



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial



(11) BR 112016012465-0 B1

(22) Data do Depósito: 04/12/2014

(45) Data de Concessão: 18/04/2023

(54) Título: SAL, MÉTODO DE PREPARAÇÃO DO SAL E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA

(51) Int.Cl.: A61P 1/04; A61K 31/20.

(30) Prioridade Unionista: 04/12/2013 US 61/911,478.

(73) Titular(es): GALMED RESEARCH & DEVELOPMENT LTD..

(72) Inventor(es): ALLEN BAHARAFF; IDIT ESHKAR-OREN.

(86) Pedido PCT: PCT IL2014051052 de 04/12/2014

(87) Publicação PCT: WO 2015/083164 de 11/06/2015

(85) Data do Início da Fase Nacional: 01/06/2016

(57) Resumo: SAL, MÉTODO DE PREPARAÇÃO DO SAL E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA. A presente invenção refere-se aos sais de ácido colanóico amido araquidílico (Aramchol), as composições farmacêuticas que compreendem sais de Aramchol, métodos para a sua preparação e métodos de uso dos mesmos em tratamento médico.

SAL, MÉTODO DE PREPARAÇÃO DO SAL E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA

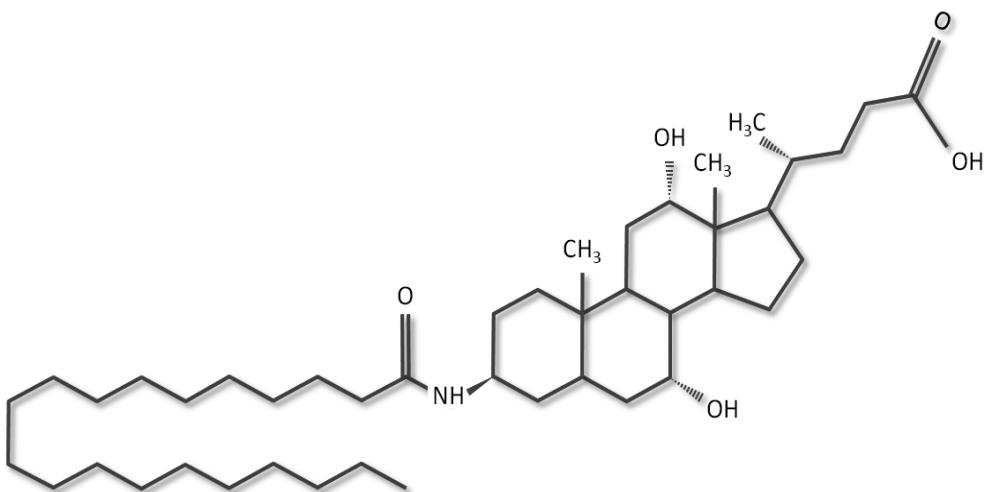
CAMPO DA INVENÇÃO

[1] A presente invenção refere-se aos sais de ácido colanóico amido araquidílico (Aramchol), as composições farmacêuticas que compreendem os mesmos, métodos para a sua preparação e uso dos mesmos em tratamento médico.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[2] O Aramchol é um conjugado de amida do ácido araquídico e ácido 3-aminocólico, eficaz na redução do teor de gordura hepática, assim como, melhorar os parâmetros metabólicos associados à doença esteatose hepática. O mesmo pertence a uma família inovadora de Conjugados Ácidos Graxos/Ácidos Biliares sintéticos (FABACs) e está sendo desenvolvido como um tratamento potencialmente modificador de doença para a doença de esteatose hepática e Esteato-hepatite Não Alcoólica (NASH).

[3] O Aramchol é quimicamente denominado ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico e é representado pela seguinte estrutura química:



[4] Aramchol, processos para sua preparação e uso do mesmo são divulgados no documento de nº 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; e WO

2009/060452.

[5] Ainda há uma necessidade não atendida para novas formas de Aramchol que tenham propriedades físico-químicas desejáveis.

RESUMO DA INVENÇÃO

[6] A presente invenção fornece novos sais de Aramchol, por exemplo, sais com aminoálcoois, aminoácidos ou aminoácidos, em que as composições farmacêuticas compreendem os referidos sais, métodos para a sua preparação e uso do mesmo de tratamento médico.

[7] A presente invenção se baseia em parte na constatação inesperada dos novos sais de Aramchol que têm propriedades físico-químicas vantajosas. Cerca de 30 bases farmaceuticamente aceitáveis foram examinadas em um esforço para preparar sais de Aramchol com solubilidade acentuada. Desses, constatou-se que os sais com base em amina são adequados e, em particular, três sais de Aramchol, isto é, sais de N-metilglucamina (meclumina), lisina e trometamina mostrou possuir propriedades vantajosas, que incluem solubilidade acentuada, assim como absorção e exposição acentuadas, que se correlacionam a maior biodisponibilidade. Assim, os sais de Aramchol da presente invenção são adequados para uso farmacêutico em doses mais baixas em comparação com o ácido livre de Aramchol. Além disso, os novos sais melhoraram as propriedades de fluxo em comparação com o ácido livre de Aramchol e, portanto, podem ser mais facilmente processados em formulações farmacêuticas sólidas tais como comprimidos ou cápsulas.

[8] De acordo com um primeiro aspecto, a presente invenção fornece um sal de ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico (Aramchol) com uma amina. Em algumas modalidades, a amina é selecionada do grupo consiste em amônia, uma amina primária, uma amina secundária, uma amina terciária, um composto de amônio quaternário, um amino álcool, um amino açúcar e um aminoácido. Os sais atualmente preferenciais são sais de Aramchol com um aminoálcool, aminoácido ou

amino ácido. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[9] Em algumas modalidades, a presente invenção fornece de amônio, benzatina, trimetilglicina (betaína), etanolamina, dietanolamina, dietilamina, arginina, lisina, colina, deanol, 2-dietilaminoetanol, N-metilglucamina (meglumina), N-etilglucamina (eglumina) ou sal de trometamina di ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[10] Em uma modalidade atualmente preferida, a presente invenção refere-se ao sal de lisina de ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico.

[11] Em outra modalidade atualmente preferida, a presente invenção refere-se ao sal de trometamina de ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico.

[12] Em outra modalidade atualmente preferida, a presente invenção refere-se ao sal de N-metilglucamina de ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico.

[13] Em outra modalidade, o sal do ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico, de acordo com a presente invenção está em forma cristalina. Em outra modalidade, o sal do ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico, de acordo com a presente invenção está uma forma amorfa.

[14] Em algumas modalidades, a presente invenção fornece um método de preparação do sal do ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico, conforme divulgado aqui, em que o método inclui as etapas de: (a) misturar o ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico com uma amina na presença de um solvente; (b) opcionalmente, aquecer a mistura a uma temperatura no ou abaixo do ponto de ebulição do solvente; (c) opcionalmente, refrigerar a mistura; e (d)

isolar o sal de amina obtido, dessa forma, do ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico.

[15] Em modalidades alternativas, a presente invenção fornece um método de preparação do sal do ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico, conforme divulgado aqui, em que o método inclui as etapas de: (a) misturar o ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico com uma amina na presença de um solvente; (b) opcionalmente, aquecer a mistura a uma temperatura no ou abaixo do ponto de ebulição do solvente; (c) adicionar um anti-solvente; (c) opcionalmente, refrigerar a mistura; e (d) isolar o sal de amina obtido, dessa forma, do ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico.

[16] Em algumas modalidades, o solvente utilizado no processo de invenção é água. Em outras modalidades, o solvente é um álcool. Em modalidades específicas, o solvente é metanol ou etanol. Em outras modalidades, o solvente é um éster de alquil, tal como acetato de etil.

[17] Em algumas modalidades, o anti-solvente utilizado no processo da presente invenção é uma cetona, tais como acetona ou um éster de alquil, tal como acetato de etila, com cada possibilidade representando uma modalidade separada da presente invenção.

[18] Em algumas modalidades, a amina usada no processo da invenção é selecionada do grupo consiste em amônia, uma amina primária, uma amina secundária, uma amina terciária, um composto de amônio quaternário, um amino álcool, um amino açúcar e um aminoácido. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[19] Em certas modalidades, a relação entre o ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico e a amina é cerca de 1:1. Em várias modalidades, a etapa de aquecimento da mistura é realizada a uma temperatura de cerca de 50 °C. Em outras modalidades, a etapa de resfriamento da mistura é realizada a uma temperatura de cerca de 20 °C. Em outras modalidades, a etapa de resfriamento da mistura é realizada a

uma temperatura de cerca de 5 °C.

[20] O sal de ácido de 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico resultante dos métodos mencionados acima pode ser isolado por qualquer método conhecido na técnica, por exemplo, através da evaporação di solvente de modo a obter um sólido ou formando um precipitado de sal (por exemplo, através da adição de um anti-solvente) e separado o precipitado das misturas de reação, por exemplo, mediante filtração.

[21] Em alguns aspectos e modalidades, a presente invenção fornece uma composição farmacêutica que compreende (a) uma quantidade terapeuticamente eficaz de um sal de ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico, conforme divulgado aqui; e, opcionalmente, (b) pelo menos um portador, diluente, veículo ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

[22] Em várias modalidades, a composição farmacêutica está em uma forma selecionada a partir do grupo que consiste em comprimidos, pílulas, cápsulas, pastilhas, grânulos, pós, pastilhas em losango, emplastros, elixires, suspensões, dispersões, emulsões, soluções, xaropes, aerossóis, ungamentos, cápsulas de gelatina mole e dura, supositórios, soluções injetáveis estéreis e pós embalados estéreis. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[23] Em outras modalidades, a presente invenção fornece uma composição farmacêutica que compreende (a) uma quantidade terapeuticamente eficaz de um sal de ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico, conforme divulgado aqui; e (b) pelo menos um portador, diluente, veículo ou excipiente farmaceuticamente aceitável, para uso na redução dos níveis de colesterol no sangue ou tratando esteatose hepática, ou para o tratamento do Esteato-hepatite Não Alcoólica (NASH) ou qualquer doença que seu tratamento possa se beneficiar da modulação de colesterol ou equilíbrio de lipídios.

[24] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica da presente invenção é usada para dissolver os cálculos biliares de colesterol na bile e para impedir a formação de tais cálculos biliares. Em outras modalidades, a composição farmacêutica da presente invenção é usada no tratamento de arteriosclerose.

[25] Em certa modalidade, a composição farmacêutica da presente invenção é usada no tratamento de uma doença ou distúrbio associado ao metabolismo alterado de glicose. Em uma modalidade, a doença ou o distúrbio associado ao metabolismo alterado de glicose é selecionado a partir do grupo que consiste em hiperglicemia, diabetes, resistência à insulina e obesidade. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[26] Em outras modalidades, a composição farmacêutica da presente invenção é usada para tratar, prevenir ou inibir a progressão de uma doença cerebral caracterizada pelos depósitos de placa amiloide. Em uma modalidade, a doença cerebral caracterizada pelos depósitos de placa amiloide é a doença de Alzheimer.

[27] A composição farmacêutica da presente invenção pode ser administrada através de uma via selecionada do grupo que consiste em oral, tópica, subcutânea, intraperitoneal, retal, intravenosa, intra-arterial, transdermal, intramuscular e intranasal. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[28] Em algumas modalidades, a presente invenção fornece um método de redução dos níveis de colesterol no sangue ou tratamento de esteatose hepática ou tratamento de NASH ou dissolver cálculos biliares de colesterol na bile e impedir a formação de tais cálculos biliares ou tratamento de arteriosclerose que compreende administrar a um sujeito em necessidade do mesmo, em que uma composição farmacêutica compreende (a) uma quantidade terapeuticamente eficaz de um sal de ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico, conforme

divulgado aqui; e (b) pelo menos um portador, diluente, veículo ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

[29] Em certas modalidades, a presente invenção fornece um método de tratamento de uma doença ou distúrbio associado ao metabolismo alterado de glicose que compreende administrar a um indivíduo em necessidade de uma composição farmacêutica que compreende (a) uma quantidade terapeuticamente eficaz de um sal de ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico divulgado aqui contidas; e (b) pelo menos um portador, diluente, veículo ou excipiente farmaceuticamente aceitável. Em outras modalidades, a presente invenção fornece um método de tratamento, prevenção ou inibição da progressão de uma doença cerebral caracterizada por depósitos de placa amiloide, em que compreende administrar a um sujeito em necessidade do mesmo uma composição farmacêutica que compreende (a) uma quantidade terapeuticamente eficaz de um sal de ácido 3 β -araquidilamido-7 α , 12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-óico, conforme divulgado aqui; e (b) pelo menos um portador, diluente, veículo ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

[30] Em algumas modalidades, o sujeito é um mamífero, de preferência, um ser humano.

