



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112014031828-0 B1



(22) Data do Depósito: 17/06/2013

(45) Data de Concessão: 21/12/2021

(54) Título: COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS COMPREENDENDO A FORMA 1 DE ÁCIDO OBETICÓLICO

(51) Int.Cl.: C07J 9/00; A61K 31/575; A61P 1/16; C07J 51/00.

(30) Prioridade Unionista: 19/06/2012 US 61/661,531.

(73) Titular(es): INTERCEPT PHARMACEUTICALS, INC..

(72) Inventor(es): ANDRE STEINER; HEIDI WAENERLUND POULSEN; EMILIE JOLIBOIS; MELISSA REWOLINSKI; RALF GROSS; EMMA SHARP; FIONA DUBAS-FISHER; ALEX EBERLIN.

(86) Pedido PCT: PCT US2013046150 de 17/06/2013

(87) Publicação PCT: WO 2013/192097 de 27/12/2013

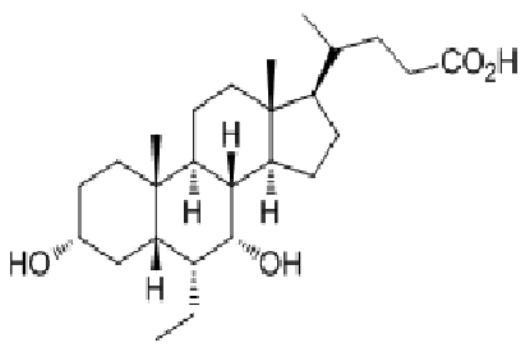
(85) Data do Início da Fase Nacional: 18/12/2014

(57) Resumo: COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS COMPREENDENDO A FORMA 1 DE ÁCIDO OBETICÓLICO. A presente invenção refere-se ao ácido obeticólico ou um sal farmaceuticamente aceitável, solvato ou conjugado de aminoácido dos mesmos. O ácido obeticólico é de utilidade para o tratamento ou prevenção de uma enfermidade ou condição mediada por FXR, enfermidade cardiovascular ou enfermidade colesterolística do fígado, e para reduzir o colesterol de HDL, para reduzir os triglicéridas em um mamífero, ou para a inibição de fibrose. A presente invenção também se refere aos processos para a síntese do ácido obeticólico.

"COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS COMPREENDENDO A FORMA 1 DE ÁCIDO OBETICÓLICO"

Sumário da Invenção

[001] Refere-se a presente invenção ao ácido obeticólico, um agonista para o FXR, aos processos de preparação para o ácido obeticólico, às formulações farmacêuticas que compreendem ácido obeticólico, e ao uso terapêutico do mesmo.



ácido obeticólico (também conhecido como INT-747)

[002] A presente invenção refere-se a uma Forma C de ácido obeticólico cristalino caracterizada por um padrão de difração aos raios-X que inclui picos característicos sob cerca de 4,2; 6,4; 9,5; 12,5; e 16,7 graus 2-Teta. A Forma C de ácido obeticólico cristalino é caracterizada por um padrão de difração aos raios-X substancialmente semelhante àquele ilustrado na Figura 5 e caracterizado ainda por um termograma de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) dotado de um valor endotérmico sob cerca de 98±°C.

[003] A presente invenção refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende a etapa de converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[004] A presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de fazer reagir ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico com NaBH_4 para formar ácido obeticólico cristalino e converter ácido

obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[005] A presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de fazer reagir ácido E - ou E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico; fazer reagir ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico com NaBH₄ para formar ácido obeticólico cristalino; e converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[006] A presente invenção refere-se a um processo para a preparação da Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de fazer reagir éster metílico de ácido E - ou E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico com NaOH para formar ácido E - ou E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico; fazer reagir ácido E - ou E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico; fazer reagir ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico com NaBH₄ para formar ácido obeticólico cristalino, e converter o ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[007] A presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de fazer reagir éster metílico de ácido 3 α ,7 -ditrimetilsiloxi -5 β -col -6 -en -24 -óico com CH₃CHO para formar éster metílico de ácido E - ou E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico; fazer reagir éster metílico de ácido E - ou E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico com NaOH para formar ácido E - ou E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico; fazer reagir ácido E - ou E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico com Pd/C e gás de

hidrogênio para formar ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico; fazer reagir ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico com NaBH₄ para formar ácido obeticólico cristalino, e converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[008] A presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de fazer reagir éster metílico de ácido 3α -hidroxi -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico com Li[N(CH(CH₃)₂)₂] e Si(CH₃)₃Cl para formar éster metílico de ácido $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi - 5β -col -6 -en -24 -óico; fazer reagir éster metílico de ácido $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi - 5β -col -6 -en -24 -óico com CH₃CHO para formar éster metílico de ácido E - ou E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico; fazer reagir éster metílico de ácido E - ou E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico com NaOH para formar ácido E - ou E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico; fazer reagir ácido E - ou E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico; fazer reagir ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico com NaBH₄ para formar ácido obeticólico cristalino, e converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[009] A presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de fazer reagir ácido 3α -hidroxi -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico com CH₃OH e H₂SO₄ para formar éster metílico de ácido 3α -hidroxi -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico; fazer reagir éster metílico de ácido 3α -hidroxi -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico com Li[N(CH(CH₃)₂)₂] e Si(CH₃)₃Cl para formar éster metílico de ácido $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi - 5β -col -6 -en -24 -óico; fazer reagir éster metílico de ácido $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi - 5β -col -6 -en -24 -óico com CH₃CHO para formar éster metílico de ácido E - ou E/Z -

3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico; fazer reagir éster metílico de ácido E - ou E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico com NaOH para formar ácido E - ou E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico; fazer reagir ácido E - ou E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico; fazer reagir ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico com NaBH₄ para formar ácido obeticólico cristalino, e converter o ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[0010] A presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, em que converter a Forma C de ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico compreende a etapa de dissolver a Forma C de ácido obeticólico cristalino em solução aquosa de NaOH e adicionar HCl.

[0011] A presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, em que fazer reagir ácido 3 α -hidroxi-6 α -etil-7-ceto-5 β -olan-24-óico com NaBH₄ para formar ácido obeticólico cristalino é realizado sob uma temperatura de cerca de 85°C até cerca de 110°C em uma solução de base aquosa.

[0012] A presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, em que fazer reagir ácido E- ou E/Z-3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3 α -hidroxi-6 α -etil-7-ceto-5 β -olan-24-óico é realizado sob uma temperatura de cerca de 100°C até cerca de 105°C e sob uma pressão de cerca de 4 até cerca de 5 bars.

[0013] A presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, em que fazer reagir éster metílico de ácido E- ou E/Z-3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico com NaOH para formar ácido E- ou E/Z-3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico é realizado sob uma temperatura de cerca de 20°C até

cerca de 60°C.

[0014] A presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, em que fazer reagir éster metílico de ácido $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi- 5β -col-6-en-24-óico com CH_3CHO para formar éster metílico de ácido E- ou E/Z- 3α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto- 5β -colan-24-óico é realizado em um solvente polar aprótico sob uma temperatura de cerca de -50°C até cerca de -70°C na presença de BF_3 ,

[0015] A presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, em que fazer reagir éster metílico de ácido 3α -hidroxi-7-ceto- 5β -colan-24-óico com $\text{Li}[\text{N}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)_2]$ e $\text{Si}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ para formar éster metílico de ácido $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi- 5β -col-6-en-24-óico é realizado em um solvente polar aprótico sob uma temperatura de cerca de -10°C até cerca de -30°C.

[0016] A presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, em que fazer reagir ácido 3α -hidroxi-7-ceto- 5β -colan-24-óico com CH_3OH e H_2SO_4 para formar éster metílico de ácido 3α -hidroxi-7-ceto- 5β -colan-24-óico é aquecida durante cerca de 3 horas e o pH da mistura de reação é ajustado com uma solução básica aquosa para um valor de pH-de cerca de 6,5 até cerca de 8,0,

[0017] A presente invenção refere-se a um ácido obeticólico, ou um sal, solvato ou conjugado de aminoácido do mesmo farmaceuticamente aceitável, que é dotado de uma potência maior do que cerca de 98%, maior do que cerca de 98,5%, maior do que cerca de 99,0%, ou maior do que cerca de 99,5%. A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica que compreende a Forma 1 de ácido obeticólico produzida por meio de um processo da invenção e um carreador farmaceuticamente aceitável.

[0018] A presente invenção refere-se a um método de tratamento ou prevenção de uma enfermidade ou condição medida por FXR em um paciente que compreende administrar uma quantidade efetiva da

Forma 1 de ácido obeticólico. A enfermidade ou condição é selecionada a partir de atresia biliar, enfermidade colestática do fígado, enfermidade crônica do fígado, esteato-hepatite não alcoólica (NASH), infecção por hepatite C, enfermidade alcoólica do fígado, cirrose biliar primária (PBC), lesão hepática devida à fibrose progressiva, fibrose hepática, e enfermidades cardiovaseulares incluindo aterosclerose, arteriosclerose, hipercolesterêmica, e hiperlipidemia. A presente invenção refere-se a um método para reduzir os triglicéridas em um paciente que compreende administrar uma quantidade efetiva da Forma 1 de ácido obeticólico.

Descrição Breve dos Desenhos

[0019] A Figura 1 é um cromatograma de HPLC-UV/MS do composto bruto 5 da etapa 4 do Exemplo 1 injetado sob 1 mg/ml, volume de injeção 3 μ l. O cromatograma é obtido de acordo com o método descrito no Exemplo 2,

[0020] A Figura 2 é um cromatograma de HPLC-UV/MS do composto 5 da etapa 4 do Exemplo 1, referência purificada injetada a 1 mg / ml, volume de injeção 20 μ l. O cromatograma é obtido de acordo com o método descrito no Exemplo 2,

[0021] A Figura 3 é um cromatograma de UV do composto bruto 5 da etapa 4 do Exemplo 1 utilizando-se o método de HPLC. O cromatograma é obtido de acordo com o método descrito no Exemplo 2,

[0022] A Figura 4A é um rastreamento preciso de ions de m/z 850,61914 \pm 3 ppm a partir da fração de pico principal (RT 29,0 min.) do composto 5 da etapa 4 do Exemplo 1, puramente isolado com o método de HPLC (vide Exemplo 2).

[0023] A Figura 4B é um rastreamento preciso de ions de m/z 850,61914 \pm 3 ppm a partir da fração de pico menor (RT 29,9 min.) do composto 5 da etapa 4 do Exemplo 1, puramente isolado com o

método de HPLC (vide Exemplo 2).

[0024] A Figura 4C é um rastreamento preciso de ions de m/z 850,61914 \pm 3 ppm a partir do composto bruto 5 da etapa 4 do Exemplo 1 (vide Exemplo 2).

[0025] A Figura 4D é um rastreamento preciso de ions de m/z 850,61914 \pm 3 ppm a partir do composto 5 da etapa 4 do Exemplo 1, referência purificada (vide Exemplo 2).

[0026] A Figura 5 é um difratograma de XRPD da Forma C de ácido obeticólico cristalino (vide Exemplo 3).

[0027] A Figura 6 mostra Termogramas de TGA e DSC da Forma C de ácido obeticólico cristalino (vide Exemplo 3).

[0028] A Figura 7 mostra difratogramas de VT-XRPD de ácido obeticólico cristalino sob 25°C, 110°C, e 120°C (vide Exemplo 3).

[0029] A Figura 8A é um traçado isotérmico de GVS da Forma C de ácido obeticólico cristalino (vide Exemplo 3).

[0030] A Figura 8B é um traçado cinético de GVS da Forma C de ácido obeticólico cristalino (vide Exemplo 3).

[0031] A Figura 8C mostra difratogramas de XRPD da Forma C de ácido obeticólico cristalino antes e depois de análise de GVS (vide Exemplo 3).

[0032] A Figura 9 mostra difratogramas de XRPD da Forma C de ácido obeticólico cristalino antes e depois de armazenamento sob 40°C / 75% RH (vide Exemplo 3).

[0033] A Figura 10 é um difratograma de XRPD do lote 1 da Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0034] A Figura 11 mostra os difratogramas de XRPD para os lotes 1, 2, 3, 4, 5 e 6 da Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0035] A Figura 12 é um espectro de NMR do lote 1 da Forma 1 de ácido obeticólico em *d*₆-DMSO (vide Exemplo 5).

[0036] A Figura 13 mostra os expectros de ¹H NMR para os lotes

1, 2, 3, 4, 5 e 6 da Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0037] A Figura 14 é uma expansão do espectro de ^{13}C DEPTQ NMR da Forma 1 de ácido obeticólico a partir da região 10-75 ppm (vide Exemplo 5).

[0038] A Figura 15 é uma expansão do espectro de ^{13}C DEPT135 NMR da Forma 1 de ácido obeticólico suprimindo os carbonos quaternários a partir de região 0-75 ppm (vide Exemplo 5).

[0039] A Figura 16 é um ^{13}C NMR quantitativo da Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0040] A Figura 17 é uma vista expandida dos picos na 32,3 ppm da Figura 16 (vide Exemplo 5).

