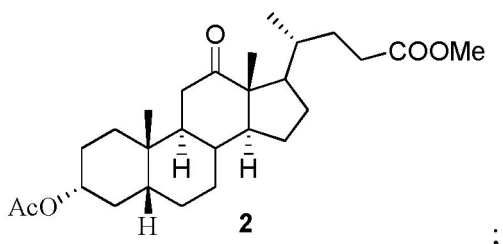
ii) una segunda recristalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de una mezcla de agua desionizada al 10 % en etanol.

Modo de realización 10. Un procedimiento para preparar ácido desoxicólico puro o una sal del mismo, comprendiendo el procedimiento:

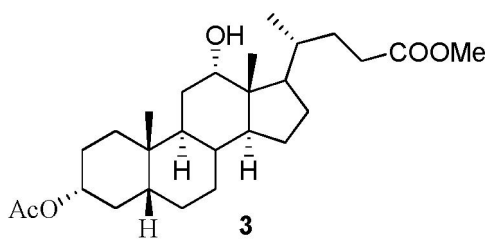
a) poner en contacto el compuesto 1



con hidrógeno y Pd/C en condiciones de hidrogenación que comprenden hidrógeno y Pd sobre carbono en una autoclave mantenida a presión elevada, opcionalmente seguido de oxidación de cualquiera de los 12 grupos hidroxilo formados durante la hidrogenación con clorocromato de piridinio en condiciones oxidantes para proporcionar el compuesto 2;



b) hacer reaccionar el compuesto 2 con hidruro de litio y tri-*t*-alcoxialuminio en condiciones reductoras para proporcionar el compuesto 3:



;

c) exponer el compuesto **3** a condiciones de desprotección e hidrólisis para formar el ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo; y

d). purificar el ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo mediante un procedimiento que comprende:

i) una primera recristalización del ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo a partir de un alcohol C₁₋₃ en cloruro de metileno para proporcionar un producto; y

ii) una segunda recristalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de agua desionizada y un alcohol C₁₋₃ para proporcionar ácido desoxicólico puro o una sal del mismo.

Modo de realización 11. El procedimiento como se define en el modo de realización 10, en el que el alcohol C₁₋₃ en la etapa d)i) comprende metanol.

Modo de realización 12. El procedimiento como se define en el modo de realización 10, en el que el alcohol C₁₋₃ en la etapa d)ii) comprende etanol.

Modo de realización 13. El procedimiento como se define en el modo de realización 10, en el que el alcohol C₁₋₃ en la etapa d)i) comprende metanol y el alcohol C₁₋₃ en la etapa d)ii) comprende etanol.

Modo de realización 14. El procedimiento como se define en el modo de realización 10, en el que la etapa d) del procedimiento comprende:

i) una primera recristalización del ácido desoxicólico bruto o una sal del mismo a partir de un 2 % en mol de metanol en cloruro de metileno a una temperatura de aproximadamente 35-37 °C; y

ii) una segunda recristalización del producto de la etapa i) a partir de una mezcla de agua desionizada al 10 % en etanol.

Modo de realización 15. Una composición que comprende ácido desoxicólico o una sal del mismo y una mezcla de uno o más alcoholes C₁₋₃ y cloruro de metileno.

Modo de realización 16. La composición como se define en el modo de realización 15, en la que el alcohol C₁₋₃ comprende metanol.

Modo de realización 17. La composición como se define en el modo de realización 15, en la que la mezcla de uno o más alcoholes C₁₋₃ y cloruro de metileno comprende 1 % en mol - 5 % en mol de metanol en cloruro de metileno.

Modo de realización 18. La composición como se define en el modo de realización 17, en la que la composición comprende un 2 % en mol de metanol en cloruro de metileno.

Modo de realización 19. Una composición que comprende ácido desoxicólico o una sal del mismo y una mezcla de uno o más alcoholes C₁₋₃ y agua desionizada.

Modo de realización 20. La composición como se define en el modo de realización 19, en el que el alcohol C₁₋₃ comprende etanol.

Modo de realización 21. La composición como se define en el modo de realización 19, en la que la mezcla de uno o más alcoholes C₁₋₃ y agua desionizada comprende una mezcla de agua desionizada al 10 % en etanol.

Modo de realización 22. La composición como se define en cualquiera de los modos de realización 17 o 19, en la que dicho ácido desoxicólico o una sal del mismo es sintético.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que consiste en ácido desoxicólico o una sal del mismo y una mezcla de agua desionizada al 10 % en etanol.