[31] Outras modalidades e o escopo pleno da aplicabilidade da presente invenção se tornarão aparentes na descrição detalhada provida doravante. No entanto, deve ser entendido que a descrição detalhada e exemplos específicos, enquanto indicando modalidades preferenciais da invenção, são dadas a título de ilustração apenas, uma vez que várias alterações e modificações dentro do espírito e o escopo da invenção se tornarão aparentes para aqueles versados na técnica a partir desta descrição detalhada.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[32] A FIG. 1 ilustra um padrão de difração de raios x característicos de sal de N-metilglucamina de Aramchol amorfa

(meglumina) de acordo com a presente invenção.

[33] A FIG. 2 ilustra um padrão de difração de raios x característicos de sal de lisina de Aramchol amorfa (meglumina) de acordo com a presente invenção.

[34] A FIG. 3 ilustra um padrão de difração de raios x característicos de sal de trometamina de Aramchol amorfa (meglumina) de acordo com a presente invenção.

[35] A FIG. 4 ilustra um espectro de $^1\text{H-NMR}$ característico do sal de N-metilglucamina de Aramchol de acordo com a presente invenção.

[36] A FIG. 5 ilustra um espectro de $^1\text{H-NMR}$ característico do sal de lisina de Aramchol de acordo com a presente invenção.

[37] A FIG. 6 ilustra um espectro de $^1\text{H-NMR}$ característico do sal de trometamina de Aramchol de acordo com a presente invenção.

[38] A FIG. 7 ilustra um espectro de $^1\text{H-NMR}$ característico de ácido livre de Aramchol.

[39] A FIG. 8 ilustra um espectro de Sorção Dinâmica de Vapor (DVS) característico do sal de N-metilglucamina de Aramchol de acordo com a presente invenção.

[40] A FIG. 9 AUC/dose calculada para sais de Aramchol (ácido livre), N-metilglucamina, trometamina e lisina. Dados são a média aritmética \pm erro padrão.

DESCRÍÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[41] A presente invenção refere-se aos sais de Aramchol que exibem propriedades físico-químicas melhoradas incluindo solubilidade acentuada, absorção acentuada e exposição acentuada que se correlacionam com a biodisponibilidade mais elevada em comparação ao ácido livre de Aramchol.

[42] De acordo com os princípios da presente invenção, é fornecido aqui é um sal farmaceuticamente aceitável de Aramchol em que o contra íon é baseado em uma amina e inclui amônia, uma amina primária, uma

amina secundária, uma amina terciária, um composto de amônio quaternário, um aminoálcool, um aminoacúcar ou um aminoácido. A amina também pode ser uma diamina ou uma amina cíclica. Os sais atualmente preferenciais são sais de N-metilglucamina (meglumina), lisina ou trometamina. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[43] Conforme usado neste documento, o termo "amina primária" designa um composto de fórmula R^aNH_2 em que R^a é alquil, cicloalquil ou aril. Exemplos de aminas primárias são alquilaminas inferiores em que alquil menor quer dizer um alquil C₁-C₄ ou arilaminas. A amina primária pode reagir com o grupo de ácido carboxílico de Aramchol para formar o sal de Aramchol-COO⁻ R^aNH₃⁺.

[44] Conforme usado aqui, o termo "amina secundária" refere-se a um composto de fórmula R^aR^bNH em que cada um dentre R^a e R^b é independentemente alquil, cicloalquil ou aril. Exemplos de aminas secundárias são dialquilaminas inferiores (R^a , R^b são, cada um, alquil inferior), diarilaminas ou aquilarilaminas. A amina secundária também pode ser uma amina cíclica (por exemplo, morfolina, pirrolidina, piperidina, etc.) ou uma diamina (por exemplo, benzatina). A amina secundária pode reagir com o grupo de ácido carboxílico de Aramchol para formar o sal de Aramchol-COO⁻ R^aR^bNH₂⁺.

[45] Conforme usado aqui, o termo "amina terciária" refere-se a um composto de fórmula $R^aR^bR^cN$ em que cada um dentre R^a , R^b e R^c é independentemente alquil, cicloalquil ou aril. Exemplos de aminas terciárias são trialquilaminas inferiores (R^a , R^b e R^c são, cada um, alquil inferior), triarilaminas, ou qualquer combinação de aquilarilaminas. A amina terciária também pode ser uma amina cíclica (por exemplo, N-metil pirrolidina, N-metilpiperidina, etc.) ou uma diamina. A amina terciária pode reagir com o grupo de ácido carboxílico de Aramchol para formar o sal de Aramchol-COO⁻ R^aR^bR^cNH⁺.

[46] Conforme usado neste documento, o termo "composto de amônio quaternário" designa um composto de fórmula $R^aR^bR^cR^dN^+X^-$ em que cada um dentre R^a , R^b , R^c e R^d é independentemente alquil, cicloalquil ou aril e X^- é um contra-íon. Exemplos de compostos de amônio quaternário são tetraalquilaminas inferiores (R^a , R^b , R^c e R^d são, cada um, alquil inferior), tetraarilaminas ou qualquer combinação de alquilarilaminas. Exemplos específicos de compostos de amônio quaternário que podem formar sais com Aramchol de acordo com a presente invenção são $Bu_4N^+X^-$, colina ($Me_3N^+CH_2CH_2OH]X^-$) ou trimetilglicina ($(CH_3)_3N^+CH_2CO_2HX^-$, também conhecido como betaína), em que X é um contra-íon, por exemplo, OH, halogênio (F, Cl, Br, I) e similares. O composto de amônio quaternário pode reagir com o grupo de ácido carboxílico de Aramchol para formar o sal de Aramchol- $COO^-R^aR^bR^cR^dN^+$.

[47] Conforme usado aqui, o termo "aminoálcool" ou "alcanolamina", usado aqui alternadamente significa compostos que contêm ambos hidroxi (-OH) e amino (-NH₂, -NHR e -N(R)₂) grupos funcionais em uma cadeia principal de alcano. Exemplos incluem, mas não se limitam, a trometamina, etanolamina, dietanolamina, 2-dietilaminoetanol e 2-dimetilaminoetanol.

[48] Conforme usado aqui, o termo "amino açúcar" ou "amino açúcar álcool" significa um açúcar ou fração de álcool de açúcar em que um dentre os hidroxíis açúcar foram substituídos por um grupo amino. Exemplos de amino açúcares são N-alquil glucaminas, por exemplo, N-metilglucamina (meglumina), N-etilglucamina (eglumina), N-propilglucamina, N-butilglucamina e similares.

[49] Assim, em algumas modalidades exemplares, a presente invenção fornece sais de Aramchol com aminas orgânicas adequadas tais como, mas não se limitando a, alquilaminas inferiores substituídas ou não substituídas, diaminas, aminas cíclicas saturadas e compostos de amônio quaternário. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Exemplos específicos incluem, mas não estão limitados

a, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, dietilamina, etilenodiamina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina (TRIS), 1-amino-2-propanol, 3-amino-1-propanol, hexametilenotetramina, deanol, 2-dietilaminoetanol, N-metilglucamina (megluminea), N-etilglucamina (eglumina), piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, benzatina, trimetilglicina (betaína), colina e similares. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[50] Em alguns aspectos modalidades, a presente invenção fornece sal de N-metilglucamina (meglumina) de Aramchol. Em uma modalidade, o sal de N-metilglucamina do Aramchol é amorfo.

[51] Em mais aspectos e modalidades, a presente invenção fornece o sal de trometamina (TRIS) de Aramchol. Em uma modalidade, o sal de trometamina do Aramchol é amorfo.

[52] Em mais aspectos e modalidades, a presente invenção fornece o sal de amônio de Aramchol. Em uma modalidade, o sal de amônio de Aramchol é cristalino. Em outra modalidade, o sal de amônio de Aramchol é caracterizado por um termograma DSC-TGA que tem um pico em cerca de 76 °C com um início em cerca de 60 °C e um pico em cerca de 117 °C com um início em cerca de 114 °C. Em modalidades específicas, o pico em cerca de 76 °C é acompanhado de perda de peso de cerca de 2%. Em outra modalidade, o sal de amônio de Aramchol é caracterizado por um termograma DSC-TGA que tem um pico em cerca de 57 °C com um início em cerca de 55 °C. Em modalidades específicas, o pico em cerca de 57 °C é acompanhado pela perda de peso de cerca de 5%.

[53] Em outros aspectos e modalidades, a presente invenção fornece o sal de benzatina de Aramchol. Em uma modalidade, o sal de benzatina do Aramchol é amorfo.

[54] Em mais aspectos e modalidades, a presente invenção fornece o sal de trimetilglicina (betaíne) de Aramchol. Em uma modalidade, o sal de trimetilglicina (betaína) do Aramchol é amorfo.

[55] Em ainda outros aspectos e modalidades, a presente invenção fornece o sal de etanolamina de Aramchol. Em uma modalidade, o sal de etanolamina do Aramchol é amorfo. Em outra modalidade, o sal de etanolamina de Aramchol é cristalino. Em modalidades específicas, o sal de etanolamina cristalina de Aramchol é caracterizada por um termograma DSC-TGA que tem um pico em cerca de 50 °C com um início em cerca de 45 °C, um pico em cerca de 72 °C com um início em cerca de 63 °C, um pico em cerca de 80 °C com um início em cerca de 86 °C e um pico em cerca de 122 °C com um início em cerca de 105 °C. Em modalidades específicas, os picos são caracterizados por uma perda de peso contínua de cerca de 25%.

[56] Em certos aspectos e modalidades, a presente invenção fornece o sal de dietanolamina de Aramchol. Em uma modalidade, o sal de dietanolamina do Aramchol é amorfo.

[57] Em aspectos e modalidades adicionais, a presente invenção fornece o sal de dietilamina de Aramchol. Em uma modalidade, o sal de dietilamina do Aramchol é amorfo.

[58] Em outros aspectos e modalidades, a presente invenção fornece o sal de colina de Aramchol. Em uma modalidade, o sal de colina do Aramchol é amorfo.

[59] Em ainda outros aspectos e modalidades, a presente invenção fornece o sal de deanol de Aramchol. Em uma modalidade, o sal de deanol do Aramchol é amorfo.

[60] Em vários aspectos e modalidades, a presente invenção fornece o sal de 2-dietanolaminoetanol de Aramchol. Em uma modalidade, o sal de 2-dietanolaminoetanol do Aramchol é amorfo.

[61] Em alguns aspectos e modalidades, a presente invenção fornece os sais de aminoácidos de Aramchol incluindo, mas não se limitando a, aminoácidos básicos tais como lisina, histidina, arginina e ornitina. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

Os aminoácidos, de acordo com os princípios da presente invenção, pode ser D-aminoácidos, L-amino ácidos ou derivados racêmico de aminoácidos. Em uma modalidade, a presente invenção fornece o sal de arginina de Aramchol. Em outra modalidade, a presente invenção fornece o sal de lisina de Aramchol. Em algumas modalidades, os sais de aminoácidos de Aramchol são diferentes dos sais de glicina e taurina de Aramchol. Em certas modalidades, os sais de aminoácidos de Aramchol são amorfos. Um sal de aminoácido atualmente preferido de Aramchol é o sal de lisina. Em algumas modalidades, o sal de lisina é amorfo.

[62] Entende-se que os sais farmaceuticamente aceitáveis da presente invenção, quando isolados na forma sólida ou cristalina, também incluem moléculas de água aprisionadas ou hidratos nos mesmos.

[63] A presente invenção fornece métodos para a preparação de sais de Aramchol da presente invenção. Os métodos utilizam ácido livre de Aramchol que é preparado por qualquer método conhecido na técnica, incluindo, por exemplo, os métodos descritos em 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; e WO 2009/060452. O conteúdo das referências acima mencionadas é incorporado por referência neste documento. Deve ser entendido que a conjugação entre o radical de ácido graxo e o ácido biliar no Aramchol pode estar na configuração α ou β. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. De acordo com uma modalidade, o ácido livre de Aramchol é misturado com a base correspondente do sal a ser formado, normalmente em uma proporção de 1:1 na presença de um solvente adequado. A mistura é, então, opcionalmente aquecida a temperaturas acima da temperatura ambiente, mas abaixo do ponto de ebulição do solvente ou no ponto de ebulição do solvente (isto é, refluxo). Normalmente, a mistura é aquecida a cerca de 50 °C. A mistura é opcionalmente resfriada a temperaturas, normalmente abaixo de temperatura (por exemplo, 5 °C). O sal obtido, assim, da

presente invenção é, então, isolado como é conhecido na técnica, por exemplo, por evaporação do solvente, cristalização, precipitação com anti-solvente e similares. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[64] Em uma modalidade particular, o ácido livre de Aramchol é misturado com a base correspondente do sal a ser formado, normalmente em uma proporção de 1:1 na presença de um solvente adequado. A mistura é, então, aquecida, opcionalmente, conforme descrito acima. Um anti-solvente é, então, adicionado e a mistura é resfriada, opcionalmente, conforme descrito acima, de modo a formar um precipitado de sal de Aramchol.