[0041] A Figura 18 é um espevtro de FT-IR do lote 1 da Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0042] A Figura 19 mostra os termogramas de TGA e DSC do lote 1 da Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0043] A Figura 20 mostra os termogramas de DSC modulados do 1 da Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0044] A Figura 21 mostra os traçados de TGA dos lotes 1, 2, 3, 4, 5, e 6 da Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0045] A Figura 22 mostra os traçados de DSC dos lotes 1, 2, 3, 4, 5, e 6 da Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0046] A Figura 23A é uma imagem de lote da Forma 1 de ácido obeticólico sob microscopia de luz polarizada. A Figura 23B é uma imagem do lote 2 da Forma 1 de ácido obeticólico sob microscopia de luz polarizada. A Figura 23C é uma imagem do lote 3 da Forma 1 de ácido obeticólico sob microscopia de luz polarizada. A Figura 23D é uma imagem do lote 4 de a Forma 1 de ácido obeticólico sob microscopia de luz polarizada. A Figura 23E é uma imagem do lote 5 da Forma 1 de ácido obeticólico sob microscopia de luz polarizada. A Figura 23F é uma imagem do lote 6 da Forma 1 de ácido obeticólico

sob microscopia de luz polarizada.

[0047] A Figura 24 mostra o traçado de isoterma de GVS do lote 1 da Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0048] A Figura 25 mostra o traçado da cinética de GVS do lote 1 da Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0049] A Figura 26 mostra difratogramas de XRPD do lote 1 da Forma 1 de ácido obeticólico antes e depois de GVS (vide Exemplo 5).

[0050] A Figura 27 é um gráfico da medição de pKa em três relações de metanol água diferentes para a Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0051] A Figura 28 é um traçado de Yasuda-Shedlovsky para a Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0052] A Figura 29 é um gráfico que mostra a distribuição das espécies na dependência do pH para a Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0053] A Figura 30 é um gráfico que mostra a curva de diferença obtida por potenciometria para a Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0054] A Figura 31 mostra o perfil de lipofilicidade da Forma 1 de ácido obeticólico (vide Exemplo 5).

[0055] A Figura 32 mostra os difractromas do lote 1 da Forma 1 de ácido obeticólico depois de armazenamento sob 40°C / 75% RH (vide Exemplo 5).

[0056] A Figura 33 mostra os difratogramas de XRPD do lote 1 da Forma 1 de ácido obeticólico depois de armazenamento sob 25°C / 97% RH (vide Exemplo 5).

[0057] A Figura 34 mostra uma vista da molécula da Forma C de ácido obeticólico a partir da estrutura de cristal mostrando elipsóides de deslocamento atômico anisotrópico para os átomos não de-hidrogênio sob o nível de probabilidade de 50% (vide Exemplo 6).

[0058] A Figura 35 mostra uma vista das ligações de hidrogênio intermoleculares da estrutura de cristal da Forma G de ácido obeticólico onde as ligações de hidrogênio estão ilustradas em linhas tracejadas (vide Exemplo 6).

[0059] A Figura 36 mostra uma sobreposição de XRPD do padrão de pó simulado, padrões experimentais do cristal coletado, e Forma G de ácido obeticólico (vide Exemplo 6).

[0060] A Figura 37 mostra um gráfico do perfil de ácido obeticólico de plasma vs. tempo depois de administração oral de 20 mg/kg da Forma 1 de ácido obeticólico e Forma F cristalina (vide Exemplo 7).

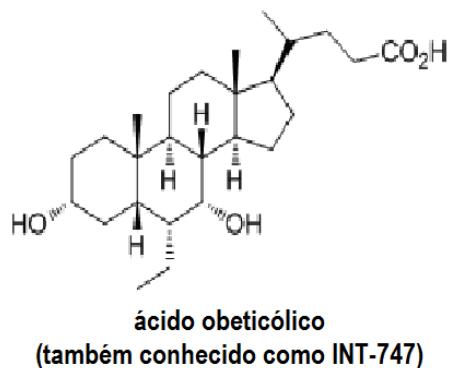
[0061] A Figura 38 mostra um gráfico da concentração de plasma do conjugado tauro da Forma 1 de ácido obeticólico e Forma F cristalina sob intervalo de tempo diferente depois da administração (vide Exemplo 7).

[0062] A Figura 39 mostra a curva de DSC da Form 1 (vide Exemplo 7).

[0063] A Figura 40 mostra a curva de DSC da Form F (vide Exemplo 7)

Descrição Detalhada da Invenção

[0064] O presente pedido é direcionado ao ácido obeticólico, um ingrediente farmaceuticamente ativo (também conhecido como INT-747) que é dotado da estrutura química:

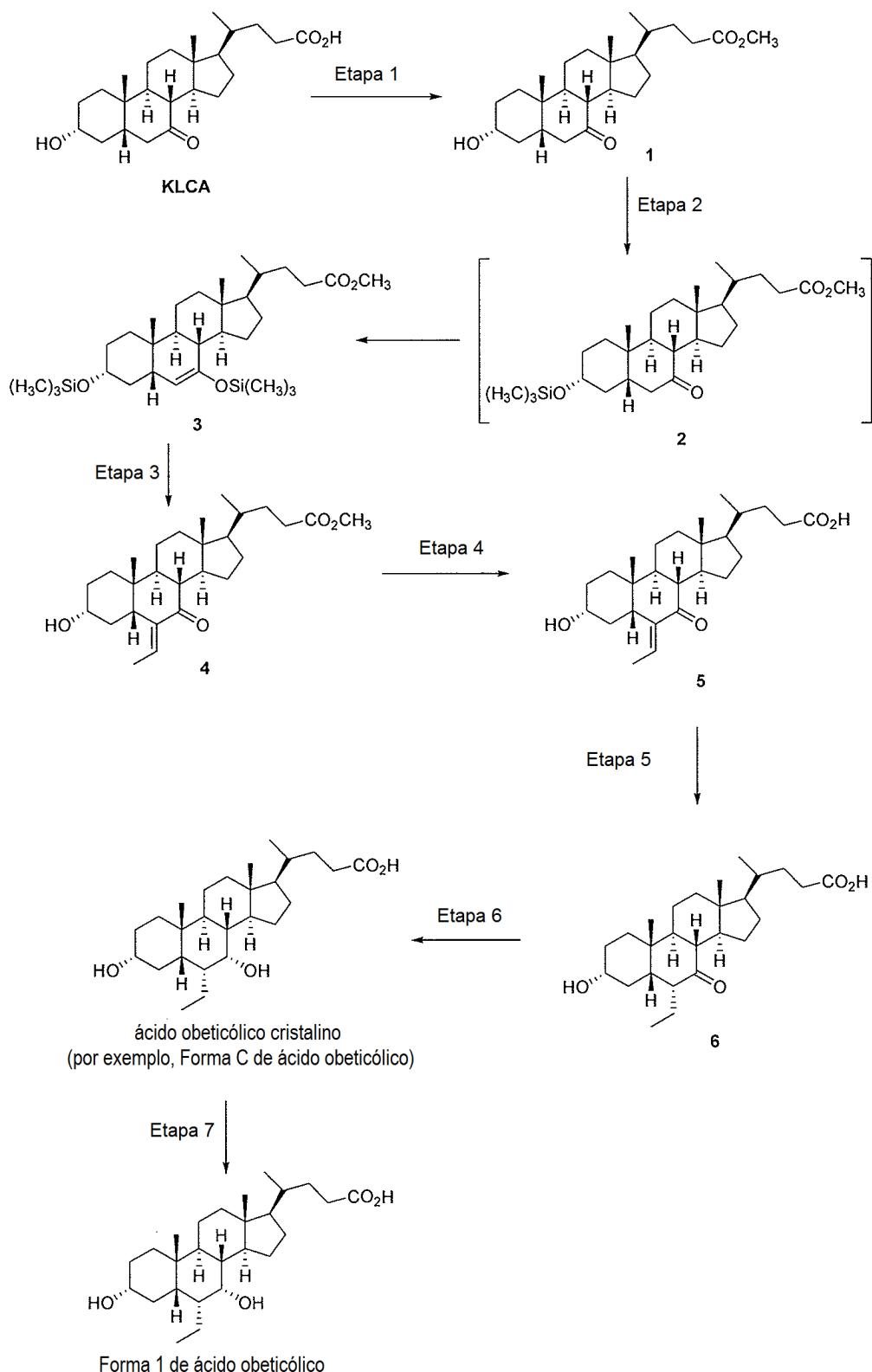


[0065] Incluindo ácido obeticólico substancialmente puro, um

processo para a preparação de ácido obeticólico que compreende ácido obeticólico cristalino na forma de um intermediário sintético, e métodos analíticos para confirmarem a presença e a pureza do ácido obeticólico e intermediários sintéticos no processo para preparar ácido obeticólico. O presente pedido também descreve composições farmacêuticas e formulações de ácido obeticólico e utilizações para essas composições.

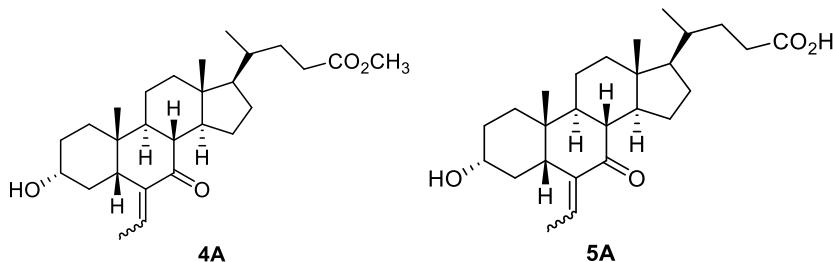
Processo para preparar ácido obeticólico

[0066] O presente pedido refere-se a um processo para preparar ácido obeticólico de alta pureza. O processo do presente pedido está ilustrado no Esquema 1. O processo é uma síntese de 6 etapas, seguidas por uma etapa de purificação para produzir ácido obeticólico de elevado grau de pureza.

Esquema 1

[0067] O processo da presente invenção também inclui um processo de acordo com o Esquema 1 onde os compostos 4 e 5 são

cada um deles compreendidos de uma mistura dos isômeros E e Z conforme ilustrados pelas estruturas dos compostos 4A e 5A em sequida:



[0068] De acordo com uma concretização, a relação E / Z do isômero éster metílico de ácido E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (4A) é cerca de 50%, maior do que cerca de 60%, maior do que cerca de 70%, maior do que cerca de 80%, maior do que cerca de 83%, maior do que cerca de 85%, maior do que cerca de 90%, maior do que cerca de 93%, maior do que cerca de 95%, ou maior do que cerca de 99%. De acordo com uma concretização, a relação E/Z é determinada por meio de HPLC. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 80%. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 83%. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 85%. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 90%. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 93%. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 95%. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 99%.

[0069] De acordo com uma concretização, a relação de isômeros E/Z de ácido E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (5A) é cerca de 50%, maior do que cerca de 60%, maior do que cerca de 70%, maior do que cerca de 80%, maior do que cerca de 83%, maior do que cerca de 85%, maior do que cerca de 90%, maior do que cerca de 93%, maior do que cerca de 95%, ou maior do que cerca de

99%. De acordo com uma concretização, a relação de E/Z é determinada por meio de HPLC. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 80%. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 83%. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 85%. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 90%. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 93%. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 95%. De acordo com uma concretização, a relação é maior do que cerca de 99%.

[0070] O processo do presente pedido nunca foi relatado na técnica. O processo é compreendido por uma síntese de 6-etapas seguida por uma etapa de purificação. A etapa 1 é a esterificação do ácido carboxílico C-24 do ácido 7-ceto litocólico (KLCA) utilizando-se metanol na presença de catálise ácida e calor para produzir o composto éster metílico 1, A etapa 2 é a formação de éter de silileno a partir do composto 1 utilizando-se uma base forte seguida por tratamento com clorossilano para produzir o composto 3, A etapa 3 é uma reação de condensação de aldol do composto de éter de silileno 3 e acetaldeído para produzir o composto 4 (ou composto 4A). A etapa 4 é a hidrólise de éster, ou seja, saponificação do éster metílico C-24 do composto 4 (ou composto 4A) para produzir o composto de ácido carboxílico 5 (ou composto 5A). A etapa 5 é a hidrogenação da porção de 6-etylideno do composto 5 (ou composto 5A) seguida por isomerização para produzir o composto 6, A etapa 6 é a redução seletiva do grupo ceto 7-do composto 6 para um grupo hidroxila 7 α para produzir ácido obeticólico cristalino. A etapa 7 é a conversão do ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[0071] O processo da presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, onde o processo utiliza

uma forma cristalina do ácido obeticólico como um intermediário sintético.