[65] Métodos adicionais para a preparação dos sais de Aramchol da presente invenção incluem, por exemplo, precipitação por resfriamento sob vácuo, sublimação, saponificação, crescimento de uma fusão, transformação de estado sólido de outra fase, precipitação de um fluido supercrítico e pulverização a jato. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Técnicas para a precipitação de uma mistura de solvente ou solvete incluem, por exemplo, evaporação do solvete, diminuição da temperatura da mistura de solventes, liofilização da mistura de solvete e a adição de anti-solventes (contra-solventes) à mistura de solvete. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[66] Os sais de Aramchol da presente invenção podem ser amorfos ou cristalinos em qualquer forma polimórfica.

[67] Os solventes adequados para preparar dos sais da presente invenção incluem solventes polares e não polares. A escolha do solvente ou solventes é geralmente dependente de um ou mais fatores, incluindo a solubilidade do composto em tal solvente e pressão de vapor do solvente. As combinações de solventes podem ser empregadas de acordo com os princípios da presente invenção. Os solventes adequados incluem, mas

não estão limitados a, solventes apróticos polares, solventes próticos polares e suas misturas. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Exemplos específicos de solventes próticos polares adequados incluem, mas não são limitados a, água e álcoois tal como metanol (MeOH), etanol (EtOH), 1-butanol e isopropanol (IPA), assim como ésteres orgânicos e cetonas como acetato de etil (EtOAc) ou acetona. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Em uma modalidade, o solvente é água. Em outra modalidade, o solvente é o etanol. Em outra modalidade, o solvente é acetato de etil.

[68] O anti-solvente pode ser qualquer um dos solventes acima descritos, sendo que um anti-solvente atualmente preferido é acetona ou acetato de etil.

[69] Os sais inovadores da presente invenção são úteis como medicamentos para tratamento médico. A presente invenção fornece, assim, as composições farmacêuticas que compreendem qualquer um dos sais de Aramchol divulgados aqui e pelo menos um portador farmaceuticamente aceitável, diluente, veículo ou excipiente. Os sais da presente invenção podem ser administrados com segurança por via oral ou por via não oral. Vias de administração incluem, mas não estão limitadas a, oral, tópica, subcutânea, intraperitoneal, retal, intravenosa, intra-arterial, transdermal, intramuscular, intranasal e tópica. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Vias adicionais da administração incluem, mas não se limitam a, mucosa, nasal, parentérica, gastrointestinal, intra-espinal, intra-uterina, intra-ocular, intradérmica, intracraniana, intratraqueal, intravaginal, intracerebroventricular, intracerebral, oftálmica, bucal, epidural e sublingual. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Normalmente, os sais de Aramchol da presente invenção são administrados por via oral.

[70] As composições farmacêuticas podem ser formuladas como comprimidos (incluindo, por exemplo, comprimidos revestidos por película), pós, grânulos, cápsulas (incluindo cápsulas macias), comprimidos oralmente desintegrantes, comprimidos, peletes, pastilhas, sachês, hóstias, emplastros, elixires, suspensões, dispersões, emulsões, soluções, xaropes, aerossóis, ungamentos, cápsulas de gelatina mole e dura, supositórios , soluções estéreis injetáveis, pós estéreis embalados, e preparações de liberação sustentada como é bem conhecido na técnica. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[71] Os portadores, diluentes, veículos ou excipientes farmacologicamente aceitáveis que podem ser utilizados no contexto da presente invenção incluem, mas não estão limitados a, surfactantes, lubrificantes, fichários, enchimentos, auxiliares de compressão, desintegrantes, polímeros solúveis em água, sais inorgânicos, conservantes, antioxidantes, agentes colorantes, agentes edulcorantes, acidificação agentes, agentes borbulhantes e aromatizantes. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[72] Os exemplos não limitados específicos dos portadores, diluentes, veículos ou excipientes apropriados incluem, por exemplo, lactose, D-manitol, amido, amido de milho, celulose microcristalina, anidrido silícico leve e óxido de titânio. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Surfactantes apropriados incluem, por exemplo, lecitina e fosfatidilcolina. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Os lubrificantes adequados incluem, por exemplo, estearato de magnésio, ésteres de ácido graxo sacarose, polietilenoglicol, talco e ácido esteárico. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Os ligantes adequados incluem, por exemplo, hidroxipropilcelulose, hidroxipropilmetylcelulose, celulose cristalina, α-amido, polivinilpirrolidona, pó de goma arábica, gelatina, pululano e celulose de

hidroxipropilcelulose de baixa substituição. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Os desintegrantes adequados incluem, por exemplo, povidona reticulada (qualquer homopolímero de 1-etenil-2-pirrolidinona reticulado incluindo polivinilpirrolidona (PVPP) e homopolímero de 1-vinil-2-pirrolidinona), carmelose sódica reticulada, carmelose de cálcio, carboximetil-amido de sódio, celulose de hidroxipropilcelulose de baixa substituição, amido de milho e similares. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Os polímeros hidrossolúveis apropriados incluem, por exemplo, derivados de celulose tal como hidroxipropil, polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetylcelulose, celulose metílica e sódio de carboximetilcelulose, poliacrilato de sódio, álcool polivinílico, alginato de sódio, goma de guar e similares. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Sais inorgânicos adequados incluem, por exemplo, sais inorgânicos básicos de sódio, potássio, magnésio ou cálcio. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. As modalidades particulares incluem sais inorgânicos básicos de magnésio e/ou cálcio. Os sais inorgânicos básicos de sódio incluem, por exemplo, carbonato de sódio, carbonato de hidrogênio de sódio, fosfato de hidrogênio dissódico e similares. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Sais inorgânicos básicos de potássio incluem, por exemplo, carbonato de potássio, carbonato de hidrogênio de potássio e similares. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Sais inorgânicos básicos de magnésio incluem, por exemplo, carbonato de magnésio pesado, carbonato de magnésio, óxido de magnésio, hidróxido de magnésio, aluminato de metassilicato de magnésio, silicato de magnésio, aluminato de magnésio, hidrotalcite sintética, hidróxido de alumínio de magnésio e similares. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Sais inorgânicos básicos de

cálcio incluem, por exemplo, hidróxido de cálcio, carbonato de cálcio precipitado e similares. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[73] Os conservantes apropriados incluem, por exemplo, benzoato de sódio, ácido benzoico e ácido sórbico. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Os antioxidantes apropriados incluem, por exemplo, sulfitos, ácido ascórbico e α-tocoferol. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Os agentes de coloração apropriados incluem, por exemplo, cores de alimentos como Food Color Yellow nº 5, Food Color Red nº 2 e Food Color Blue nº 2 e similares. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Os agentes adoçantes apropriados incluem, por exemplo, glicirretinato dipotassium, aspartame, estévia e taumatinha. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Os agentes de acidificação apropriados incluem, por exemplo, ácido cítrico (anidrido cítrico), ácido tartárico e ácido málico. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Os agentes borbulhantes adequados incluem, por exemplo, bicarbonato de sódio. Os aromas apropriados incluem substâncias sintéticas ou substâncias que ocorrem naturalmente, incluindo, por exemplo, limão, lima, laranja, mentol e morango. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção.

[74] Em algumas modalidades, a presente invenção fornece uma composição farmacêutica que compreende como um ingrediente ativo um sal de Aramchol único da presente invenção e pelo menos um portador, diluente, veículo ou excipiente farmaceuticamente aceitável. Em outras modalidades, a presente invenção fornece uma composição farmacêutica que compreende um ingrediente ativo de uma pluralidade de sais de Aramchol da presente invenção e pelo menos um portador, diluente, veículo ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

[75] Os sais de Aramchol da presente invenção são particularmente adequados para administração oral na forma de comprimidos, cápsulas, pílulas, drageias, pós, grânulos e similares. Cada possibilidade representa uma modalidade separada da presente invenção. Um comprimido pode ser feito por compressão ou moldagem, opcionalmente, com um ou mais excipientes como é conhecido na técnica. Especificamente, os comprimidos moldados podem ser feitos por moldagem em uma máquina adequada, uma mistura do ingrediente ativo em pó umedecido com um líquido inerte diluente.

[76] Os comprimidos e outras formas farmacêuticas sólidas das composições farmacêuticas descritas aqui podem opcionalmente ser marcados ou preparados com revestimentos e coberturas, tais como revestimentos entéricos e outros revestimentos conhecidos na técnica. Os mesmos também podem ser formulados a fim de fornecer uma liberação lenta ou controlada do ingrediente ativo nos mesmos usando, por exemplo, hidroxipropilmetylcelulose em diferentes proporções para fornecer o perfil de liberação desejada, outras matrizes de polímero e similares. O ingrediente também pode estar em forma de microencapsulada, se apropriado, com um ou mais dos excipientes descritos acima.

[77] A presente invenção fornece um método de redução dos níveis de colesterol no sangue ou tratamento de esteatose hepática que compreende administrar a um sujeito em necessidade do mesmo uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição que inclui qualquer um dos sais de Aramchol da presente invenção. A presente invenção fornece um método de tratamento de doença esteatose hepática e Esteato-hepatite não alcoólicas (NASH) que compreende a administração a um sujeito em necessidade do mesmo uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição que inclui qualquer um dos sais de Aramchol da presente invenção. A presente invenção fornece ainda um método de dissolução de cálculos biliares de colesterol na bile e para prevenir a

formação de tais cálculos que compreende administrar a um sujeito em necessidade do mesmo uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição que inclui qualquer um dos sais de Aramchol da presente invenção. Em outras modalidades, a presente invenção fornece um método de tratamento de arteriosclerose que compreende administrar a um sujeito em necessidade do mesmo uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição que inclui qualquer um dos sais de Aramchol da presente invenção. A presente invenção também fornece um método de tratamento de uma doença ou distúrbio associado ao metabolismo de glicose alterada, particularmente hiperglicemia, diabetes, resistência à insulina e obesidade, compreendendo a administração a um sujeito em necessidade do mesmo uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição que inclui qualquer um dos sais de Aramchol da presente invenção. Ainda mais a presente invenção fornece um método de tratar, impedir ou inibir a progressão de uma doença cerebral caracterizada por depósitos de placa amiloide, particularmente a doença de Alzheimer, compreendendo administrar a um sujeito em necessidade no mesmo uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição que compreende qualquer um dos sais de Aramchol da presente invenção.

[78] A "quantidade terapeuticamente eficaz" aqui se refere a uma quantidade de um agente que é eficaz, mediante a administração de dose única ou múltiplas ao sujeito em fornecer um benefício terapêutico ao sujeito. Nas modalidades adicionais, os sais de Aramchol da presente invenção são usados para a preparação de um medicamento para tratar as doenças ou distúrbios acima mencionados.

[79] Os seguintes exemplos são apresentados a fim de ilustrar mais plenamente certas modalidades da invenção. Eles não devem, de forma nenhuma, ser considerados, no entanto, como limitantes do escopo amplo da invenção. Uma pessoa versada na técnica pode facilmente conceber muitas variações e modificações dos princípios aqui descritos, sem se

afastar do escopo da invenção.

Exemplo 1 – Síntese de Sais de Aramchol:

[80] Sais de Aramchol da presente invenção foram preparados de acordo com o procedimento a seguir: O ácido livre de Aramchol foi misturado com a base correspondente em uma proporção de 1:1 em água ou etanol. A mistura foi aquecida a 50 °C a uma taxa de 1 °C/min. A mistura foi mantida em 50 °C por 2 horas e resfriada a uma taxa de 0,1 °C/min a 20 °C. Em casos onde os sais não se precipitam após o resfriamento, as misturas de reação em bruto foram mantidas durante 3 dias e a pureza foi medida através de HPL. Os sais de Aramchol que fornecem uma solução clara não mostraram nenhuma impureza adicional em HPLC. Os resultados são descritos na Tabela 1.

[81] Constatou-se que os sais de Aramchol a seguir são solúveis (> 50 mg/ml em 50 °C) em água: O sal de L-arginina, sal de colina, sal de N-metilglucamina, sal de dietilamina, sal de 2-dietilamino-etanol, sal de deanol, sal de etanolamina e sal de dietanolamina. Constatou-se que os sais de Aramchol a seguir são solúveis (> 50 mg/ml em 50 °C) em etanol em 50 °C: 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 e sal de dietanolamina. Nenhuns sais foram obtidos usando glicina ou taurina.

[82] Usando água como um solvente, os sais de Aramchol a seguir precipitados como material amorfo: O sal de L-arginina, sal de L-lisina, sal de N-metilglucamina, sal de dietilamina, sal de benzatina, sal de 2-dietilamino-etanol, sal de deanol, sal de etanolamina e sal de dietanolamina. Um sal de amônio cristalino de Aramchol foi obtido de água (Forma I). A forma foi caracterizada pela análise térmica. O perfil de DSC mostrou um primeiro pico a 76,32 °C com um início a 60,07C ($\Delta E = -29,33$ J/g) e um segundo pico em 117,12 °C com um início em 114,08 °C ($\Delta E = -67,16$ J/g). A perda de peso durante o primeiro pico foi de 2,05%.

Tabela 1.

Base	Dissolvido (50 mg/ml) a 50 °C	XRPD	Sal permanece na solução após arrefecimento a 20 °C	Estabilidade em água (HPLC) Depois de 3 dias
L-arginina	Sim	N/A	não	-
L-lisina	Não	Material de partida	-	-
Colina	Sim	N/A	sim	bom
Amônia	Não	cristalino	não	-
N-metilglucamina	Sim	N/A	não	-
Trimetilglicina (betaína)	Não	Material de partida	-	-
Dietilamina	Sim	N/A	não	-
Benzatina	Não	Amorfo	-	-
2-dietilamino-etanol	Sim	N/A	sim	bom
Deanol	Sim	N/A	sim	bom
Trometamina	Não	Material de partida	-	-
Etanolamina	Sim	N/A	não	-
Dietanolamina	Sim	N/A	sim	bom

N/A = não disponível

[83] Usando etanol como um solvente, os sais de Aramchol a seguir precipitados como material amorfos: 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 e sal de dietanolamina. Um sal de amônio cristalino de Aramchol foi obtido de etanol. A forma foi caracterizada pela análise térmica. O perfil de DSC mostrou um pico a 56,57 °C com um início em 55,37 °C($\Delta E = -45,57 \text{ J/g}$). A perda de peso durante o pico foi de 5,44%. Um sal de etanolamina cristalino de Aramchol foi obtido de etanol. A forma foi caracterizada pela análise térmica. O perfil de DSC mostrou um primeiro pico no 50,12 °C com um início em 44,87 °C ($\Delta E = -8,45 \text{ J/g}$); um segundo pico em 72,27 °C com um início em 62,58 °C ($\Delta E = 6,28 \text{ J/g}$); um terceiro pico em 85,86 °C com um início em 80,06 °C ($\Delta E = -6,20 \text{ J/g}$); e um quarto pico de 122,42 °C com um início em 104,82 °C ($\Delta E = -45,78 \text{ J/g}$). Observou-se uma perda de peso

contínua de 25,37% usando TGA.

Exemplo 2 – Solubilidade dos Sais de Aramchol:

[84] Sais de Aramchol da presente invenção foram avaliados para sua solubilidade em água. A solubilidade aquosa foi testada em 20 °C usando o método de agitação de frasco. 5 mg de cada sal foi pesado. Água foi adicionada em etapas até uma solução clara ser obtida (Tabela 2, solubilidade em água). Foi medido o pH de cada solução (Tabela 2, pH depois de solubilidade). Os resultados são descritos na Tabela 2.

Tabela 2.

Base	XRPD	Solubilidade em água (mg/ml)	pH da solução
L-arginina	Amorfo	<11	N/A
L-lisina	Amorfo	10-32	8
L-lisina	Cristalino	11-35	8
Amônia	Cristalino	<11	N/A
N-metil-glucamina	Amorfo	113-1130	7
Betaína	Amorfo	<11	N/A
Betaína	Cristalino	<11	N/A
Dietilamina	Amorfo	<11	N/A
Dietilamina	Cristalino	<11	N/A
Trometamina	Fracamente cristalino	<11	N/A
Trometamina	Cristalino	32-95	8
Etanolamina	Cristalino	<11	N/A
Dietanolamina	Cristalino	<11	N/A

N/A = não disponível

[85] Em comparação, Aramchol (ácido livre) limitou-se a solubilidade em meio aquoso (solubilidade em tampão a pH 6,0<0,001 mg/mL,

solubilidade máxima de 0,66 mg/ml em FeSSIF, pH = 5).

Exemplo 3:

Materiais e métodos:

Difração de Pó de Raios X (XRPD)

[86] Estudos de difração de pó de raio-x foram realizados usando Bruker AXS D2 PHASER em configuração de Bragg-Brentano, equipamento #1549. Usando um ânodo de Cu em 30 kV, 10 mA; estágio da amostra de rotação padrão; monocromatização através de um $\kappa\beta$ -filtro (0,5% Ni). Fendas: fendas de divergência fixa de 1,0 mm (= 0,61°), fenda Soller axial primária 2,5°, fenda Soller axial secundária 2,5°. Detector: Detector Linear de LYNXEYE com abertura de detector de 5° fenda de recepção. O suporte de amostras padrão (cavidade de 0,1 mm em wafer de silicone (510)) teve uma contribuição mínima para o sinal de fundo.

[87] As condições de medições: intervalo de varredura 5-45° 2θ, rotação de amostra 5 rpm, 0,5 s/passo, 0,010°/passo, fenda de detector de 3,0 mm; e todas as condições de medição foram registradas no arquivo de controle de instrumento. Como adequação de sistema, amostra de corindo (padrão NIST) foi medida diariamente.

[88] O software utilizado para a coleta de dados é Difrac.Commander v3.3.35. A análise dos dados foi realizada utilizando Difrac.Eva v 3.0. Nenhuma correção de fundo ou suavização foi aplicada aos padrões. A contribuição de Cu-K α_2 foi retirada usando o software Difrac.Eva. Os resultados são descritos na Tabela 3.

Tabela 3.

Base	XRPD
L-arginina	Amorfo
L-lisina	Material cristalino (Sem formação de sal)
Amônia	Material cristalino (Sem formação de sal)

N-metilglucamina	Amorfo
Betaína	Material cristalino/amorfo
Dietilamina	Material cristalino/amorfo (Sem formação de sal)
2-dietilamino-etanol	Amorfo
Deanol	Material cristalino (Sem formação de sal)
Trometamina	Amorfa/amorfo + pico adicional
Etanolamina	Material cristalino (Sem formação de sal)
Dietanolamina	Amorfa/amorfo + pico adicional (Sem formação de sal)

Análise Termo-Gravimétrica/Calorimetria de Varredura Diferencial (TGA/DSC)

[89] Realizou-se TGA/DSC utilizando um Mettler Toledo TGA/DSC1 Stare System com um amostrador automático de 34 posições, equipamento #1547.

[90] As amostras foram preparadas usando cadiinhos de alumínio (40µl; perfurados). Normalmente, 5-10 mg de cada amostra foi carregada em um cadiinho de alumínio pré-pesado e foi mantida em 30 °C durante 5 minutos, após a qual foi aquecido a 10 °C/min de 30 °C a 300 °C. Uma purga de nitrogênio foi mantida ao longo da amostra de 40 ml/min. Como verificação de adequação de sistema, Índio e Zinco foram usados como referências de calibração.

[91] O software usado para avaliação e coleta de dados foi STARE Software v10.00 build 2480. Nenhuma correções foram aplicadas aos padrões. Os resultados são descritos na Tabela 4.

Tabela 4.

Base	DSC T_{pico} (°C)	Integral normalizada (J/g)	Perda de massa de TGA (%)

L-arginina	50,8 79,2 131,9 238,4 270,4 278,1 283,5	-17,5 -83,5 -3,0 -80,3 -62,2 8,9 -12,2	8,3 (40-120 °C) 3,7 (200-260 °C)
L-arginina	93,5 132,2 230,5	-69,0 -2,8 -21,2	3,3 (40-120 °C) 3,2 (190-250 °C)
L-lisina	54,8 80,3 117,3 166,4 225,3	-1,5 -3,1 -45,8 -10,9 -100,2	1,1 (40-100 °C) 6,5 (170-250 °C)
L-lisina	92,7 112,4 145,5 166,8 223,9	-4,6 -14,6 8,3 -14,9 -94,9	3,0 (40-100 °C) 6,1 (160-260 °C)
Amônia	49,4 87,6	-3,5 -41,9	1,2 (40-100 °C)
Amônia	88,1 151,8	-34,6 -11,1	0,2 (80-100 °C) 0,3 (120-180 °C)
N-metil-glucamina	49,9 77,2 224,2	-25,9 -63,8 -134,7	8,1 (50-130 °C)
N-metil-glucamina	58,9 79,0	-24,5 -28,5	3,1 (50-130 °C)
Betaína	50,5 65,3 134,4 259,0	-29,0 -13,5 -30,2 -164,0	2,4 (40-100 °C) 2,7 (100-170 °C) 12,9 (200-280 °C)
Betaína	56,5 84,1 261,3	10,6 43,8 159,9	1,9 (40-115 °C) 11,9 (210-280 °C)
Dietilamina	56,7 77,7 106,1 260,6	-5,4 -1,3 -51,5 -0,9	3,2 (40-90 °C) 13,7 (90-220 °C)
Dietilamina	64,4	-44,5	2,9 (60-110 °C)

	99,2 151,1 260,2	-7,6 -6,6 -2,1	2,8 (120-175 °C)
2-dietilamino-ethanol	45,8	-15,3	16,2 (100-210 °C)
	108,6	-28,4	
	119,6	-53,3	
	179,3	0,9	
	198,2	2,3	
	260,7	-2,1	
Deanol	87,5	-12,2	20,9 (80-170 °C)
	93,9	-30,7	
	106,8	-56,9	
Deanol	53,4	-9,1	1,0 (60-120 °C) 7,5 (120-220 °C)
	67,0	-22,7	
	138,0	-28,8	
	232,6	11,3	
Trometamina	57,9	-77,2	9,4 (40-110 °C) 8,0 (150-300 °C)
	205,7	-130,0	
Trometamina	49,0	-2,3	1,4 (100-140 °C)
	113,4	-9,0	
Etanolamina	55,0	-8,5	3,6 (50-110 °C) 5,4 (140-220 °C)
	85,5	-2,3	
	105,8	-13,2	
	192,7	-47,7	
Etanolamina	103,6	-53,1	0,5 (75-120 °C) 6,2 (125-235 °C)
	187,7	-71,1	
Dietanolamina	49,0	-14,5	1,2 (50-80 °C) 10,8 (85-140 °C) 2,3 (180-240 °C)
	95,3	-33,0	
	103,0	-49,6	
	202,1	-28,1	
Dietanolamina	59,8	-46,8	1,1 (50-90 °C) 5,3 (90-140 °C) 3,0 (175-235 °C)
	77,1	-26,0	
	103,2	-78,5	
	142,3	-0,3	
	205,0	-25,6	

Sorção Dinâmica de Vapor (DVS)

[92] Os testes de DVS foram realizados usando um Surface

Measurement System Ltd. DVS-1 sem vídeo, equipamento #2126.

[93] As amostras foram pesadas em uma bandeja de vidro, geralmente 20-30 mg e equilibrou-se a 0% de umidade relativa (RH). Após o material ter secado, a RH foi aumentada com 10% por passo por 1 hora por incremento, terminando em 95% de RH.

[94] O software utilizado para a coleta de dados foi DVSWin v. 3.01 sem vídeo. A análise dos dados foi realizada usando DVS Standard Analysis Suite v6.3.0 (Standard).

[95] Os resultados são descritos na Tabela 5.

Tabela 5.

Base	Absorção de massa
L-arginina	12,5% (gradual; reversível)
L-lisina	23,1% (gradual; reversível)
Amônia	5,4% (gradual; reversível)
N-metilglucamina	14,9% (gradual; reversível)
Betaína	23,0% (gradual; reversível)
Dietilamina	14,8% (gradual; reversível)
2-dietilamino-etanol	12,1% (gradual; reversível)
Deanol	17,3% (gradual; reversível)
Trometamina	9,4% (gradual; reversível)
Etanolamina	13,2% (gradual; reversível)
Dietanolamina	6,9% (gradual; reversível)

Microscopia de Luz Polarizada (PLM)

[96] Os estudos de microscopia foram realizados usando um AxioVert 35M, equipado com um AxioCamERc5S, equipamento #1612. O microscópio foi equipado com quatro lentes, sendo Zeiss A-Plan 5 \times /0.12, Zeiss A-Plan 10 \times /0.25, LD A-Plan 20 \times /0.30 e Achros TIGMAT 32 \times /0.40. A avaliação e coleta de dados foi realizada utilizando o software Carl Zeiss AxioVision Zen Blue Lite Edition 2011 V1.0.0.0.