[0072] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende a etapa de converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[0073] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de

[0074] fazer reagir ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (6) com NaBH_4 para formar ácido obeticólico cristalino, e

[0075] converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[0076] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de

[0077] fazer reagir ácido E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (5A) com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico acid (6),

[0078] fazer reagir ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (6) com NaBH_4 para formar ácido obeticólico cristalino, e

[0079] converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[0080] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de

[0081] fazer reagir ácido E - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (5) com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (6),

[0082] fazer reagir ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -colan -24

-óico (6) com NaBH₄ para formar ácido obeticólico cristalino, e
[0083] converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[0084] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de

[0085] fazer reagir éster metílico de ácido E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (4A) com NaOH para formar ácido E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (5A),

[0086] fazer reagir ácido E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (5A) com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (6),

[0087] fazer reagir ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (6) com NaBH₄ para formar ácido obeticólico cristalino, e

[0088] converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[0089] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de

[0090] fazer reagir éster metílico de ácido E -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (4) com NaOH para formar ácido E -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (5),

[0091] fazer reagir ácido E -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (5) com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (6),

[0092] fazer reagir 3 α -ácido hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (6) com NaBH₄ para formar ácido obeticólico cristalino, e

[0093] converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[0094] De acordo com uma concretização, a presente invenção

refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de

[0095] fazer reagir éster metílico de ácido $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi - 5β -col -6 -en -24 -óico (3) com CH_3CHO para formar éster metílico de ácido E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (4A),

[0096] fazer reagir éster metílico de ácido E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (4A) com NaOH para formar ácido E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (5A),

[0097] fazer reagir ácido E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico acid (5A) com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (6),

[0098] fazer reagir ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (6) com NaBH_4 para formar ácido obeticólico cristalino, e

[0099] converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[00100] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de

[00101] fazer reagir éster metílico de ácido $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi - 5β -col -6 -en -24 -óico (3) com CH_3CHO para formar éster metílico de ácido E - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (4),

[00102] fazer reagir éster metílico de ácido E - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (4) com NaOH para formar ácido E - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (5),

[00103] fazer reagir ácido E - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (5) com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (6),

[00104] fazer reagir ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (6) com NaBH_4 para formar ácido obeticólico cristalino, e

[00105] converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[00106] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de

[00107] fazer reagir éster metílico de ácido 3α -hidroxi -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (1) com $\text{Li}[\text{N}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)_2]$ e $\text{Si}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ para formar éster metílico de ácido $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi - 5β -col -6 -en -24 -óico (3),

[00108] fazer reagir éster metílico de ácido $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi - 5β -col -6 -en -24 -óico (3) com CH_3CHO para formar éster metílico de ácido E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (4A),

[00109] fazer reagir éster metílico de ácido E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (4A) com NaOH para formar ácido E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (5A),

[00110] fazer reagir ácido E/Z - 3α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (5A) com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (6),

[00111] fazer reagir ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (6) com NaBH_4 para formar ácido obeticólico cristalino, e

[00112] converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[00113] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de

[00114] fazer reagir éster metílico de ácido 3α -hidroxi -7 -ceto - 5β -colan -24 -óico (1) com $\text{Li}[\text{N}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)_2]$ e éster metílico de ácido $\text{Si}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ para formar $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi - 5β -col -6 -en -24 -óico (3),

[00115] fazer reagir éster metílico de ácido $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi - 5β

-col -6 -en -24 -óico (3) com CH₃CHO para formar éster metílico de ácido E -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (4),

[00116] fazer reagir éster metílico de ácido E -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (4) com NaOH para formar ácido E -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (5),

[00117] fazer reagir ácido E -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (5) com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico acid (6),

[00118] fazer reagir ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (6) com NaBH₄ para formar ácido obeticólico cristalino, e

[00119] converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.

[00120] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de

[00121] fazer reagir ácido 3 α -hidroxi -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (KLCA) com CH₃OH e H₂SO₄ para formar éster metílico de ácido 3 α -hidroxi -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (1).

[00122] fazer reagir éster metílico de ácido 3 α -hidroxi -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (1) com Li[N(CH(CH₃)₂)₂] e Si(CH₃)₃Cl para formar éster metílico de ácido 3 α ,7 -ditrimetilsililoxi -5 β -col -6 -en -24 -óico (3),

[00123] fazer reagir éster metílico de ácido 3 α ,7 -ditrimetilsililoxi -5 β -col -6 -en -24 -óico (3) com CH₃CHO para formar éster metílico de ácido E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (4A),

[00124] fazer reagir éster metílico de ácido E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (4A) com NaOH para formar ácido E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (5A),

[00125] fazer reagir ácido E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (5A) com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido

- 3 α -hidroxi -6 α -etyl -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (6),
- [00126] fazer reagir ácido 3 α -hidroxi -6 α -etyl -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (6) com NaBH₄ para formar ácido obeticólico cristalino, e
- [00127] converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.
- [00128] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere -se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico, que compreende as etapas de
- [00129] fazer reagir ácido 3 α -hidroxi -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (KLCA) com CH₃OH e H₂SO₄ para formar éster metílico de ácido 3 α -hidroxi -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (1).
- [00130] fazer reagir éster metílico de ácido 3 α -hidroxi -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (1) com Li[N(CH(CH₃)₂)₂] e Si(CH₃)₃Cl para formar éster metílico de ácido 3 α ,7 -ditrimetilsiloxi -5 β -col -6 -en -24 -óico (3),
- [00131] fazer reagir éster metílico de ácido 3 α ,7 -ditrimetilsiloxi -5 β -col -6 -en -24 -óico (3) com CH₃CHO para formar éster metílico de ácido E -3 α -hidroxi -6 -etylideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (4),
- [00132] fazer reagir éster metílico de ácido E -3 α -hidroxi -6 -etylideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (4) com NaOH para formar ácido E -3 α -hidroxi -6 -etylideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (5),
- [00133] fazer reagir ácido E -3 α -hidroxi -6 -etylideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (5) com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3 α -hidroxi -6 α -etyl -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (6),
- [00134] fazer reagir ácido 3 α -hidroxi -6 α -etyl -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (6) com NaBH₄ para formar ácido obeticólico cristalino, e
- [00135] converter ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico.
- [00136] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a um processo para preparar a Forma 1 de ácido obeticólico

utilizando-se ácido obeticólico cristalino. De acordo com outra concretização, o ácido obeticólico cristalino é a Forma C. De acordo com uma concretização, a Forma C de ácido obeticólico cristalino é caracterizada por um padrão de difração aos raios-X similar àquela exposta na Figura 5. De acordo com uma concretização, a Forma C de ácido obeticólico cristalino é cristalizada e recristalizada a partir de acetato n-butílico.

Etapa 1

[00137] A etapa 1 é compreendida pela reação de ácido 3α -hidroxi-7-ceto- 5β -olan-24-óico (KLCA) com CH_3OH e H_2SO_4 para formar éster metílico de ácido 3α -hidroxi-7-ceto- 5β -olan-24-óico (1). De acordo com uma concretização da etapa 1, a mistura de reação é aquecida durante cerca de 3 horas e o pH da mistura de reação é ajustado com uma solução de base aquosa para um valor de pH-de cerca de 6,5 até cerca de 8,0. De acordo com uma concretização, o isolamento de éster metílico de ácido 3α -hidroxi-7-ceto- 5β -olan-24-óico (1) compreende ainda tratamento com carbono ativado. De acordo com uma concretização, o isolamento de éster metílico de ácido 3α -hidroxi-7-ceto- 5β -olan-24-óico (1) não compreende outro tratamento com carbono ativado. De acordo com uma concretização, o isolamento de éster metílico de ácido 3α -hidroxi-7-ceto- 5β -olan-24-óico (1) sem tratamento com carbono ativado proporciona um rendimento mais alto. De acordo com uma concretização, fazer reagir ácido 3α -hidroxi-7-ceto- 5β -olan-24-óico (1) com CH_3OH e H_2SO_4 é realizado em metanol. De acordo com uma concretização, a solução básica é uma solução de NaOH . De acordo com uma concretização, o valor do pH- é cerca de 7,0 até cerca de 7,5,

[00138] De acordo com uma concretização, o álcool metílico funciona como o reagente de metilação da mesma forma que como o solvente de reação. De acordo com uma concretização, a solução que

contém o produto é tratada com carbono ativado durante cerca de 30 minutos e filtrada para se removerem os sólidos de carbono. De acordo com uma concretização, a solução que contém o produto não é tratada com carbono ativado. Para se precipitar o produto, adicionam-se água a cerca de 5°C até cerca de 20°C e material de semeadura. De acordo com outra concretização, a água encontra-se a cerca de 10°C até cerca de 15°C. De acordo com uma concretização, o produto é isolado com uma centrífuga e lavado com uma mistura de metanol e água. De acordo com uma concretização, o teor de águado material úmido é quantificado por meio de Karl Fischer (KF). De acordo com uma concretização, o material é submetido a secagem em uma secadora de tambor antes de ser usado na etapa seguinte. De acordo com uma concretização, o material não é submetido a secagem antes do uso na etapa seguinte.

Etapa 2

[00139] A etapa 2 é a reação de éster metílico de ácido 3α -hidroxi-7-ceto- 5β -olan-24-óico (1) com $\text{Li}[\text{N}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)_2]$ e $\text{Si}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ para se formar éster metílico de ácido $3\alpha,7$ -ditrimetilsiloxi- 5β -col-6-en-24-óico (3). De acordo com uma concretização, a etapa 2 é realizada em um solvente polar aprótico sob uma temperatura desde cerca de -10°C até cerca de -30°C. De acordo com uma concretização, o solvente polar aprótico é compreendido por tetraidrofurano. De acordo com uma concretização, a temperatura é cerca de -20°C até cerca de -25°C. De acordo com uma concretização, faz-se reagir éster metílico de ácido 3α -hidroxi-7-ceto- 5β -olan-24-óico (1) com $\text{Li}[\text{N}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)_2]$ e $\text{Si}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ é submetido a agitação durante cerca de 2 horas.

[00140] De acordo com uma concretização, o composto 1 é carregado em um reator sob condições inertes. De acordo com outra concretização, água residual e metanol são removidos por meio de destilação azeotrópica repetida sob cerca de 65°C e pressão normal.

De acordo com outra concretização, THF é adicionado ao resíduo conforme necessário e a destilação é repetida cerca de 4 vezes. De acordo com outra concretização, a destilação é repetida cerca de 3 vezes, cerca de 2 vezes, ou cerca de 1 vez. De acordo com uma concretização, a solução remanescente que contém o produto é dotada de um teor de água final de $\leq 0,05\%$ (Karl Fischer Titration). A água pode hidrolizar clorotrimetilsilano, que é adicionado posteriormente nesta etapa. De acordo com uma concretização, a solução do produto é pre-refrigerada para cerca de -10°C até cerca de -30°C e então clorotrimetilsilano é adicionado. De acordo com outra concretização, a solução é pre-refrigerada desde cerca de -20°C até cerca de -25°C . De acordo com uma concretização, uma base forte e THF são carregados para um reator separado e refrigerada para cerca de -10°C até cerca de -30°C . De acordo com uma concretização, a base forte é diisopropilamida de lítio. De acordo com outra concretização, o reator é inerte, *por exemplo*, sob uma atmosfera de nitrogênio ou argônio. De acordo com outra concretização, uma solução de base e THF é refrigerada para cerca de -20°C até cerca de -25°C . De acordo com uma concretização, a solução refrigerada, anidra, de éster metílico de ácido 3 α -hidroxi-7-ceto-5 β -olan-24-óico, THF, e clorotrimetilsilano é carregada na solução básica sob cerca de -10°C até cerca de -30°C . De acordo com outra concretização, a temperatura é cerca de -20°C até cerca de -25°C . De acordo com uma concretização, a mistura de reação é submetida a agitação durante cerca de 2 horas. De acordo com uma concretização, para o processamento, a mistura de reação é adicionada a uma solução ácida previamente refrigerada. De acordo com outra concretização, a solução ácida é uma solução aquosa de ácido cítrico. De acordo com uma concretização, depois da adição, a fase aquosa é separada e descartada. De acordo com uma concretização, o solvente é removido

da fase orgânica, por meio de destilação a vácuo sob cerca de 50°C. De acordo com uma concretização, o resíduo isolado é compreendido por éster metílico de ácido 3 α ,7 α -ditrimetilsiloxi-5 β -col-6-en-24-óico (3) que é usado “como é” na etapa seguinte. De uma forma alternativa, o composto 3 pode ser purificado antes da etapa 3,

Etapa 3

[00141] A etapa 3 é a reação de éster metílico de ácido 3 α ,7 - ditrimetilsiloxi -5 β -col -6 -en -24 -óico (3) com CH₃CHO para formar éster metílico de ácido 3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (4). De acordo com uma concretização, a etapa 3 é realizada em um solvente polar aprótico sob uma temperatura desde cerca de -50°C até cerca de -70°C na presença de BF₃. De acordo com uma concretização, o solvente polar aprótico é diclorometano. De acordo com uma concretização, o BF₃ é uma solução de 16%, em peso, em acetonitrila. De acordo com uma concretização, a temperatura é cerca de -60°C até cerca de -65°C.