[97] Os resultados são descritos na Tabela 6.

Tabela 6.

Base	PLM
L-arginina	Blocos em bruto < 20 µm
L-arginina	Partículas aglomeradas arredondadas < 100µm
L-lisina	Partículas pequenas < 1 µm
L-lisina	Partículas pequenas aglomeradas > 100 µm
Amônia	Pequenos blocos < 20 µm
Amônia	Pequenas partículas < 100 µm
N-metilglucamina	Blocos < 100 µm
N-metilglucamina	Partículas aglomeradas arredondadas > 100µm
Betaína	Placas fraturadas > 100 µm
Dietilamina	Placas fraturadas > 100 µm
2-dietilamino-etanol	Blocos em bruto > 100 µm
Deanol	Blocos em bruto > 100 µm
Trometamina	Agulhas aglomeradas > 100 µm
Etanolamina	Partículas aglomeradas > 100 µm
Etanolamina	Blocos em bruto > 100 µm
Dietanolamina	Blocos em bruto > 100 µm
Dietanolamina	Partículas pequenas aglomeradas > 100 µm

Exemplo 4 – Síntese e Caracterização de Sais de N-metil Glucamine, Trometamina e Lisina de Aramchol

[98] A síntese de sais de N-metilglucamina, trometamina e lisina de Aramchol foi realizada de acordo com os Métodos Gerais 1 e 2.

Método Geral 1: Uma solução aquosa ou alcoólica (por exemplo, metanol, etanol) de Aramchol e ~1 equivalente molar da base desejada foi

aquecida (por exemplo, por refluxo) até que uma solução homogênea se formou, seguido pela adição de um anti-solvente (tais como acetato de etil ou acetona) para render uma suspensão. A mistura de reação foi opcionalmente esfriada. Os sais formados foram isolados por filtração, lavados e secos.

[99] Sal de N-metilglucamina de Aramchol foi preparado pelo Método Geral 1. Ácido livre de Aramchol (5,0 g) foi misturado com 1,4 g (1 equivalente molar) de N-metilglucamina em água, metanol ou etanol, aquecido ao refluxo, seguido por adição de acetona ou acetato de etil como um anti-solvente e resfriamento. Um precipitado formado que foi isolado e caracterizado como sal de N-metilglucamina de Aramchol amorfó. Os procedimentos semelhantes foram realizados usando 1-20 g de Aramchol e 1 equivalente molar de N-metilglucamina.

[100] Sal de lisina de Aramchol foi preparado pelo Método Geral 1. Ácido livre de Aramchol (5,0 g) foi misturado com 1,0 g (1 equivalente molar) de lisina em água, metanol ou etanol, aquecido ao refluxo, seguido por adição de acetona ou acetato de etil como um anti-solvente e resfriamento. Um precipitado formado que foi isolado e caracterizado como sal de lisina de Aramchol amorfó. Os procedimentos semelhantes foram realizados usando 1-20 g de Aramchol e 1 equivalente molar de lisina.

[101] Sal de trometamina de Aramchol foi preparado pelo Método Geral 1. Ácido livre de Aramchol (5,0 g) foi misturado com 0,9 g (1 equivalente molar) de trometamina em água, metanol ou etanol, aquecido ao refluxo, seguido por adição de acetona ou acetato de etil como um anti-solvente e resfriamento. Um precipitado formado que foi isolado e caracterizado como sal de trometamina de Aramchol amorfó. Os procedimentos semelhantes foram realizados usando 1-20 g de Aramchol e 1 equivalente molar de trometamina.

Método Geral 2: Uma solução aquosa ou alcoólica de Aramchol e ~1 equivalente molar da base desejada foram aquecidas (por exemplo, por

refluxo) até que uma solução homogênea formada. A reação foi opcionalmente esfriada. O solvente foi, então, removido (por exemplo, por evaporação rotativa sob pressão reduzida) para render um sólido que foi isolado e seco.

[102] Sal de N-metilglucamina de Aramchol foi preparado pelo Método Geral 2. O ácido livre Aramchol (150,0 g) foi misturado com N-metilglucamina (41,7 g) em metanol e aquecido para refluxo para obter uma solução homogênea. A solução foi concentrada na evaporação rotativa em 50 °C para obter um sólido, que foi caracterizado como sal de N-metilglucamina de Aramchol amorfó.

[103] Sal de lisina de Aramchol foi preparado pelo Método Geral 2. O ácido livre Aramchol (50,0 g) foi misturado com lisina (10,4 g) em metanol e aquecido para refluxo para obter uma solução homogênea. A solução foi concentrada na evaporação rotativa em 50 °C para obter um sólido, que foi caracterizado como sal de lisina de Aramchol amorfó.

[104] Sal de trometamina de Aramchol foi preparado pelo Método Geral 2. O ácido livre Aramchol (50,0 g) foi misturado com trometamina (8,6 g) em metanol e aquecido para refluxo para obter uma solução homogênea. A solução foi concentrada na evaporação rotativa em 50 °C para obter um sólido, que foi caracterizado como sal de trometamina de Aramchol amorfó.

Caracterização:

[105] As Análises de XRPD foram realizadas conforme descrito no Exemplo 3, demonstrando que os sais resultantes são amorfos. Um espectro de XRPD representante do sal de N-metilglucamina de Aramchol é mostrado na Figura 1. Um espectro de XRPD representante do sal de lisina de Aramchol é mostrado na Figura 2. Um espectro de XRPD representante do sal de trometamina de Aramchol é mostrado na Figura 3.

[106] Espectros de $^1\text{H-NMR}$ dos sais foram medidos, em cada caso o próton da função de ácido carboxílico de Aramchol (localizado em 12 ppm no espectro de NMR) desapareceu, indicando a formação de sais. Um

espectro de $^1\text{H-NMR}$ representante do sal de N-metilglucamina de Aramchol é mostrado na Figura 4. Um espectro de $^1\text{H-NMR}$ representante do sal de lisina de Aramchol é mostrado na Figura 5. Um espectro de $^1\text{H-NMR}$ representante do sal de trometamina de Aramchol é mostrado na Figura 6. Indicado para comparação na Figura 7 é um representante espectro de $^1\text{H-NMR}$ de ácido livre de Aramchol.

Medições Analíticas:

[107] Os seguintes testes foram realizados nos sais: Pureza de LC, Karl Fisher ((para determinar as quantidades de vestígios de água em uma amostra) e perda por secagem (LOD) (para medir o % de massa que se perde durante o aquecimento). Os resultados mostram um padrão semelhante ao teor de água e % de perda de massa entre os sais (Tabela 7).

Tabela 7.

Entrada#	Pureza de LC (% de área) 205 nm	KF (% em peso)	LOD (% em 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

Medições de DVS de N-metilglucamina de Aramchol

[108] Medições de DVS foram realizadas para determinar o comportamento de sorção e dessorção de sal de N-metilglucamina de Aramchol. Sorção foi medida aumentando a umidade relativa (RH) com

10% por passo, terminando em 95% de RH. Após a conclusão do ciclo de sorção, o material foi seco. XRPD foi realizado antes e depois de DVS. DVS mostrou sorção gradual em resposta à mudança no RH com uma absorção de massa total de 16%, sugerindo que o material seja higroscópico. A sorção foi reversível e reproduzíveis. Um espectro de DVS representativo do sal N-metilglucamina de Aramchol é retratado na Figura 8. O padrão de XRPD após DVS mostrou o material amorfado, com forma de pico e intensidades diferentes (devido à forma e tamanho de partículas diferentes).

Densidade a granel e compactada de N-metilglucamina de Aramchol

[109] Medições de densidades a granel e compactada são usadas para prever as propriedades de fluxo e compressibilidade dos pós. Essas duas propriedades são importantes para a fabricação de formulações farmacêuticas sólidas, tais como comprimidos e cápsulas. Os compostos com baixos valores de densidades a granel e compactada estão sujeitos a dificuldades de compactação em comprimido e, portanto, podem exigir processamento adicional para melhorar as propriedades de fluxo.

[110] Conforme mostrado na Tabela 8, a densidade a granel de Aramchol (ácido livre) é 0,15 g/cm³ e densidade compactada é 0,17 g/cm³. Portanto, para melhorar as propriedades de fluxo um processo de granulação úmida é usado antes da compressão em comprimido. Para N-metilglucamina de Aramchol a densidade a granel medida é 0,57 g/mL e a densidade compactada é 0,66 g/mL. Os valores relativamente mais elevados de densidade a granel e comprimida para sal de N-metilglucamina (em comparação com ácido livre de Aramchol), sugerem que suas propriedades de fluxo melhoradas podem encurtar e simplificar o procedimento de produção de comprimido, evitando a etapa adicional de granulação úmida.

Tabela 8. Densidades a granel e comprimida

Composto	Densidade	Densidade a granel
----------	-----------	--------------------

	comprimida	
Sal de N-metilglucamina	0,66 g/mL	0,57 g/mL
Aramchol (ácido livre)	0,17 g/cm ³	0,15 g/cm ³

[111] Aramchol (ácido livre) e os três sais foram preenchidos como estão, em cápsula de HPMC dura (Hipromelose) tamanho 00 (CapsCanada, ON, Canadá) sem compressão, peso de preenchimento é apresentado na Tabela 9.

Tabela 9: Peso de preenchimento de uma cápsula de tamanho 00

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

[112] O volume de preenchimento demonstra volume comprimido similar para os três sais

Exemplo 5. Estabilidade de de N-metilglucamina Aramchol

[113] O sal de N-metilglucamina de Aramchol foi submetido a estabilidade acelerada de acordo com as seguintes condições:

- a) Exposto a 40 °C/75% de RH em um frasco fechado como uma solução
- b) Exposto a 40 °C/75% de RH em um recipiente fechado em uma forma de estado sólido
- c) Exposto a 40 °C/75% de RH em um recipiente aberto em uma forma de estado sólido

[114] Os seguintes parâmetros foram determinados em t = 0, semana t = 1 , semanas t = 2: aparência, pureza de LC, ensaio de LC (o ensaio é calculado contra a referência que é o ácido livre e, portanto, os resultados são menores que 100%), teor de água. Tabela 10 exibe os resultados dos testes de estabilidade. A aparência e a pureza mantiveram-se inalterada nas condições investigadas. Os perfis de impureza mostraram nenhuma

mudança significativa em impurezas presentes, nem qualquer nova impureza formada significativa. O ensaio calculado permaneceu relativamente inalterado sob as condições investigativas. Teor de água aumentado sob as condições experimentais e o material pareceu higroscópico. A atração de água sob a forma de estado sólido foi mais proeminente para o material armazenado em um recipiente aberto.

Tabela 10. Resultados resumidos de estabilidade

	Como uma solução em um frasco fechado			Em uma forma de estado sólido em um recipiente fechado			Em uma forma de estado sólido em um recipiente aberto		
	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 %
ensaio	74,7 %	74,8 %	75,3 %	74,7 %	72,8 %	74,4 %	74,7 %	76,7 %	71,9 %
água	não aplicável			1,2%	1,6%	2,0%	1,2%	4,3%	5,7%

[115] Para ácido livre de Aramchol, 6 meses de dados de estabilidade foram gerados em 40 °C/75% de umidade relativa e 12 meses no tempo real 25 °C/60% de umidade relativa e também às condições intermediárias de 30 °C/65% de umidade relativa. Sob todas as condições e pontos no tempo não houve nenhuma mudança significativa para todos os parâmetros. Assim, a comparação da estabilidade de ácido livre de Aramchol N-metilglucamina demonstra semelhante perfil de estabilidade de ambos os compostos. Além disso, durante a exposição do sal de meglumina de Aramchol a 40 °C/75% de RH causou um aumento no teor de água, não houve alteração de valores de pureza indicando que a formação de sal não há alteração prejudicial para a estabilidade de Aramchol.

Exemplo 6. Solubilidade de Sais de Aramchol de N-metilglucamina, trometamina e L-lisina

[116] Aramchol (ácido livre) tem solubilidade limitada em meio aquoso (solubilidade em tampão a pH 6,0<0,001 mg/mL, solubilidade máxima de 0,66 mg/ml em FeSSIF).

[117] A solubilidade saturada de N-metilglucamina, Trometamina e L-lisina foi determinada em soluções de tampão diferentes e mídia bio-relevante: Tampão de HCl de pH 1,2, Tampão de acetato de pH 4,5, salina pH 5,5, Tampão de fosfato de pH 6,5, Tampão de fosfato de pH 7,0, PBS de pH 7,4, FaSSIF (pH 6,5), FeSSI (pH 5,0) e demi-água (pH 7,8, não foi ajustado após dissolução). Experimentos foram realizados mediante transformação em pasta de 5 mL (~150 mg) de solução saturada por 30 minutos e 24 horas a 37 °C. A exceção foi água: devido a alta solubilidade ~1.000 mg foi adicionado a 5 mL. Todos os experimentos foram realizados em duplicado. A Tabela 11 demonstra a solubilidade dos sais de Aramchol na mídia selecionada.