[00142] De acordo com uma concretização, o composto 3 em um solvente polar aprótico é carregado em um reator inerte. De acordo com outra concretização, o solvente polar aprótico é o solvente residual proveniente da etapa anterior (por exemplo, THF). De acordo com uma concretização, adiciona-se THF para ajudar a destilar água residual e diisopropilamina. Sob uma temperatura maxima de cerca de 50°C, quantidades residuais do solvente polar aprótico são destiladas sob vácuo. o teor de água no resíduo que contém composto 3 é limitado a $\leq 0,5\%$ (titulação de Karl Fischer). O resíduo que contém o composto 3 é então dissolvido em um solvente polar aprótico e pré-refrigerado para cerca de -50°C até cerca de -70°C. O solvente polar aprótico é compreendido por diclorometano. De acordo com outra concretização, o resíduo que contém o composto 3 no solvente polar aprótico é pré-refrigerado para cerca de -60°C até cerca

de -65°C. Acetaldeído (CH_3CHO) é adicionado. Um solvente polar aprótico e complexo solvatado de trifluoreto de boro (BF_3) são carregados em um reator separado e então refrigerada para cerca de -50°C até cerca de -70°C. De acordo com outra concretização, o solvente polar aprótico é diclorometano. De acordo com outra concretização, o complexo solvatado de trifluoreto de boro é compreendido por um complexo de acetonitrila trifluoreto de boro. A temperatura da solução de BF_3 é cerca de -60°C até cerca de -65°C. A solução que contém o composto 3 e acetaldeído é adicionada à solução de BF_3 sob cerca de -60°C até cerca de -65°C. De acordo com outra concretização, a solução que contém composto 3 e acetaldeído é anídrica. De acordo com uma concretização, a mistura de reação é submetida a agitação durante cerca de duas horas sob cerca de -60°C até cerca de -65°C, aquecida para cerca de 23°C até cerca de 28°C, submetida a agitação durante cerca de outras 2 horas e refrigerada para cerca de 2°C até cerca de 10°C para a hidrólise / processamento. De acordo com uma concretização, o tempo total para adição e agitação é de cerca de 4 horas. De acordo com uma concretização, para o processamento, a solução refrigerada proveniente do reator é adicionada a uma solução básica aquosa previamente refrigerada. De acordo com outra concretização, a solução básica aquosa é cerca de 50%, em peso, de hidróxido de sódio (NaOH ; soda cáustica). De acordo com uma concretização, as fases são separadas e a camada orgânica (inferior) é transferida para um reator separado. De acordo com uma concretização, a partir da camada orgânica, o solvente é removido por meio de destilação sob não mais do que (NMT) 50°C na medida do possível. De acordo com uma concretização, o resíduo compreende éster metílico de ácido 3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico (4) e algum acetonitrila remanescente e diclorometano. Deve ser compreendido que a etapa 4

pode formar éster metílico de ácido E/Z-3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico (4A). O produto da etapa 3 é recolhido diretamente para a etapa 4,

Etapa 4

[00143] A etapa 4 é compreendida pela reação de éster metílico de ácido 3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico (4) com NaOH para formar ácido E-3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico (5). De acordo com uma concretização, antes da etapa 4, o redíduo proveniente da etapa 3 é aquecida para cerca de 45°C até cerca de 60°C para se removerem quantidades residuais de solvente. De acordo com uma concretização, a temperatura é cerca de 49°C até cerca de 55°C. De acordo com uma concretização, a reação de hidrólise de éster para fazer reagir éster metílico de ácido 3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico (4) com NaOH é realizada sob cerca de 20°C até cerca de 25°C em metanol, água, e uma solução de NaOH.

[00144] De acordo com uma concretização, faz-se reagir éster metílico de ácido 3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico (4) em um reator. De acordo com outra concretização, o reator é inerte, *por exemplo*, sob uma atmosfera de nitrogênio ou argônio. Sob uma temperatura de NMT 50°C, quantidades esiduais de solvente são destiladas sob vácuo. De acordo com uma concretização, o resíduo é aquecido desde cerca de 45°C até cerca de 60°C. De acordo com outra concretização, o resíduo é aquecido desde cerca de 49°C até cerca de 55°C. De acordo com outra concretização, o resíduo proveniente da etapa 3 (composto 4) é dissolvido em metanol e água e uma solução básica aquosa. De acordo com outra concretização, a solução básica aquosa é cerca de 50%, em peso, de hidróxido de sódio (NaOH; soda cáustica). A reacção de hidrólise de éster da etapa 4 é realizada sob cerca de 20°C até cerca de 60°C e submetida a

agitação até a reação de hidrólise estar completa. De acordo com uma concretização, a hidrólise de éster é realizada sob cerca de 20°C até cerca de 25°C. O pH da mistura de reação é verificado para saber se o mesmo é > 12, Se o pH for < 12, então NaOH suplementar é adicionado. A mistura de reação é diluída com água e a temperatura é ajustada desde cerca de 20°C até cerca de 35°C. De avordo com outro aspecto, a mistura de reação é diluída com água e a temperature é ajustada para cerca de 25°C até cerca de 35°C. De acordo com uma concretização, para o processamento, as fases são separadas e a camada aquosa inferior é transferida para um reator separado e a camada orgânica é descartada. O composto 5 está na fase aquosa. De acordo com uma concretização, acetato de etila e um ácido foram adicionados à fase aquosa que contém o composto 5 com agitação intensa para a fase aquosa. De acordo com outra concretização, o ácido é compreendido por uma solução aquosa de ácido cítrico. De acordo com uma concretização, as fases são separadas e a camada aquosa inferior é descartada. O composto 5 está na fase orgânica. De acordo com uma concretização, acetato de etila é destilado a partir da camada orgânica e substituído por acetato de etila. De acordo com uma concretização, a destilação é repetida até que o teor de água do destilado NMT 1% ou até ser alcançado um ponto de ebulição constante. De acordo com uma concretização, a suspensão é refrigerada para cerca de 10°C até cerca de 30°C e isolada e lavada com acetato de etila. De acordo com outra concretização, a suspensão resultante que contém o composto 5 é refrigerada para cerca de 20°C até cerca de 25°C. De acordo com uma concretização, a secagem do produto resultante é realizada sob vácuo (por exemplo, secador de tambor) sob cerca de 60°C.

[00145] De acordo com uma concretização, ácido E-3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico bruto (5) é cristalizado utilizando-se

etanol. De acordo com uma concretização, etanol e composto 5 bruto são carregados dentro do reator. De acordo com outra concretização, o reator é inerte. De acordo com uma concretização, para dissolver o composto bruto 5, a mistura é aquecida para refluxo. De acordo com uma concretização, a mistura é refrigerada em uma rampa de refrigeração controlada desde cerca de 15°C até cerca de 20°C. De acordo com uma concretização, o composto cristalino 5 é isolado utilizando-se uma centrífuga e então lavada com acetato de etila. De acordo com uma concretização, a secagem do composto cristalino 5 é realizada sob vácuo (por exemplo, secador de tambor) e sob cerca de 60°C. Uma amostra pode ser coletada para ensaio de medição, pureza, e umidade do composto purificado 5. De acordo com uma concretização, o composto purificado 5 contém os isômeros, tanto E quanto Z de ácido 3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico. De acordo com uma concretização, a relação E para Z é cerca de 99:1, cerca de 98:2, cerca de 95:5, cerca de 90:10, cerca de 85:15, cerca de 80:20, cerca de 75:25, cerca de 70:30, cerca de 65:35, cerca de 60:40, cerca de 55:45, ou cerca de 50:50. Vide Exemplo 2 para detalhes completos com relação à identificação e caracterização do composto 5 purificado.

[00146] A etapa 4 também pode ser realizada começando-se com um composto que é uma mistura de isômeros E/Z. Por exemplo, a etapa 4 é a reação de éster metílico de ácido E/Z-3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico (4A) com NaOH para formar ácido E/Z-3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico (5A). De acordo com uma concretização, antes da etapa 4, o resíduo proveniente da etapa 3 é aquecida para cerca de 45°C até cerca de 60°C para se removerem quantidades residuais de solvente. De acordo com uma concretização, a temperatura é cerca de 49°C até cerca de 55°C. De acordo com uma concretização, a hidrólise de éster reação involving

fazer reagir éster metílico de ácido E/Z-3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico (4A) com NaOH é realizada sob cerca de 20°C até cerca de 25°C em metanol, água, e uma solução de NaOH. De acordo com uma concretização, a solução de NaOH é compreendida por uma solução aquosa de 50%, em peso.

[00147] De acordo com uma concretização, a reação de éster metílico de ácido E/Z-3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico (4A) é carregada em um reator. De acordo com outra concretização, o reator é inerte, *por exemplo*, sob uma atmosfera de nitrogênio ou argônio. Sob uma temperatura de NMT 50°C, quantidades esiduais de solvente são destiladas sob vácuo. De acordo com uma concretização, o resíduo é aquecido desde cerca de 45°C até cerca de 60°C. De acordo com uma concretização, a temperatura varia desde cerca de 49°C até cerca de 55°C. De acordo com uma concretização, o resíduo proveniente da etapa 3 (composto 4A) é dissolvido em metanol e água e uma solução básica aquosa. De acordo com outra concretização, a solução básica aquosa é cerca de 50%, em peso, de hidróxido de sódio (NaOH; soda cáustica). A reação da hidrólise de éster da etapa 4 é realizada sob cerca de 20°C até cerca de 60°C e submetida a agitação até a reação da hidrólise estar completa. De acordo com uma concretização, a hidrólise de éster é realizada sob cerca de 20°C até cerca de 25°C. O pH da mistura de reação é verificada para ver se ele é > 12, Na eventualidade de o pH ser < 12, então acrescenta-se NaOH adicional. A mistura de reação é diluída com água e a temperatura é ajustadae desde cerca de 25°C até cerca de 35°C. De acordo com uma concretização, para o processamento, as fases são separadas e a camada aquosa inferior é transferida para um reator separado e a camada orgânica é descartada. O Composto 5A está na fase aquosa. De acordo com uma concretização, acetato de etila e um ácido foram adicionados à fase aquosa que contém

composto 5A com agitação intensa para a camada aquosa. De acordo com outra concretização, o ácido é compreendido por uma solução aquosa de ácido cítrico. De acordo com uma concretização, as fases são separadas e a camada aquosa inferior é descartada. O composto 5A está na camada orgânica. De acordo com uma concretização, acetato de etila é removido por destilação a partir da camada orgânica e substituído por acetato de etila. De acordo com uma concretização, a destilação é repetida até o teor de água de o destilado ser NMT 1% ou até ser alcançado um ponto de ebulição constante. De acordo com uma concretização, a suspensão é refrigerada para cerca de 10°C até cerca de 30°C e isolada e lavada com acetato de etila. De acordo com outra concretização, a suspensão resultante que contém composto 5A é refrigerada para cerca de 20°C até cerca de 25°C. De acordo com uma concretização, a secagem do produto resultante é realizada sob vácuo (por exemplo, secador de tambor) sob cerca de 60°C. O composto 5A pode ser carreado sem purificação para a etapa 5,

[00148] De acordo com uma concretização, ácido E/Z-3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico bruto (5A) é cristalizado utilizando-se etanol. De acordo com uma concretização, etanol e composto 5A bruto são carregados dentro do reator. De acordo com outra concretização, o reator é inerte. De acordo com uma concretização, para se dissolver o composto bruto 5A, a mistura é aquecida para refluxo. De acordo com uma concretização, a mistura é refrigerada em uma rampa de resfriamento controlado desde cerca de 15°C até cerca de 20°C. De acordo com uma concretização, o composto cristalino 5A é isolado utilizando-se uma centrífuga e então lavando-se com acetato de etila. De acordo com uma concretização, a secagem do composto cristalino 5A é realizada sob vácuo (por exemplo, secador de tambor) e sob cerca de 60°C. De acordo com uma concretização, o produto cristalino isolado da etapa 4 é compreendido

pelo composto 5,

Etapa 4 Alternativa

[00149] O composto 5 pode ser preparado de acordo com um método alternativo. De acordo com uma concretização, o composto 4 é carregado em um reator inerte. Sob cerca de 50°C (máximo) quantidades residuais de solvente (por exemplo, acetonitrila, diclorometano) podem ser destiladas sob vácuo. O resíduo é dissolvido em metanol e refrigerado. Água corrente e soda cáustica (50%, em peso, de NaOH) são adicionadas. De acordo com uma concretização, a mistura de reação é submetida a agitação durante cerca de quatro horas sob cerca de 20°C até cerca de 25°C. A solução é diluída com água corrente e adiciona-se tolueno. Depois de agitação, as fases são separadas e a camada aquosa inferior é transferida para dentro do reator inerte. A camada orgânica é descartada. Éster etílico do ácido acético e uma solução de ácido cítrico são adicionados durante agitação intensa à camada aquosa. As fases são separadas e a camada aquosa, inferior, é descartada. A camada orgânica é transferida para dentro do reator inerte. A partir da camada orgânica etil éster de ácido acético é destilado e substituído por etil éster de ácido acético. De acordo com uma concretização, esta operação é repetida até o teor de água de o destilado ser não mais do que cerca de 1 % ou até ser alcançado um ponto de ebulição constante. A presente suspensão é refrigerada para cerca de 20°C até cerca de 25°C, e o composto 5 é isolado e lavado com etil éster de ácido acético com a centrífuga inerte. Secagem é realizada no secador de tambor sob vácuo sob aproximadamente 60°C.

[00150] Esta etapa 4 alternativa também pode ser realizada começando-se com um composto que é uma mistura de isômeros E/Z. De acordo com uma concretização, o composto 4A é carregado dentro do reator inerte. Sob cerca de 50°C (máximo) quantidades residuais

de solvente (por exemplo, acetonitrila, diclorometano) podem ser destiladas sob vácuo. O resíduo é dissolvido em metanol e refrigerado. Água corrente e soda cáustica (50%, em peso, NaOH) são adicionadas. De acordo com uma concretização, a mistura de reação é submetida a agitação durante aproximadamente quatro horas sob cerca de 20°C até cerca de 25°C. A solução é diluída com água corrente e tolueno é adicionado. Depois de agitação, as fases são separadas e a camada aquosa inferior é transferida para o reator inerte. A camada orgânica é descartada. Éster etílico de ácido acético e uma solução de ácido cítrico são adicionados durante agitação intensa à camada aquosa. As fases são separadas e a camada aquosa inferior é descartada. A camada orgânica é transferida para dentro do reator inerte. A partir da camada orgânica éster etílico de ácido acético é destilado e substituído com éster etílico de ácido acético. De acordo com uma concretização, esta operação é repetida até o teor de água do destilado ser não mais do que cerca de 1 % ou até ser alcançado um ponto de ebulição constante. A presente suspensão é refrigerada para 20°C até 25°C, e o composto 5A é isolado e lavado com éster etílico de ácido acético com a centrífuga inerte. Secagem é realizada no secador de tambor sob vácuo e aproximadamente 60°C.