Tabela 11. Visão geral da solubilidade dos sais de Aramchol selecionados

		N-Metil glucamina	Trometamina	L-lisina	Ácido livre 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	Não solúvel
pH 4,5	30 min	0 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	N/A
	24h	0 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	Não solúvel
pH 5,5		0,04 mg/ml ± 0,06	0,03 mg/ml ± 0,02	0,05 mg/ml ± 0,02	N/A
	30 min	0,00 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	Não solúvel
pH 6,5	30 min	Gel	Gel	Gel	N/A
	24h	Gel	Gel	Gel	<1µg/mL
pH 7,0		18,85 mg/ml ± 1,88	29,39 mg/ml ± 7,45	21,16 mg/ml ± 3,36	N/A
	30 min	Gel	Gel	Gel	Não solúvel
pH 7,4		31,83 mg/ml ± 2,35	22,97 mg/ml ± 3,16	32,72 mg/ml ± 1,80	N/A
	30 min	Gel	Gel	Gel	N/A
FaSSI F	30 min	Gel	Gel	Gel	0,05 mg/ml
	24h	Gel	Gel	Gel	0,13 mg/ml
FeSSI F	30 min	Gel	Gel	Gel	0,66 mg/ml
	24h	Gel	Gel	Gel	0,31 mg/ml

Demi-Água	30 min	156,51 mg/ml ± 24,19	45,04 mg/ml ± 1,26	49,27 mg/ml ± 0,91	N/A
	24h	109,72 mg/ml ± 8,61	Gel	Gel	Não solúvel

Média aritmética de dados ± desvio padrão

N/A = não disponível

[118] Os resultados mostram que a solubilidade dos sais de Aramchol é dependente de pH: em pH ácido (pH 1,2-6,5) é pouco solúvel, com o aumento da solubilidade em pH 7 e acima. Em pH 7, 7,4 as solubilidades semelhantes são demonstradas por todos os três sais. No entanto, surpreendentemente, um aumento relativamente grande em solubilidade (5 vezes) é demonstrado para sal de N-metilglucamina mediante o aumento do pH de 7,4 (PBS) a pH de 7,8 (demi-água), em comparação com os outros dois sais.

[119] Em geral, a comparação de solubilidade entre Aramchol (ácido livre) e sais demonstra maior solubilidade para sais de Aramchol no pH fisiológico relevante (aumento de 30.000 vezes na concentração em pH 7,4).

Exemplo 7. Ratos canulados em experimentos de permeabilidade *in vivo*

[120] Um estudo de permeabilidade *in vivo* de sais de Aramchol foi realizado em ratos Wistar machos canulados na veia jugular e no jejuno. Realizou-se a canulação intestinal a fim de contornar protonação de sais de Aramchol em pH de ácido gástrico. Os sais de Aramchol solubilizados em PBS (30 mg/mL) foram administrados ao intestino de ratos (jejuno) em uma dose de 100 mg/kg (com base em ácido livre), através de uma cânula inserida no lado proximal do jejuno. Uma suspensão de ácido livre de Aramchol (em PBS, 30 mg/mL) foi administrada através da mesma rota e foi usada como controle. As amostras de sangue foram retiradas através de uma cânula inserida na veia jugular em pontos no tempo pré-determinados (pré-dose 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h, 24 h pós-dose). As concentrações

plasmáticas de Aramchol (ácido livre) foram medidas utilizando um método de cromatografia líquida-espectrometria de massa em tandem (LC-MS-MS) através de Analyst Bioanalytical Laboratories, Israel. Todos os parâmetros de PK foram calculados utilizando a análise não compartmental. Somente essas concentrações de plasma iguais ou maiores que o limite inferior da quantificação (LOQ) (48,66 ng/mL) foram utilizadas na análise. As concentrações plasmáticas < LOQ que ocorreram a partir da pré-dose para a primeira concentração \geq LOQ foram tratados como 0. Os tempos de amostragem real foram usados para todas as análises farmacocinéticas. Calcularam-se os seguintes parâmetros de PK: concentração plasmática máxima (C_{max}), tempo para C_{max} (T_{max}), a área sob a curva de tempo-concentração de plasma do tempo da Administração até a última concentração de plasma (AUC_{0-t}), AUC/dose , meia vida de eliminação ($t^{1/2}$). C_{max} e T_{max} foram tiradas diretamente a partir dos dados. Área sob a curva a partir do zero para a amostra final com uma concentração \geq LOQ. AUC_{0-t} foi calculado usando o método linear trapezoidal.

[121] Conforme mostrado na Tabela 12, erro padrão de \pm médio C_{max} e AUC/dose de Aramchol (ácido livre) mais baixo foram comparados com os três sais de N-metilglucamina, lisina e trometamina. Um aumento substancial em ambos AUC/dose e C_{max} foi observado para sal de N-metilglucamina, em comparação com livre de ácido Aramchol (Figura 9). Na média entre os 2 parâmetros, o aumento foi de 2,6 vezes e 3,6 vezes para a AUC/dose e C_{max} , respectivamente.

[122] Tomados em conjunto os dados mostram aumento da exposição Sistémico para todos os sais de Aramchol, em comparação com a forma de ácido livre, apoiando o papel da solubilidade na água na absorção de Aramchol.

Tabela 12. Resumo dos parâmetros de PK para Aramchol (ácido livre) após a administração de intrajejunal de Aramchol e sais de Aramchol

Parâmetro	Aramchol (ácido livre)	Sal de N- metilglucamina	Sal de lisina	Sal de trometamina
C _{max} (ng/mL)	1362,3 ± 359,1 (5)	5012,1 ± 1879,9 (5)	7294,2 ± 5463,0 (5)	2254,9 ± 208,3 (4)
T _{max} (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/dose (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 _{1/2} (h)	4,5 (1)	5,2 ± 1,0 (5)	5,2 ± 1,0 (5)	6,5 ± 2,4 (4)

[123] Erro padrão de ± média aritmética (N) exceto para T_{max} para o qual a mediana (N) [Intervalo] é relatado. N: número de animais de cada grupo.

Conclusões

[124] Cerca de 30 bases farmaceuticamente aceitáveis foram examinadas em um esforço para preparar sais de Aramchol. Desses, constatou-se os sais com base em amina que são adequados e em particular três sais de Aramchol foram selecionados como sais preferenciais. Conforme demonstrado aqui, sais de N-metilglucamina, lisina trometamina de Aramchol foram preparados e foram mostrados possuir propriedades vantajosas. Vários resultados inesperados relacionados com sais de Aramchol em geral e os três sais preferenciais, em particular, são resumidos doravante.

1) A seleção de uma base adequada para a formação de sais de Aramchol farmaceuticamente apropriados não é trivial. Não há nenhuma correlação clara do peso molecular base, pKa, presença de grupos polares ou fatores estéricos na formação de sal.

2) Diferenças da solubilidade substancial através de um intervalo estreito de pH (7,0-7,8) também foram inesperadas. Por exemplo, os três sais testados mostrar solubilidade similar em pH 7 e 7,4. No entanto, a solubilidade de N-metilglucamina em demi-água (pH 7,8) é 5 vezes maior do que em pH 7,4, enquanto para os outros dois sais, a diferença é relativamente baixa.

3) Previsão de estabilidade de solução é inesperada. Por exemplo, o sal de N-metilglucamina mostra relativamente maior estabilidade na solução em comparação aos outros dois sais (Tabela 11). Por exemplo, em pH = 7,8 (demi-água), soluções de sal de trometamina e lisina se transformaram em géis após 24 horas, enquanto o sal de N-metilglucamina manteve-se como uma solução de sal.

[125] Além disso, existem várias propriedades vantajosas dos sais de Aramchol testados em comparação com o ácido livre de Aramchol:

[126] A solubilidade de *in vitro* dos sais de Aramchol está correlacionada com sua absorção *in vivo*: A solubilidade acentuada dos três sais, em comparação ao ácido livre de Aramchol em médio fisiológicos (tampão de pH 7-7,8) resultando na exposição acentuada (medida por C_{max} e AUC). Além disso, exposição mais elevada de N-metilglucamina comparado aos sais de lisina e trometamina podem ser correlacionados a sua estabilidade aumentada em solução.

[127] Finalmente, os valores relativamente mais elevados da densidade a granel e comprimida para o sal de N-metilglucamina (em comparação com ácido livre de Aramchol) sugerem que suas propriedades de fluxo melhoradas podem facilitar o procedimento de produção de comprimido mais simples evitando a etapa adicional de granulação úmida ou outras etapas designadas para superar o problema de compressibilidade dos pós de baixa densidade e as etapas necessárias para permitir o preenchimento de cápsulas duras.

[128] Todas as referências citadas são expressamente incorporadas

neste documento por referência na sua totalidade. Enquanto as certas modalidades da invenção foram ilustradas e descritas, devem ser claras que a invenção não é limitada às modalidades descritas aqui. Inúmeras modificações, alterações, variações, substituições e equivalentes serão evidentes para os versados na técnica sem se afastar do espírito e do escopo da presente invenção conforme descrito pelas reivindicações, que seguem.

REIVINDICAÇÕES

1. Sal de amina, **caracterizado** pelo fato de ser de ácido 3 β -araquidilamido-7 α ,12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-oico, em que dita amina é lisina, N-metilglucamina (meglumina), ou trometamina.

2. Método de preparação do sal, conforme definido na reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que inclui as etapas de:

(a) misturar ácido 3 β -araquidilamido-7 α ,12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-oico com uma amina na presença de um solvente;

(b) opcionalmente, aquecer a mistura a uma temperatura no ou abaixo do ponto de ebulição do solvente;

(c) adicionar um anti-solvente;

(d) opcionalmente, resfriar a mistura; e

(e) isolar o sal de amina obtido dessa forma do ácido 3 β -araquidilamido-7 α ,12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-oico,

em que o solvente é água, álcool ou acetato de etila;

o anti-solvente é acetona ou acetato de etila; e

a amina é selecionada de lisina, N-metilglucamina (meglumina), ou trometamina.

3. Método, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de que a proporção entre o ácido 3 β -araquidilamido-7 α ,12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-oico e a amina é de 1:1.

4. Método, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** pelo fato de que a etapa do aquecimento da mistura é realizada a uma temperatura de 50 °C ou 5 °C.

5. Método, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado** pelo fato de que a etapa de isolar o sal obtido dessa forma do ácido 3 β -araquidilamido-7 α ,12 α -dihidroxi-5 β -olan-24-oico compreende evaporar o solvente e/ou formar um precipitado do referido sal e separar o referido precipitado da mistura de reação.

6. Composição farmacêutica, **caracterizada** pelo fato de que

compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de um sal, conforme definido na reivindicação 1, e opcionalmente, pelo menos um portador, diluente, veículo ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

7. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizada** pelo fato de estar em uma forma selecionada a partir do grupo que consiste em comprimidos, pílulas, cápsulas, pastilhas, grânulos, pós, pastilhas em losango, sachês, selos, emplastros, elixires, suspensões, dispersões, emulsões, soluções, xaropes, aerossóis, ungamentos, cápsulas de gelatina mole e dura, supositórios, soluções injetáveis estéreis e pós embalados estéreis.

8. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 6, **caracterizada** pelo fato de ser para uso para redução dos níveis de colesterol no sangue, tratamento de esteatose hepática ou, para o tratamento de esteato-hepatite não alcoólica (NASH), na dissolução de cálculos biliares de colesterol na bile e para impedir a formação de tais cálculos biliares, tratamento de arteriosclerose, tratamento de uma doença ou distúrbio associado ao metabolismo alterado de glicose, preferencialmente, a doença ou o distúrbio associado ao metabolismo alterado de glicose ser selecionado a partir do grupo que consiste em hiperglicemia, diabetes, resistência à insulina e obesidade, ou tratamento, prevenção ou inibição da progressão de uma doença cerebral identificada por depósitos de placa amiloide, preferencialmente, a doença cerebral identificada por depósitos de placa amiloide sendo a doença de Alzheimer.

9. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizada** pelo fato de ser adequada para administrar por via oral, transdérmica ou tópica.