Etapa 5

[00151] A etapa 5 é compreendida pela reação de ácido E -3 α - hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico (5) com Pd/C e gás de hidrogênio para formar ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico (6). A etapa 5 pode ser realizada em uma fase (hidrogenação e isomerização em conjunto) ou em duas fases (hidrogenação seguida por isomerização). De acordo com uma concretização, a etapa 5 é realizada sob uma temperatura desde cerca de 90°C até cerca de 110°C e sob uma pressão de cerca de 4 até cerca de 5 bars. De acordo com uma concretização, durante o processamento, a fase

orgânica da mistura de reação é tratada com carbono ativado. De acordo com uma concretização, a pressão é cerca de 4,5 até cerca de 5,5 bars. De acordo com outra concretização, a pressão é cerca de 5 bars. De acordo com uma concretização, a mistura de reação de hidrogenação é deixada sob agitação durante cerca de 1 hora. De acordo com uma concretização, faz -se reagir ácido E -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico (5) com Pd/C e gás de hidrogênio é aquecida para cerca de 100°C e submetido a agitação durante um período de cerca de 2 horas até cerca de 5 horas. De acordo com uma concretização, faz-se reagir ácido E -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico (5) com Pd/C e gás de hidrogênio é aquecida para cerca de 100°C e submetido a agitação durante cerca de 3 horas.

[00152] De acordo com uma concretização, a reação de ácido E -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico (5) com Pd/C e gás de hidrogênio é realizada na presença de uma solução básica. De acordo com uma concretização, a solução básica é uma solução de 50%, em peso, hidróxido de sódio (NaOH; soda cáustica). Depois da reação de hidrogenação, a mistura de reação é aquecida para cerca de 100°C (para realizar a isomerização da posição C-6 a partir da configuração beta para a configuração alfa) e então refrigerada para cerca de 40°C até cerca de 50°C. Para o processamento, o Pd/C é filtrado. De acordo com uma concretização, ao filtrado são adicionados n-butila acetato e um ácido. De acordo com outra concretização, o ácido é ácido clorídrico (HCl). A fase aquosa é separada e descartada depois de verificação do valor do pH-para se certificar de que ele era ácido. A fase orgânica que contém o produto é tratada com carbono ativado. De acordo com uma concretização, o carbono ativado é filtrado e o filtrado resultante que contém o produto é condensado por meio de destilação e a suspensão resultante é refrigerada para cerca de 10°C até cerca de 30°C. De acordo com outra concretização, a suspensão

é refrigerada para cerca de 15°C até cerca de 20°C. A suspensão que contém composto 6 é isolada e lavada com acetato de n-butila. O composto 6 é filtrado utilizando-se um filtro de pressão. De acordo com uma concretização, secagem é realizada no filtro de pressão sob vácuo sob cerca de 80°C.

[00153] De acordo com uma concretização na etapa 5, ácido E-3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -colan-24-óico (5), água, solução de NaOH (por exemplo, 50%, em peso), e Pd/C são misturados sob cerca de 5 bar de gás de H₂ e sob uma temperatura desde cerca de 100°C até cerca de 105°C até cessar a captação de H₂. A mistura de reação é refrigerada para cerca de 40°C até cerca de 50°C e Pd/C é filtrado. Então acetato de n-butila e HCl são adicionados à solução que contém composto 6. De acordo com uma concretização, a fase aquosa é separada e descartada. A fase orgânica que contém composto 6 é tratada com carbono ativado. O carbono é removido por filtração e o filtrado é movido para outro reator onde ele é reduzido por meio de destilação, e então a suspensão é refrigerada para cerca de 5°C até cerca de 20°C. De acordo com uma concretização, o composto 6 é isolado por meio de filtração e o filtrado é submetido a secagem no filtro de pressão sob vácuo sob cerca de 80°C.

[00154] A etapa 5 também pode ser realizada começando com um composto que é uma mistura de isômeros E/Z. Por Exemplo, a etapa 5 é compreendida pela reação de ácido E/Z -3 α -hidroxi -6 -etylideno -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico (5A) com Pd/C e gás de hidrogênio e calor para formar ácido 3 α -hidroxi -6 α -etyl -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico acid (6). A etapa 5 pode ser realizada em uma fase (hidrogenação e isomerização em conjunto) ou em duas fases (hidrogenação, seguida por isomerização). De acordo com um aspecto, a etapa 5 é realizada sob uma temperatura que varia desde cerca de 90°C até cerca de 110°C e sob uma pressure que varia desde cerca de 4 até cerca de 5

bars. De acordo com uma concretização, durante o processamento, a fase orgânica da mistura de reação é tratada com carbono ativado. De acordo com uma concretização, a pressão é cerca de 4,5 até cerca de 5,5 bars. De acordo com outra concretização, a pressão é cerca de 5 bars. De acordo com uma concretização, deixa-se a mistura de reação de hidrogenação ser submetida a agitação durante cerca de 1 hora. De acordo com uma concretização, faz-se reagir ácido E/Z -3 α - hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico (5A) com Pd/C e gás de hidrogênio é aquecida para cerca de 100°C e submetido a agitação durante cerca de 2 horas até cerca de 5 horas. De acordo com uma concretização, faz-se reagir ácido E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico (5A) com Pd/C e gás de hidrogênio é aquecida para cerca de 100°C e submetido a agitação durante cerca de 3 horas.

[00155] De acordo com uma concretização, a reação de ácido E/Z -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico (5A) com Pd/C e gás de hidrogênio é realizada na presença de uma solução básica. De acordo com uma concretização, a solução básica é uma solução de 50%, em peso, de hidróxido de sódio (NaOH; soda cáustica). Depois da reação de hidrogenação, a mistura de reação é aquecida até cerca de 100°C (para realizar a isomerização da posição C-6 a partir da configuração beta para a configuração alfa) e então refrigerada para cerca de 40°C até cerca de 50°C. Para o processamento, o Pd/C é filtrado. De acordo com uma concretização, ao filtrado são adicionados acetato de n-butila e um ácido. De acordo com outra concretização, o ácido é compreendido por ácido clorídrico (HCl). A fase aquosa é separada e descartada depois de verificação do valor do pH-para se assegurar de que ele era ácido. A fase orgânica que contém o produto é tratada com carbono ativado. De acordo com uma concretização, o carbono ativado é filtrado e o filtrado resultante que contém o produto [e condensado por meio de destilação e a

suspensão resultante é refrigerada para cerca de 10°C até cerca de 30°C. De acordo com outra concretização, a suspensão é refrigerada para cerca de 15°C até cerca de 20°C. A suspensão que contém composto 6 é isolada e lavada com acetato de n-butila. O composto 6 é filtrado utilizando-se um filtro de pressão. De acordo com uma concretização, secagem é realizada no filtro de pressão sob vácuo sob cerca de 80°C.

[00156] De acordo com uma concretização na etapa 5, ácido E/Z - 3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico (5A), água, solução de NaOH (por exemplo, 50%, em peso), e Pd/C são misturados sob cerca de 5 bars de H₂ gas e sob uma temperatura desde cerca de 100°C até cerca de 105°C até cessar a captação de H₂. A mistura de reação é refrigerada para cerca de 40°C até cerca de 50°C e Pd/C é filtrado. Então, acetato de n-butila e HCl são adicionados à solução que contém o composto 6. De acordo com uma concretização, a fase aquosa é separada e descartada. A fase orgânica que contém composto 6 é tratada com carbono ativado. O carbono é filtrado e o filtrado é movido para outro reator onde ele é reduzido por meio de destilação, e então a suspensão é refrigerada para cerca de 5°C até cerca de 20°C. De acordo com uma concretização, o composto 6 é isolado por meio de filtragem e o filtrado é submetido a secagem no filtro de pressão sob vácuo a cerca de 80°C.

[00157] De acordo com outra concretização, as reações de hidrogenação / isomerização descritas anteriormente para preparar o composto 6 são realizadas em duas fases (iniciando-se a partir do composto 5 ou do composto 5A). Primeiro, a hidrogenação é realizada sob cerca de 4 até 5 bars e então segundo, a mistura de reação é aquecida para cerca de 20°C até cerca de 40°C. O aquecimento da mistura de reação isomeriza o grupo etila sob a posição 6-para a

configuração alfa desejada. A mistura de reação é aquecida para até a isomerização ser completada.

Etapa 6

[00158] A etapa 6 é compreendida pela reação de ácido 3α -hidroxi - 6α -etil -7 -ceto - 5β -olan -24 -óico (6) com NaBH_4 para formar ácido obeticólico cristalino. De acordo com uma concretização, a etapa 6 é realizada sob uma temperatura desde cerca de 85°C até cerca de 110°C em uma solução básica aquosa. De acordo com uma concretização, a temperatura é cerca de 90°C até cerca de 95°C . De acordo com uma concretização, a solução básica aquosa é uma solução aquosa de NaOH . De acordo com uma concretização, a solução básica aquosa é uma mistura de 50%, em peso, de solução de NaOH e água. De acordo com uma concretização, a mistura de reação do composto 6 e NaBH_4 foi submetida a agitação durante cerca de 3 horas até cerca de 5 hours. De acordo com outra concretização, a mistura de reação foi submetida a agitação durante cerca de 4 horas.

[00159] Para o processamento, depois de a reação estar completa, a mistura é refrigerada para cerca de 80°C e transferidaa para um reator refrigerado. De acordo com uma concretização, sob cerca de 20°C até cerca de 60°C , são adicionados acetato de n-butila e um ácido. De acordo com uma concretização, a temperatura é cerca de 40°C até cerca de 45°C . De acordo com outra concretização, o ácido é ácido cítrico. A fase aquosa é separada e descartada depois de se verificar o valor do pH para se certificar que o mesmo era ácido. A fase orgânica que contém o produto é concentrada por meio de destilação. De acordo com uma concretização, acetato de n-butila é adicionado ao resíduo e destilado outra vez. De acordo com uma concretização, acetato de n-butila é adicionado outra vez ao resíduo e então é refrigerado lentamente. De acordo com outra concretização o

resíduo é semeado sob cerca de 50°C. De acordo com outra concretização, depois de ter ocorrido cristalização, a mistura é aquecida para 52°C e então refrigerada lentamente para cerca de 15°C até cerca de 20°C. De acordo com outra concretização, o resíduo é refrigerada para cerca de 15°C até cerca de 20°C. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico resultante é lavado com acetato de n-butila. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico é isolado e lavado com acetato de n-butila (por exemplo, em um filtro de pressão). De acordo com outra concretização, o filtro de pressão é inerte. O produto cristalino é submetido a secagem sob vácuo sob cerca de 60°C. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico cristalino resultante é isolado a partir do solvente orgânico (por exemplo, heptano). Vide o Exemplo 3 para amplos detalhes com relação à identificação e caracterização da Forma C de ácido obeticólico cristalino.

Etapa 7

[00160] A etapa 7 é compreendida pela conversão da Forma C de ácido obeticólico cristalino para a Forma 1 de ácido obeticólico. De acordo com uma concretização, a etapa 7 compreende a etapa de dissolver a Forma C de ácido obeticólico cristalino em solução aquosa de NaOH e adicionar HCl.

[00161] De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico cristalino é dissolvido em solução de água e soda cáustica (50%, em peso) sob cerca de 20°C até cerca de 50°C. De acordo com uma concretização, a temperatura é cerca de 30°C até cerca de 40°C. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico cristalino é compreendido por Forma C. De acordo com uma concretização, a solução resultante da Forma C de ácido obeticólico cristalino é adicionada ao ácido diluído sob cerca de 20°C até cerca de 50°C. De acordo com outra concretização, a temperatura é cerca de 30°C até

cerca de 40°C. De acordo com outra concretização, o ácido é ácido clorídrico (por exemplo, 37%). De acordo com uma concretização, a solução de 37% de ácido clorídrico é diluída com água para menos de cerca de 1%, em volume. De acordo com uma concretização, a solução de 37% de ácido clorídrico é diluída com água até cerca de 0,7%, em volume. De acordo com uma concretização, a suspensão de produto no ácido diluído é submetida a agitação durante cerca de 30 minutos sob cerca de 20°C até cerca de 50°C. De acordo com outra concretização, a temperatura é cerca de 30°C até cerca de 40°C. De acordo com uma concretização, a Forma 1 de ácido obeticólico é isolada e lavada com água (por exemplo, no filtro de pressão) sob NMT cerca de 20°C. De acordo com uma concretização, a Forma 1 de ácido obeticólico é isolada e lavada com água (por exemplo, no filtro de pressão) sob NMT cerca de 20°C. De acordo com outra concretização, o filtro de pressão é inerte. O produto é submetido a secagem no filtro de pressão sob vácuo sob uma temperatura de NMT cerca de 50°C.