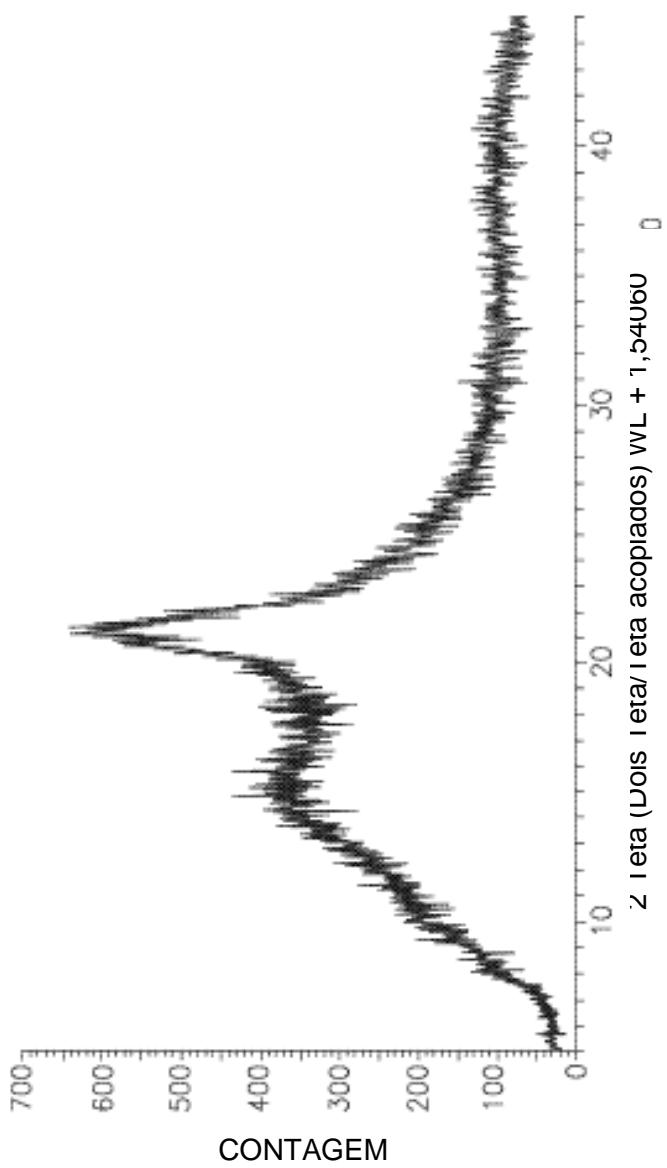


Figura 1

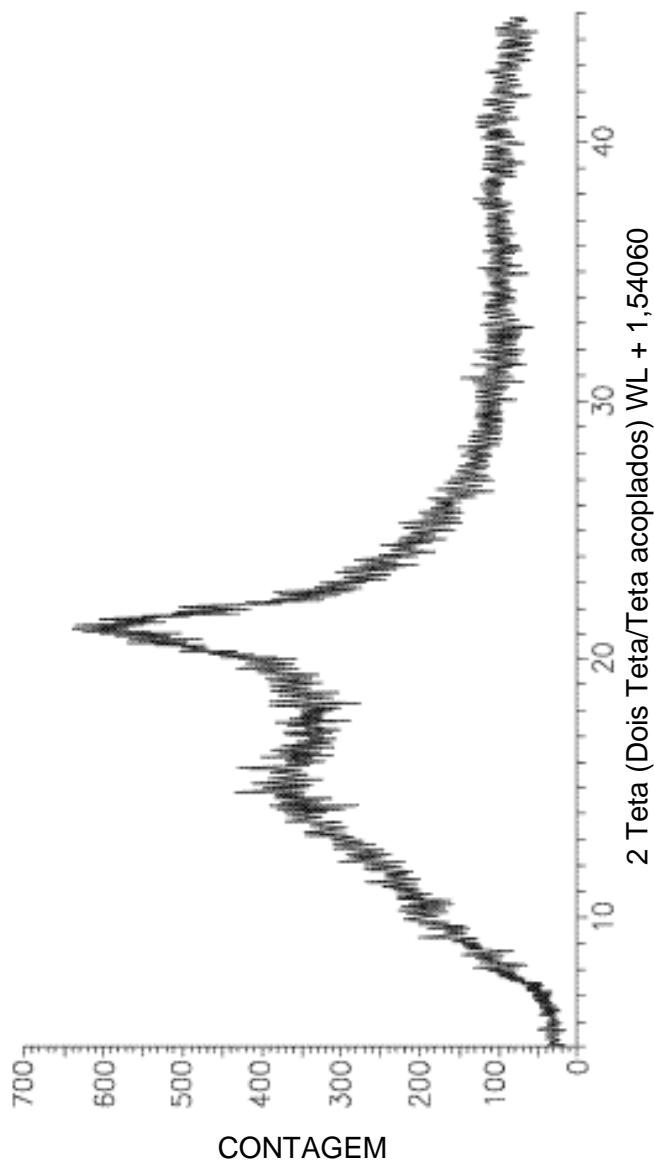


Figura 2

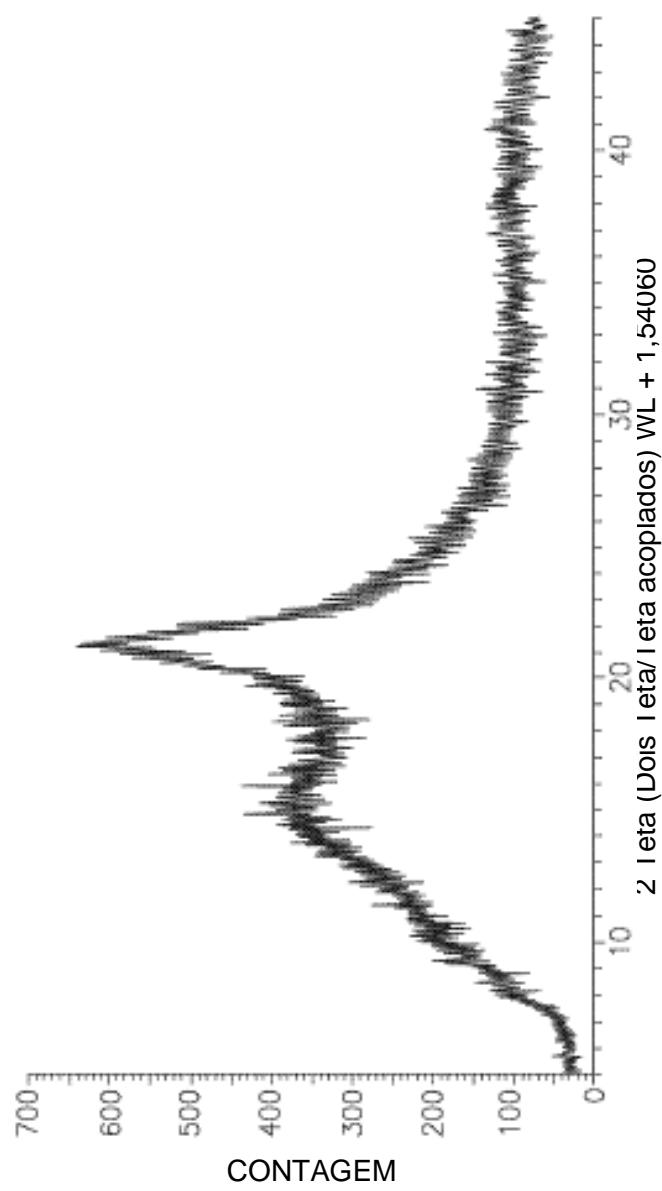


Figura 3

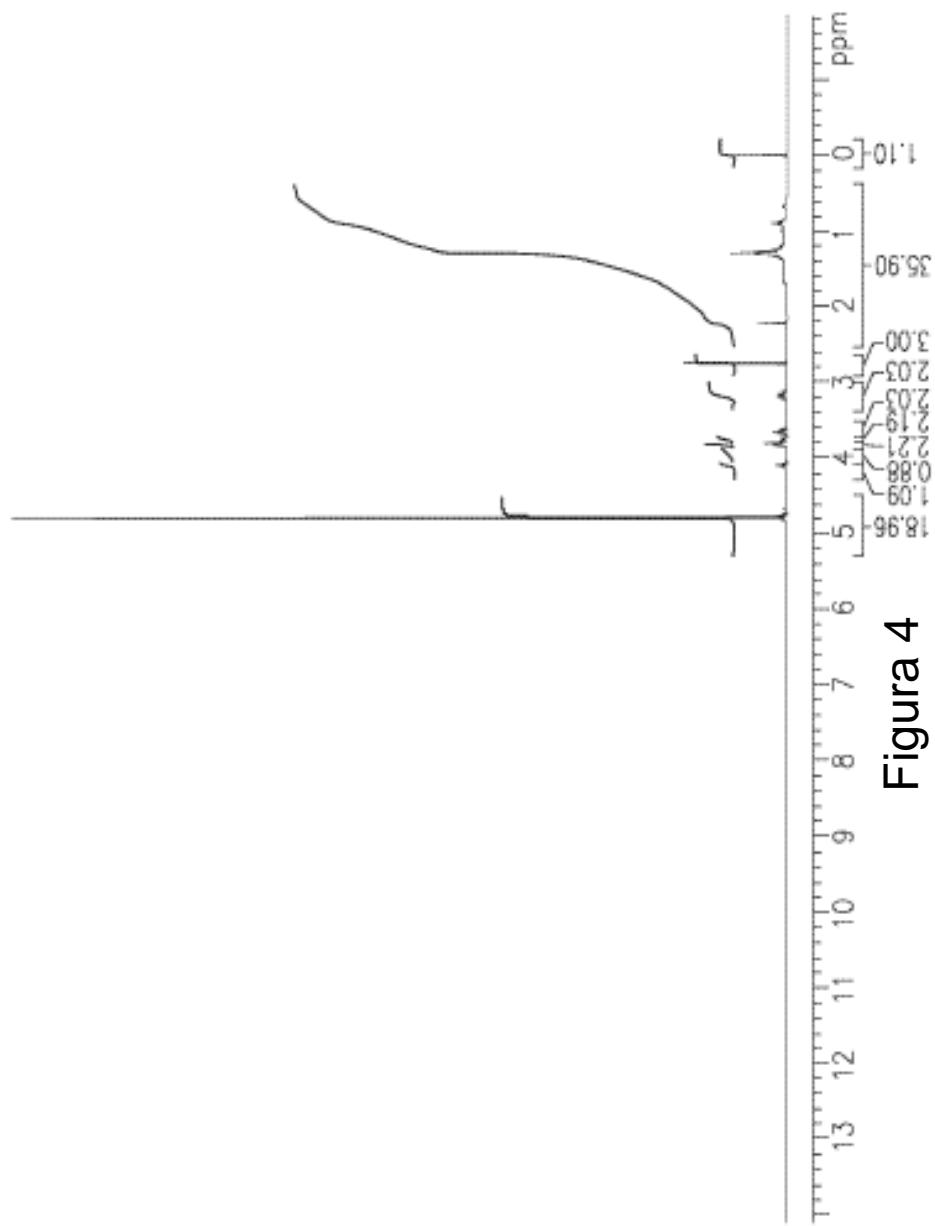


Figura 4