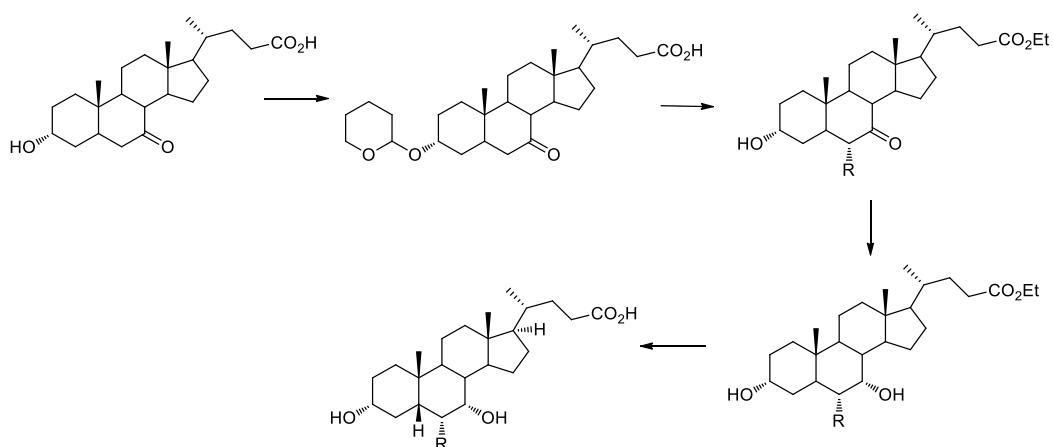
[00162] O processo do presente pedido utiliza um intermediário cristalino na preparação da Forma 1 de ácido obeticólico, que inesperadamente conduz a aperfeiçoamentos significativos na preparação geral e na pureza do produto final. Especificamente, a etapa 6 da síntese produz uma nova forma cristalina de ácido obeticólico. A produção desta forma cristalina conduz à Forma 1 de ácido obeticólico substancialmente pura.

[00163] O processo do presente pedido constitui um aperfeiçoamento sobre os processos expostos na técnica anterior. A preparação do ácido obeticólico encontra-se exposta na publicação U.S. Nº. 2009/0062526 A1 (também referida neste contexto como a “publicação ‘526”), patente U.S. Nº. 7,138,390 (referida neste contexto como a “patente ‘390”), e WO 2006/122977 (referida neste contexto

como o “pedido ‘977”).

[00164] O processo para se preparar o ácido obeticólico na patente '390 (referido neste contexto como o “processo ‘390”) encontra-se ilustrado no Esquema 3 (R é etila):

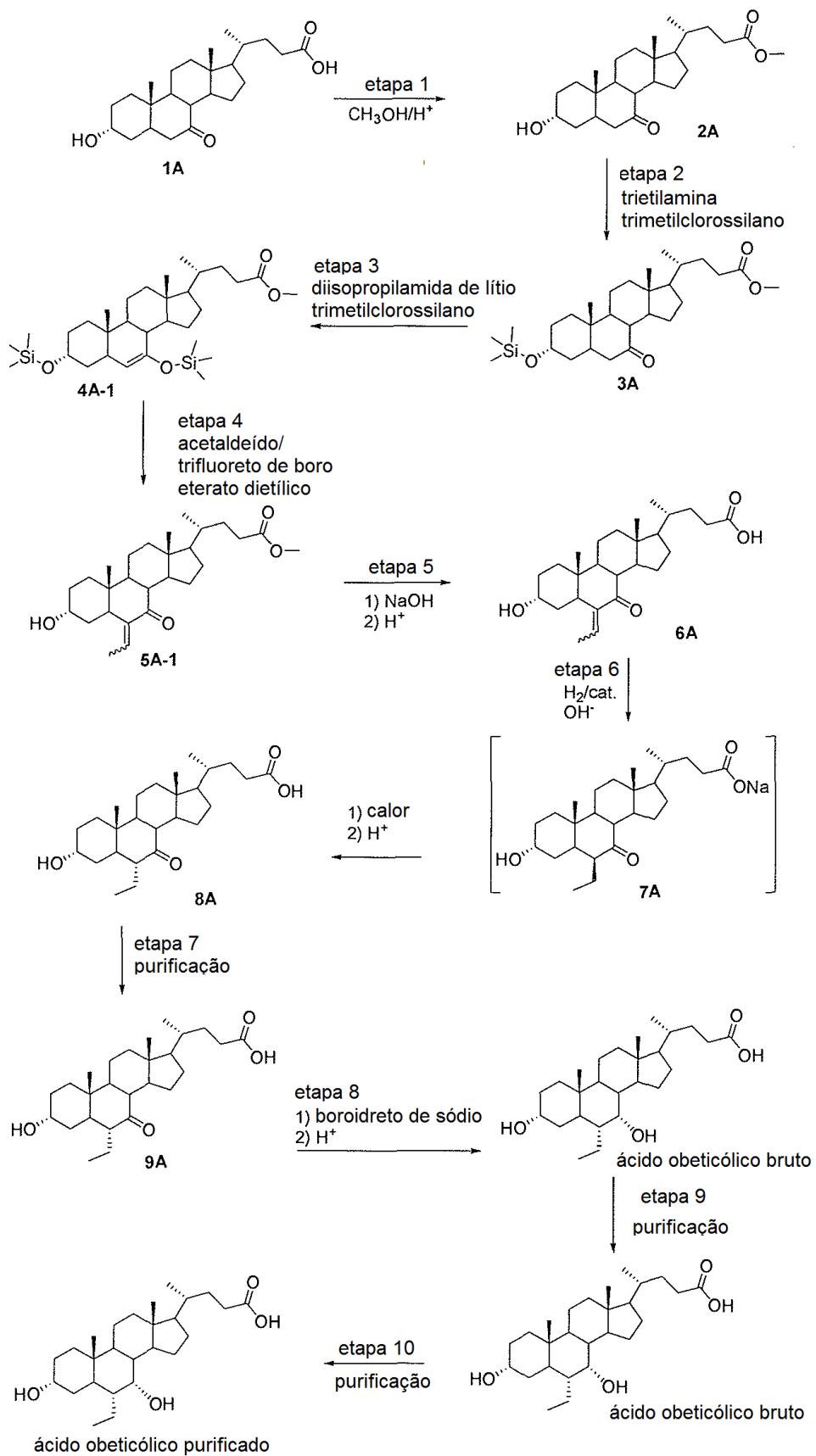
Esquema 3



[00165] Muito embora este processo comprehensa umas poucas etapas, ele apresenta uma série de inconvenientes. Em todas as etapas, os produtos de reação são purificados em uma coluna cromatográfica, ou seja um método de separação muito dispendioso que não pode ser usado em uma escala industrial. Além disso, o rendimento da reação na etapa 2 é extremamente baixo (12-13%) com uma diminuição considerável no rendimento global, que é mais baixo do que 3,5%. Este processo também utiliza hexametilenofosfonamida como reagente, que é um agente carcinogênico conhecido.

[00166] O processo para preparar ácido obeticólico no pedido '977 está ilustrado no Esquema 4,

Esquema 4



[00167] O processo da '977 para preparar ácido obeticólico é um processo sintético de 8-etapas que inclui uma etapa de purificação (a etapa 7) seguida por 2 etapas de purificação adicionais. Existe um número significativo de diferenças entre o processo '977 e o processo do presente pedido. A Tabrla A exposta em seguida descreve pelo menos algumas das diferenças entre os dois processos:

Tabela A: Diferenças Entre o Processo da '977 e o Processo do Pedido

Etapa Sintética	Alterações		Vantagens das Alterações
	Processo da '977	Processo do pedido	
Etapa 1	Ácido metanossulfônico	Ácido sulfúrico	Escala e segurança (mesilato)
	30% amônia (aquosa)	NaOH (aquoso)	Aumento
	Sem purificação /tratamento	Uso de tratamento de carbono ativado	Aperfeiçoa a pureza / cor
Etapa 2 (A etapa 2 do processo do pedido)	Trietilamina	Diisopropilamida de lítio (LDA)	LDA é um reagente alternativo adequado para esta etapa

combina as Etapas 2 e 3 do Processo da '977)	Tolueno	Tetraidrofurano (THF)	THF é um reagente alternativo adequado para esta etapa
	Finalizou a reação sem precisar de acréscimo de uma solução ácida	Finalizou a reação em solução de ácido cítrico	Aumento
Etapa 3 (o processo da etapa 3 do pedido é o mesmo que da etapa 4 da '977)	Eterato dietílico de trifluoreto de boro	Complexo de acetonitrila trifluoreto de boro	Preocupações de segurança de manuseio de eterato (risco de explosão com éter)
Etapa 4 (o processo da etapa 4 do pedido é o mesmo que da	Tolueno	Metanol	Segurança (tolueno); escala
	Finalizou a reação com ácido fosfórico (aquoso)	Finalizou a reação com ácido cítrico (aquoso)	Aumento

etapa 5 da '977)	Sem purificação / tratamento	A etapa de cristalização é parte do processamento	Aperfeiçoa a pureza
Aumento			
Etapa 5 (A etapa 5 do processo do pedido combina as etapas 6 e 7 do processo da '977)	Finalizou a reação com ácido fosfórico (aqueoso)	Finalizou a reação com ácido clorídrico (aqueous)	Aumento
	Sem purificação /tratamento	Uso de tratamento com carbono ativado	Aperfeiçoa a pureza / cor
	Purificação realizada como a etapa 7	A cristalização da etapa é parte do processamento	Aumento
Aumento			
Etapa 6 (A etapa 6 do processo do pedido combina as etapas 8 e 9 do processo da '977)	Diclorometano	Acetato de n- butila	Segurança (diclorometano)
	Finalizou a reação com ácido fosfórico (aqueoso)	Finalizou a reação com ácido cítrico (aqueoso)	Aumento
	Purificação realizada como a etapa 9 – utilizando-se diclorometano /acetato de etila	A etapa de cristalização é parte do processamento – utilizando-se acetato de n- butila	Escala e segurança (diclorometano)

Etapa 7 (A etapa 7 do processo do pedido é a mesma da etapa 10 da '977)	Solução de amônia	NaOH solution	Aumento
	Finalizou a reação com ácido fosfórico (aquoso)	Finalizou a reação com ácido clorídrico (aquoso)	Aumento

[00168] As diferenças no processo do presente pedido quando comparadas com o processo da '977 resultam em aperfeiçoamentos significativos para o processo, incluindo aperfeiçoamentos relacionados com a otimização do aumento, segurança, bem como pureza e aperfeiçoamentos no processo global. A pureza do ácido obeticólico produzido por meio dos processos do presente pedido é substancialmente pura. De uma forma específica, o ácido obeticólico produzido por meio dos processos do presente pedido é substancialmente mais puro do que o ácido obeticólico produzidos por meio dos processos na técnica anterior, incluindo o processo '390 e o processo '977. Por exemplo, uma comparação dos resultados apresentados no Certificado de Análise do ácido obeticólico produzido por um processo do presente pedido e do ácido obeticólico produzido pelo processo da '977 estão ilustrados na Tabela B adiante. As percentagens das impurezas foram determinadas utilizando-se métodos HPLC.

Tabela B: Comparação das Impurezas do Ácido Obeticólico Geradas a partir do Processo do Pedido e do Processo da '977

Parâmetros	Limite da Especificação	Processo do pedido	Processo da '977
Água (KF)	NMT 4,5%	1,0%	2,1%
Impureza 1 e Impureza 4	NMT 0,15%	<0,05%	<0,05%
Impureza 2	NMT 0,15%	<0,05%	<0,1%
Impureza 3	NMT 0,15%	<0,05%	<0,1%
Impureza 5	NMT 3,0%	0,2%	1,0%
Impureza 6	NMT 0,15%	<0,05%	<0,05%

[00169] A Impureza 1 é compreendida por ácido 6-estilursodeoxicólico.

[00170] A Impureza 2 é compreendida por ácido 3 α -hidroxi-6 α -etil-7-cheto-5 β -olan-24-óico.

[00171] A Impureza 3 é compreendida por ácido 6 β -etilquenodesoxicólico.

[00172] A Impureza 4 é compreendida por ácido 3 α ,7 α -diidroxi-6-etyliden-5 β -olan-24-óico.

[00173] A Impureza 5 é compreendida por ácido quenodesoxicólico.

[00174] A Impureza 6 é compreendida por ácido 3 α (3 α ,7 α -diidroxi-6 α -etil-5 β -olan-24-oíoxi)-7 α -hidroxi-6 α -etil-5 β -olan-24-óico (6ECDCA dímero).

[00175] NMT refere-se a “não mais do que”.

Ácido obeticólico cristalino como um intermediário sintético

[00176] O Ácido obeticólico está sendo desenvolvido atualmente como um ingrediente farmacêutico na forma de um sólido não cristalino. A fim de facilitar o desenvolvimento do ácido obeticólico, realizou um estudo de cristalização inicial e polimorfismo com a finalidade de se determinar se formas cristalinas eram acessíveis e, se

assim fosse, se elas eram adequadas para desenvolvimento. Depois de uma tela de solubilidade preliminar projetada para proporcionar uma melhor compreensão do comportamento do material em vários solventes, verificou-se que o material tinha uma tendência para formar géis e poderia ser cristalizado. Uma tela de polimorfo extensa foi então levada a cabo, expondo o material a uma ampla gama de solventes e condições de cristalização com a finalidade de identificar e caracterizar tantos polimorfos relevantes quantos possíveis. Cinco formas sólidas diferentes foram encontrados durante esta tela

[00177] Três formas (A, C, e D) de ácido obeticólico foram hidratos / solvatos misturados que continham 0,25 mol eq de água e quantidades variáveis de uma gama de solventes orgânicos. No aquecimento, estes sólidos perderam a cristalinidade e o solvente ao mesmo tempo e, infelizmente, essas formas solvatadas não foram adequadas para um maior desenvolvimento como um ingrediente farmacêutico devido às suas baixas temperaturas de fusão e alto teor de solventes. Deve ser igualmente observado que existem formas “inadequadas” similares deste tipo. Por exemplo, em experiências posteriores foi encontrada uma forma solvatada de baixo ponto de fusão, bem como cristais individuais de uma outra forma, que demonstrou ser um solvato ser um solvato mono-hidrato / anisol por meio de difração SCXRD (difração de raios-X de cristal único).

[00178] As duas formas restantes eram de fusão mais elevada e potencialmente mais promissoras, mas uma delas (a Forma G) não poderia ser reproduzida em escala aumentada, nem repetida apesar de muitas tentativas. A dificuldade em produzir essa forma isoladamente a torna inadequada para o desenvolvimento. A Forma F não solvatada restante foi preparada de modo capaz de ser reproduzido, mas ela precisou de procedimentos de recristalização e o uso de nitrometano, que é um solvente tóxico e pode detonar se for

sensibilizado por aminas, álcalis, ácidos fortes, ou altas temperaturas ou compressão adiabática. As preocupações com os níveis residuais de nitrometano também consideraram a Forma F como sendo inadequada para o desenvolvimento.

[00179] Os resultados gerais do estudo inicial de cristalização e de polimorfo revelaram que o material poderia formar várias formas de materiais cristalinos, sendo que nenhum dos materiais ou formas cristalinas foi considerado adequado para o desenvolvimento.

[00180] Não foi muito mais tarde que se descobriu a importância de produzir ácido obeticólico cristalino como um intermediário na penúltima etapa do processo do presente pedido. O ácido obeticólico cristalino poderá ser facilmente isolado em grande escala utilizando-se o processo do pedido. Este ácido obeticólico cristalino foi determinado ser compatível com a Forma C a partir do estudo inicial de cristalização e polimorfo. A formação, facilidade de isolamento, e ácido obeticólico cristalino de alta pureza produzido na forma de um intermediário sintético na etapa 7 no processo do presente pedido é de fato da maior importância para a preparação do ácido obeticólico substancialmente puro.

[00181] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a uma Forma C de ácido obeticólico cristalino caracterizado por um padrão de difração aos raios-X que inclui picos característicos sob cerca de 4,2; 6,4; 9,5; 12,5; e 16,7 graus 2-Teta. De acordo com uma concretização, o padrão de difração sob raios-X inclui picos característicos sob cerca de 4,2; 6,4; 9,5; 12,5; 12,6; 15,5; 15,8; 16,0; 16,7 e 19,0 graus 2-Teta. De acordo com uma concretização, o padrão de difração de raios-X inclui picos característicos sob cerca de 4,2; 6,4; 8,3; 9,5; 11,1; 12,2; 12,5; 12,6; 15,5; 15,8; 16,0; 16,3; 16,7; 18,6 e 19,0 graus 2-Teta. De acordo com uma concretização, o padrão de difração de raios-X inclui picos característicos sob cerca de

4,2; 6,4; 8,3; 9,5; 11,1; 12,2; 12,5; 12,6; 15,5; 15,8; 16,0; 16,3; 16,7; 17,0; 17,8; 18,6; 18,8; 19,0; 20,5 e 20,9 graus 2-Teta. De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a uma Forma C de ácido obeticólico cristalino caracterizado por um padrão de difração aos raios-X substancialmente similar àquele que se encontra exposto na Figura 5, De acordo com uma concretização, o padrão de difração aos raios-X é coletado em um difractômetro utilizando-se radiação de Cu K α (40 kV, 40 mA). De acordo com uma concretização, o padrão de difração aos raios-X inclui picos característicos sob cerca de 12,0 até cerca de 12,8 e cerca de 15,4 até cerca de 21,0,

[00182] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a uma Forma C de ácido obeticólico cristalino caracterizada por um termograma de Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) que é dotado de um valor de endotermia sob cerca de 98 \pm 2°C, quando medido por meio de um instrumento Mettler DSC 823e. De acordo com uma concretização, o termograma de Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) é dotado de um valor de endotermia sob cerca de 98 \pm 2°C, quando medido por meio de um instrumento Mettler DSC 823e.

[00183] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a um ácido obeticólico cristalino, em que o dito ácido obeticólico cristalino é da Forma C e é dotado de uma pureza maior do que cerca de 90%. De acordo com uma concretização, a pureza da referida Forma C de ácido obeticólico cristalino é determinada por meio de HPLC. De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a uma Forma C de ácido obeticólico cristalino, ou um sal, solvato ou conjugado de aminoácidos do mesmo farmaceuticamente aceitável. De acordo com uma concretização, o solvato é compreendido por um hidrato. De acordo com uma concretização, a pureza é maior do que cerca de 92%. De acordo com

uma concretização, a pureza é maior do que cerca de 94%. De acordo com uma concretização, a pureza é maior do que cerca de 96%. De acordo com uma concretização, a pureza é maior do que cerca de 98%. De acordo com uma concretização, a pureza é maior do que cerca de 99%.

[00184] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a um ácido obeticólico cristalino, em que o dito ácido obeticólico cristalino é compreendido pela Forma C e é dotado de uma potência maior do que cerca de 90%. De acordo com uma concretização, a pureza da dita Forma C de ácido obeticólico cristalino é determinada por meio de HPLC e / ou outros procedimentos analíticos que são conhecidos na técnica. De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a uma Forma C de ácido obeticólico cristalino, ou um sal, solvato ou conjugado de aminoácidos so mesmo farmaceuticamente aceitáveis. De acordo com uma concretização, o solvatoe é compreendido por um hidrato. De acordo com uma concretização, a potência é maior do que cerca de 92%. De acordo com uma concretização, a potência é maior do que cerca de 94%. De acordo com uma concretização, a potência é maior do que cerca de 96%. De acordo com uma concretização, a potência é maior do que cerca de 98%. De acordo com uma concretização, a potência é maior do que cerca de 99%.

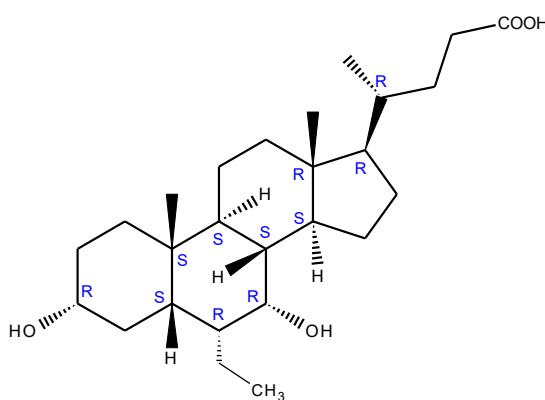
[00185] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a uma Forma C de ácido obeticólico cristalino que contém um total de menos do que cerca de 4% de uma ou mais impurezas selecionadas a partir de ácido 6 -etilursodeoxicólico, ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -cheto -5 β -colan -24 -óico, ácido 6 β -etilquenodeoxicólico, ácido 3 α ,7 α -dihidroxi -6 -etiliden -5 β -colan -24 -óico, ácido quenodeoxicólico, e ácido 3 α (3 α ,7 α -dihidroxi -6 α -etil -5 β -colan -24 -oiloxi) -7 α -hidroxi -6 α -etil -5 β -colan -24 -óico. De acordo com uma

concretização, o total de impurezas é menor do que cerca de 3,8%. De acordo com uma concretização, o total de impurezas é menor do que cerca de 3,6%.

[00186] O Exemplo 3 do pedido proporciona caracterização plena desta nova forma cristalina de ácido obeticólico.

[00187] A estrutura de cristal de raios-X única de ácido obeticólico foi obtida e a estereoquímica absoluta designada. Por exemplo, a estrutura de cristal de raios-X única da Fprma G de ácido obeticólico cristalino foi determinada a partir de um cristal obtido a partir da recristalização de ácido obeticólico a partir de uma solução de acetonitrila depois de refrigeração para 5°C sob 0,1°C/min. seguida por maturação sob RT/50°C 8 h ciclos durante 1 semana.

[00188] A estrutura é ortorombica, grupo de espaços $P2_12_12_1$, e contém uma molécula de ácido obeticólico na unidade assimétrica. Final R1 [$|I>2\sigma(I)|$] = 3,22%. A estereoquímica absoluta da molécula foi determinada como ilustrada adiante com um parâmetro de Flack = -0,01 (13). A estrutura tinha nenhuma desordem.



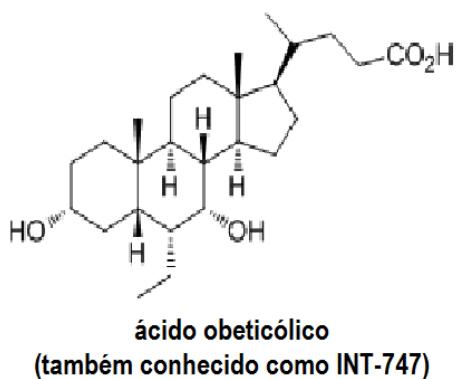
[00189] Realizou-se um estudo de biodisponibilidade da Forma 1 de ácido obeticólico (não cristalina) vs. Forma F de ácido obeticólico cristalino (Exemplo 7). Os resultados deste estudo demonstram que o estado físico de um ácido obeticólico sólido pode desempenhar uma função na biodisponibilidade da molécula quando administrado oralmente a um paciente. A cinética de plasma depois da administração oral e a eficiência da absorção intestinal e a

farmacocinética do sólido da Forma 1 de ácido obeticólico (não cristalina) e da Forma F cristalina F foram avaliadas de acordo com métodos conhecidos na técnica. O Exemplo 8 da presente invenção mostra os perfis da concentração de plasma de ácido obeticólico vs tempo, o t_{max} , C_{max} e AUC depois da administração da Forma 1 ou Forma F do ácido obeticólico (vide Figuras 37-38). A Forma F cristalina é dotada de uma biodisponibilidade mais alta do que a Forma 1 de ácido obeticólico (não cristalina). Os perfis de plasma mostram que a Forma F é absorvida mais eficientemente (AUC mais alto) e mesmo a cinética é mais regular, refletindo uma ótima distribuição do fármaco no conteúdo intestinal.

[00190] A solubilidade da Forma 1 de ácido obeticólico (não cristalina) na água é levemente mais alta do que aquela da Forma F. A Forma F parece ser estável porquanto a análise termo gravimétrica (TGA) não mostrou qualquer perda de peso em uma faixa temperaturas estudada.

Ácido Obeticólico Substancialmente Puro

[00191] O presente pedido proporciona ácido obeticólico substancialmente puro e sais, solvatos, ou conjugados de aminoácidos farmaceuticamente aceitáveis dos mesmos:



[00192] Outros nomes para o ácido obeticólico de ingrediente farmaceuticamente ativo são INT-747, ácido 3 α ,7 α -diidroxi-6 α -etyl-5 β -colan-24-óico, ácido 6 α -etyl-quinodeoxicólico, 6-etyl-CDCA, 6ECDCA, e ácido colan-24-óico, 6-etyl-3,7-diidroxi-,(3 α ,5 β ,6 α ,7 α)-.

[00193] O presente pedido proporciona composições que compreendem a Forma 1 de ácido obeticólico e processos para a síntese da a Forma 1 altamente pura de ácido obeticólico que são seguros e que produzem ácido obeticólico em uma grande escala. De acordo com um aspecto, a Forma 1 de ácido obeticólico é produzida em um processo em escala comercial. O termo “processo em escala comercial” refere-se a um processo que é executado em um único lote de pelo menos cerca de 100 gramas. De acordo com um aspecto, o processo do presente pedido produz a Forma 1 de ácido obeticólico em alto rendimento (>80%) e com impurezas limitadas.

[00194] O termo “pureza” da forma que é usado neste contexto refere-se à quantidade de ácido obeticólico com base em HPLC. A pureza é baseada na pureza “orgânica” do composto. A pureza não inclui uma medida de qualquer quantidade de água, solvente, metal, sal inorgânico e assemelhados. De acordo com um aspecto, a pureza do ácido obeticólico é comparada a uma pureza do padrão de referência pela comparação da área sob o pico. De acordo com outro aspecto, o padrão conhecido para a pureza é compreendido por um padrão de referência de ácido obeticólico. De acordo com um aspecto, o ácido obeticólico é dotado de uma pureza maior do que cerca de 96%. De acordo com um aspecto, o ácido obeticólico é dotado de uma pureza maior do que cerca de 98%. Por exemplo, a pureza da Forma 1 de ácido obeticólico é compreendida por 96,0%; 96,1%; 96,2%; 96,3%; 96,4%; 96,5%; 96,6%; 96,7%; 96,8%; 96,9%; 97,0%; 97,1%; 97,2%; 97,3%; 97,4%; 97,5%; 97,6%; 97,7%; 97,8%; 97,9 %; 98,0%; 98,1%; 98,2%; 98,3%; 98,4%; 98,5%; 98,6%; 98,7%; 98,8%; 98,9%; 99,0%; 99,1%; 99,2%; 99,3%; 99,4%; 99,5%; 99,6%; 99,7%; 99,8%; ou 99,9%. Por exemplo, a pureza da Forma 1 de ácido obeticólico é de 98,0%; 98,1%; 98,2%; 98,3%; 98,4%; 98,5%; 98,6%; 98,7%; 98,8%; 98,9%; 99,0%; 99,1%; 99,2%; 99,3%; 99,4%; 99,5%;

99,6%; 99,7%; 99,8%; ou 99,9%. Por exemplo, a pureza de ácido obeticólico é de 98,0%; 98,5%; 99,0%; 99,5%; 99,6%; 99,7%; 99,8%; ou 99,9%. Por exemplo, a pureza do ácido obeticólico é de 98,5%; 99,0%; ou 99,5%. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico é compreendido pela Forma 1 de ácido obeticólico.