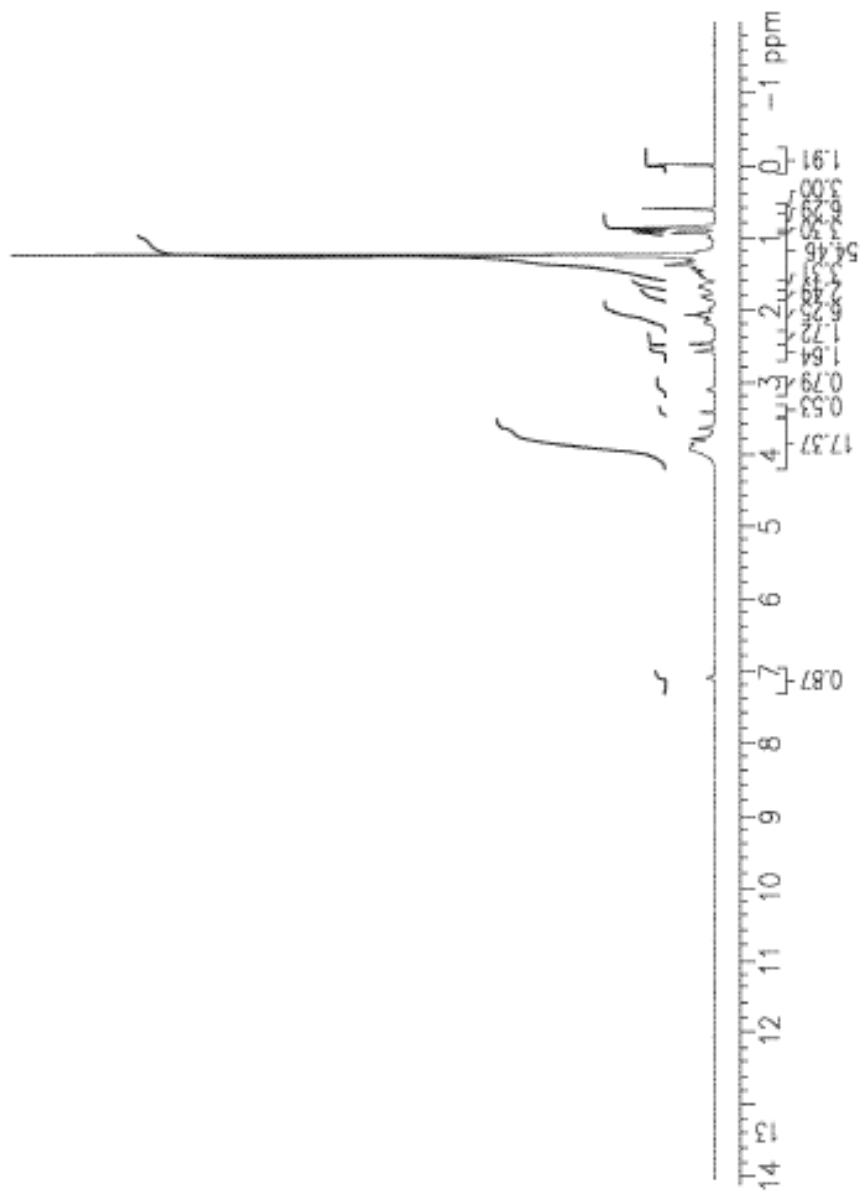


Figura 5

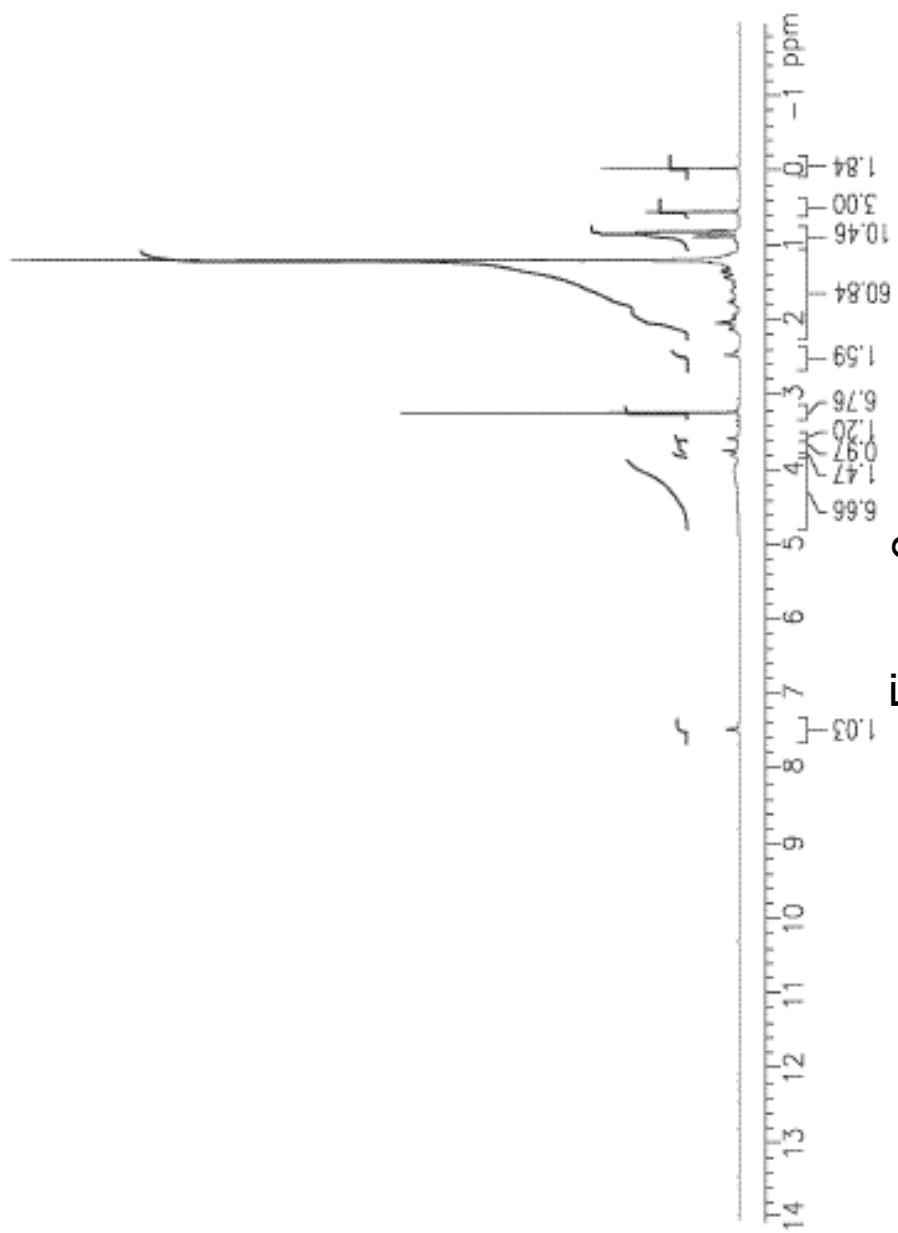


Figura 6

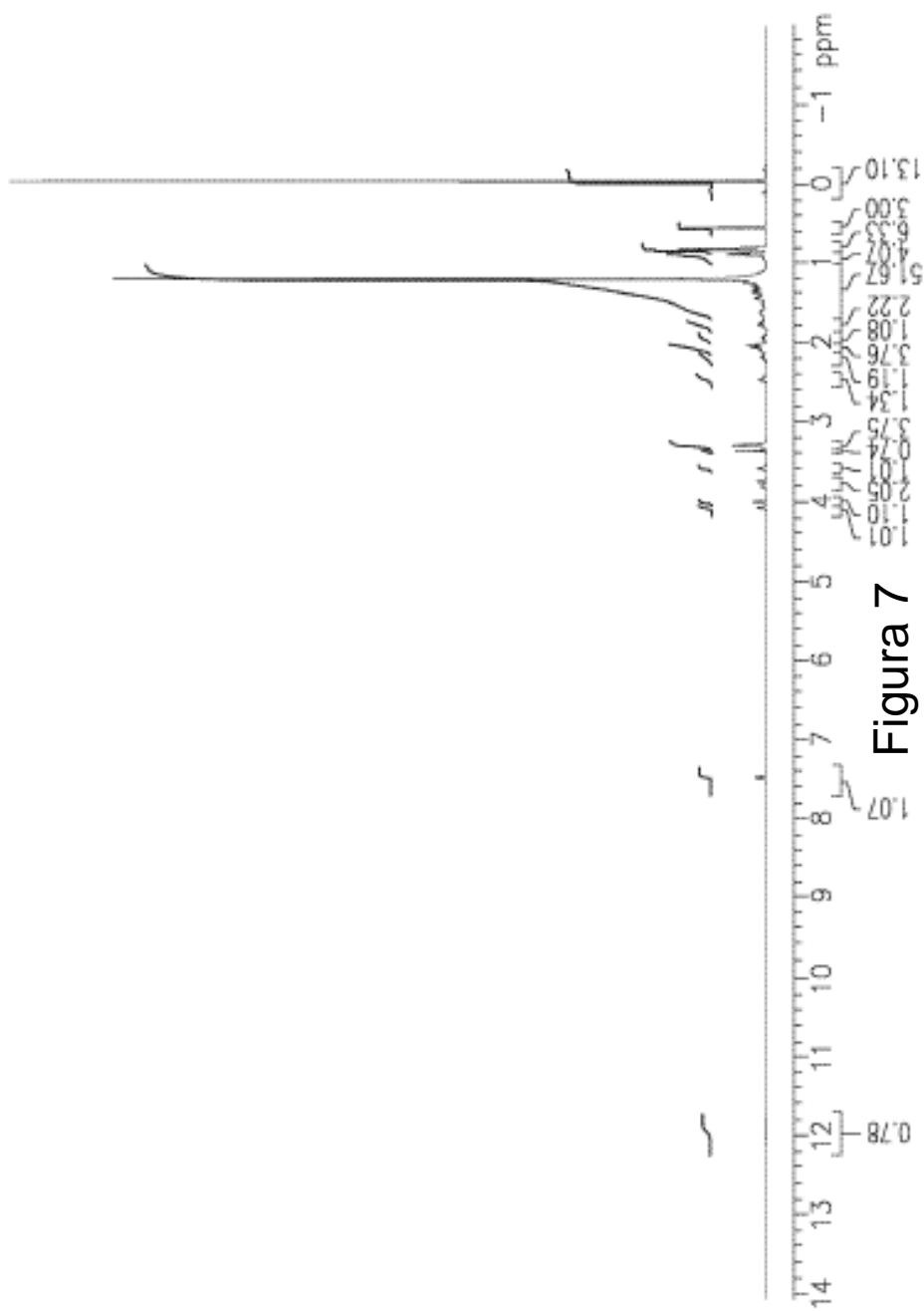


Figura 7

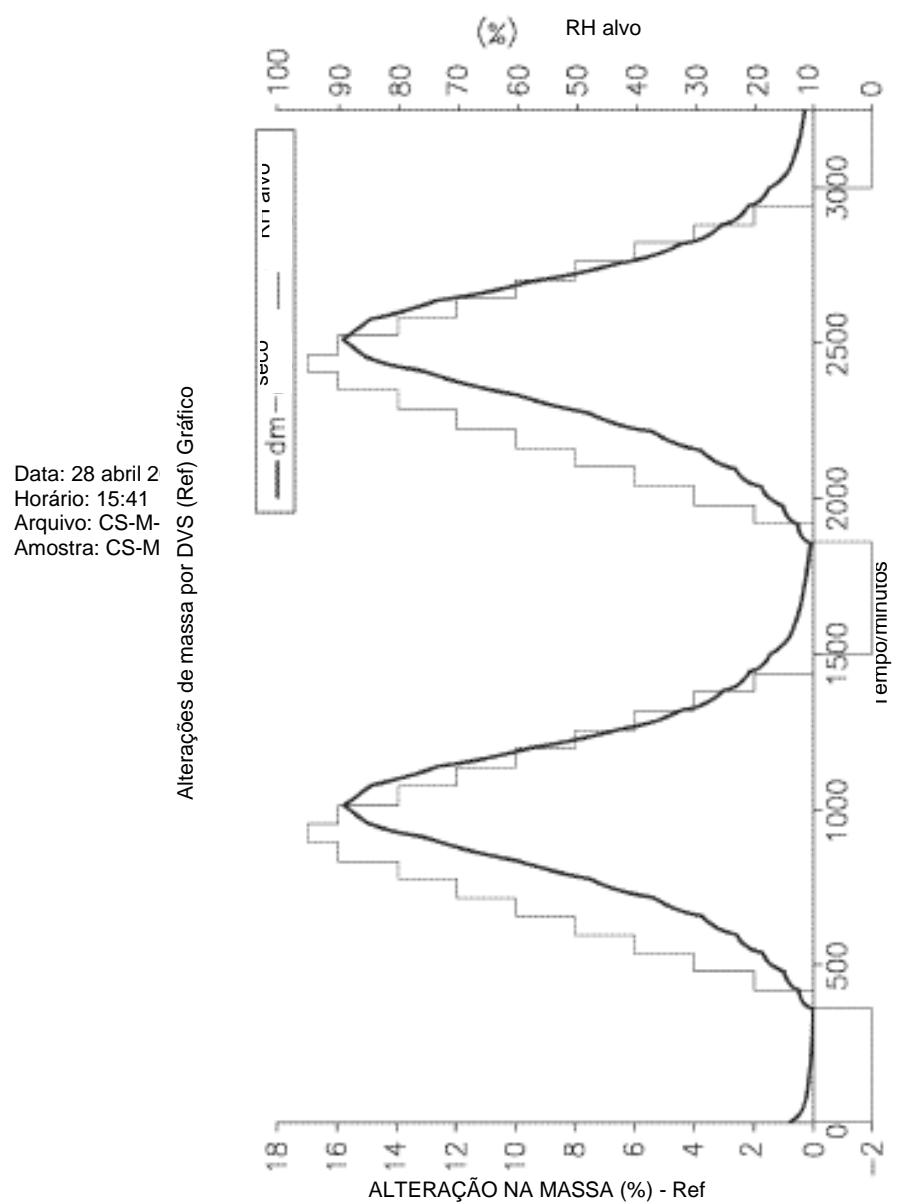


Figura 8

Figura 9