[00195] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a ácido obeticólico que é dotado de uma pureza maior do que cerca de 98%. De acordo com uma concretização, a pureza é determinada por meio de HPLC. De acordo com outra concretização, a presente invenção refere-se a ácido obeticólico, ou un sal, solvato ou conjugado de aminoácidos do mesmo. De acordo com uma concretização, a pureza é maior do que cerca de 98,5%. De acordo com uma concretização, a pureza é maior do que cerca de 99,0%. De acordo com uma concretização, a pureza é maior do que cerca de 99,5%. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico é compreendido pela Forma 1 de ácido obeticólico.

[00196] Da forma que é usado neste contexto o termo “potência” é uma medida da quantidade de ácido obeticólico com base naquela de um padrão conhecido (por exemplo, critérios de aceitação de cerca de 95% até cerca de 102%). A potência leva em consideração todas as impurezas possíveis incluindo água, solventes, impurezas orgânicas e inorgânicas. De acordo com um aspecto, o padrão conhecido é ácido obeticólico. De acordo com um aspecto, o ácido obeticólico é dotado de uma potência maior do que cerca de 96%. De acordo com um aspecto, o ácido obeticólico é dotado de uma potência maior do que cerca de 98%. De acordo com um aspecto, o padrão conhecido é compreendido por ácido obeticólico. De acordo com outro aspecto, a potência é compreendida por 100% menos as quantidades de água, cinzas sulfatadas, solventes residuais, e outros teores de impurezas tais como ácido 6-etylursodeoxicólico, ácido 3 α -hidroxi-6 α -etyl-7-ceto-

5 β -olan-24-óico, ácido 6 β -etilquenodeoxicólico, ácido 3 α ,7 α -diidroxi-6-etyliden-5 β -olan-24-óico, ácido quenodeoxicólico, e ácido 3 α (3 α ,7 α -dihidroxi-6 α -etyl-5 β -olan-24-oiloxi)-7 α -hidroxi-6 α -etyl-5 β -olan-24-óico. {De acordo com outra concretização, a potência é responsável por impurezas devidas a água, solvente, metais, sais inorgânicos, e outras impurezas inorgânicas ou orgânicas. Por exemplo, a potência da Forma 1 de ácido obeticólico é compreendida por 96,0%; 96,1%; 96,2%; 96,3%; 96,4%; 96,5%; 96,6%; 96,7%; 96,8%; 96,9%; 97,0%; 97,1%; 97,2%; 97,3%; 97,4%; 97,5%; 97,6%; 97,7%; 97,8%; 97,9 %; 98,0%; 98,1%; 98,2%; 98,3%; 98,4%; 98,5%; 98,6%; 98,7%; 98,8%; 98,9%; 99,0%; 99,1%; 99,2%; 99,3%; 99,4%; 99,5%; 99,6%; 99,7%; 99,8%; ou 99,9%. De acordo com um aspecto, a potência da Forma 1 de ácido obeticólico é compreendida por 98,0%; 98,1%; 98,2%; 98,3%; 98,4%; 98,5%; 98,6%; 98,7%; 98,8%; 98,9%; 99,0%; 99,1%; 99,2%; 99,3%; 99,4%; 99,5%; 99,6%; 99,7%; 99,8%; ou 99,9%, Por exemplo, a potência de ácido obeticólico é compreendida por 98,0%; 98,5%; 99,0%; 99,5%; 99,6%; 99,7%; 99,8%; ou 99,9%. Por exemplo, a potência de ácido obeticólico é compreendida por 98,5%, 99,0%, ou 99,5%. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico é compreendido pela Forma 1 de ácido obeticólico.

[00197] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a ácido obeticólico que contém um total de menos que cerca de 2% de uma ou mais impurezas selecionadas a partir de ácido 6 - etilursodeoxicólico, ácido 3 α -hidroxi -6 α -etyl -7 -cheto -5 β -olan -24 -óico, ácido 6 β -etilquenodesoxicólico, ácido 3 α ,7 α -diidroxi -6 -etyliden -5 β -olan -24 -óico, ácido quenodesoxicólico, e ácido 3 α (3 α ,7 α -diidroxi -6 α -etyl -5 β -olan -24 -oiloxi) -7 α -hidroxi -6 α -etyl -5 β -olan -24 -óico. De acordo com uma concretização, o total de impurezas é menor do que cerca de 1,5%. De acordo com uma concretização, o total de impurezas é menor do que cerca de 1,4%. De acordo com

uma concretização, o ácido obeticólico é a Forma 1 de ácido obeticólico.

[00198] De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 10% de água, menos do que cerca de 9% de água, menos do que 8% de água, menos do que 7% de água, menos do que 6% de água, menos do que 5% de água, menos do que 4% de água, menos do que 3% de água, menos do que 2% de água, ou menos do que 1% de água. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 1,2% de água. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 1,0% de água. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico é compreendido pela Forma 1 de ácido obeticólico.

[00199] De acordo com outra concretização, o ácido obeticólico contém não mais do que (NMT) 0,15% de ácido 6 -etilursodeoxicólico e ácido 3 α ,7 α -dihidroxi -6 -etiliden -5 β -colan -24 -óico. De acordo com outra concretização, o ácido obeticólico contém um total de menos do que cerca de 0,07% de ácido 6 -etilursodeoxicólico e ácido 3 α ,7 α -diidroxi -6 -etiliden -5 β -colan -24 -óico. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém um total de menos do que cerca de 0,06% de ácido 6 -etilursodeoxicólico e ácido 3 α ,7 α -diidroxi -6 -etiliden -5 β -colan -24 -óico. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém um total de menos do que cerca de 0,05% de ácido 6 -etilursodeoxicólico e ácido 3 α ,7 α -dihidroxi -6 -etiliden -5 β -colan -24 -óico. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico é compreendido por a Forma 1 de ácido obeticólico.

[00200] De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém não mais do que (NMT) 0,15% de ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 0,07% de ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico. De acordo com uma

concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 0,06% de ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 0,05% de ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico é compreendido pela Forma 1 de ácido obeticólico.

[00201] De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém não mais do que (NMT) 0,15% de ácido 6 β -etilquenodeoxicólico. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 0,07% de ácido 6 β -etilquenodeoxicólico. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 0,06% de ácido 6 β -etilquenodeoxicólico. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 0,05% de ácido 6 β -etilquenodeoxicólico. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico é compreendido pela Forma 1 de ácido obeticólico.

[00202] De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém não mais do que (NMT) 3% de ácido quenodesoxicólico (CDCA). De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 1% de CDCA. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 0,5% de CDCA. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 0,3% de CDCA. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 0,2% de CDCA. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico é compreendido pela Forma 1 de ácido obeticólico.

[00203] De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém não mais do que (NMT) 4% de CDCA e de ácido 6-etylursodeoxicólico.

[00204] De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico

contém não mais do que (NMT) 1,5% de ácido $3\alpha(3\alpha,7\alpha\text{-dihidroxi\text{-}6\alpha\text{-etyl\text{-}5\beta\text{-colan\text{-}24\text{-oiloxi})\text{-}7\alpha\text{-hidroxi\text{-}6\alpha\text{-etyl\text{-}5\beta\text{-colan\text{-}24\text{-óico}}}}$. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 1% de ácido $3\alpha(3\alpha,7\alpha\text{-dihidroxi\text{-}6\alpha\text{-etyl\text{-}5\beta\text{-colan\text{-}24\text{-oiloxi})\text{-}7\alpha\text{-hidroxi\text{-}6\alpha\text{-etyl\text{-}5\beta\text{-colan\text{-}24\text{-óico}}}$. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 0,07% de ácido $3\alpha(3\alpha,7\alpha\text{-dihidroxi\text{-}6\alpha\text{-etyl\text{-}5\beta\text{-colan\text{-}24\text{-oiloxi})\text{-}7\alpha\text{-hidroxi\text{-}6\alpha\text{-etyl\text{-}5\beta\text{-colan\text{-}24\text{-óico}}}$. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 0,06% de ácido $3\alpha(3\alpha,7\alpha\text{-dihidroxi\text{-}6\alpha\text{-etyl\text{-}5\beta\text{-colan\text{-}24\text{-oiloxi})\text{-}7\alpha\text{-hidroxi\text{-}6\alpha\text{-etyl\text{-}5\beta\text{-colan\text{-}24\text{-óico}}}$. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico contém menos do que cerca de 0,05% de ácido $3\alpha(3\alpha,7\alpha\text{-dihidroxi\text{-}6\alpha\text{-etyl\text{-}5\beta\text{-colan\text{-}24\text{-oiloxi})\text{-}7\alpha\text{-hidroxi\text{-}6\alpha\text{-etyl\text{-}5\beta\text{-colan\text{-}24\text{-óico}}}$. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico é compreendido pela Forma 1 de ácido obeticólico.

Formulação Oral e Administração

[00205] O ácido obeticólico destina-se à administração oral. De acordo com uma concretização, a formulação é para administração oral para a prevenção e tratamento de enfermidades e condições mediadas por FXR. De acordo com uma concretização, a formulação compreende a Form 1 de ácido obeticólico. De acordo com outra concretização, a formulação é compreendida por ácido obeticólico substancialmente puro.

[00206] As formulações que são adequadas para administração oral podem ser proporcionadas como unidades distintas, tais como comprimidos, cápsulas, hóstias (cápsula pastilha usada pelos farmacêuticos para a apresentação de um fármaco), patilhas, cada um deles contendo uma quantidade predeterminada de ácido obeticólico; na forma de pós ou granulados; na forma de soluções ou suspensões em líquidos aquosos ou não aquosos; ou na forma de emulsões de

óleo-em-água ou de água-em-óleo.

[00207] As formulações da invenção podem ser preparadas por meio de qualquer método adequado, tipicamente misturando uniformemente e intimamente o ácido obeticólico com líquidos ou carreadores sólidos finamente divididos ou os dois, nas proporções requeridas e então, se necessário, configurando a mistura resultante para a forma desejada.

[00208] Por exemplo, um comprimido pode ser preparado pela compressão de uma mistura íntima que compreende um pó ou granulados de ácido obeticólico e um ou mais ingredientes opcionais, tais como um ligante, lubrificante, diluente inerte, ou agente de dispersão de superfície ativa, ou por meio de moldagem de uma mistura íntima de ingrediente ativo em pó e diluente líquido inerte.

[00209] Por exemplo, um ou mais comprimidos podem ser administrados para chegar a um nível de dose-alvo com base no peso do paciente, por exemplo, um ser humano entre cerca de 30 kg até cerca de 70 kg.

[00210] De acordo com uma concretização, o paciente é uma criança e a formulação é usada para tratar atresia biliar. A atresia biliar, também conhecida como "ductopenia extra-hepática" e "colangiopatia obliterativa progressiva" é uma enfermidade congênita ou adquirida do fígado e uma das formas principais da rejeição crônica de um aloenxerto de fígado transplantado. Na forma congênita, o duto biliar comum entre o fígado e o intestino delgado está bloqueado ou ausente. O tipo adquirido muitas vezes ocorre no contexto de doença auto-imune, e é uma das principais formas de rejeição crônica de um aloenxerto de fígado transplantado.

[00211] Os bebês e crianças com atresia biliar têm colestase progressiva com todos os aspectos concomitantes usuais: icterícia, prurido, má absorção com retardamento de crescimento, deficiências de

vitaminas solúveis em gordura, hiperlipidemia, e, eventualmente, cirrose com hipertensão portal. Na eventualidade de não ser reconhecida, a condição leva à insuficiência hepática, mas não icterícia nuclear, uma vez que o fígado ainda apaz de conjugar a bilirrubina, e a bilirrubina conjugada é incapaz de atravessar a barreira sangue-cérebro. A causa da condição é desconhecida. Os únicos tratamentos efetivos são compreendidos por determinadas cirurgias tais como o procedimento de Kasai, ou transplante do fígado.

[00212] De acordo com uma concretização, a criança humana teve um procedimento de Kasai, onde o procedimento de Kasai efetivamente dá-lhes um conduto biliar funcional quando nascido ou sem um conduto biliar do seu completamente bloqueado no nascimento.

[00213] Adicionalmente aos ingredientes especificamente mencionados anteriormente, as formulações orais da presente invenção podem incluir outros agentes conhecidos daqueles versados na técnica de farmácia, tendo em conta o tipo de formulação em questão. As formulações orais adequadas podem incluir agentes aromatizantes.

[00214] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a uma formulação farmacêutica de ácido obeticólico ou um sal, solvato, ou conjugado de aminoácidos do mesmo farmaceticamente aceitável, em que o ácido obeticólico é produzido por meio de um processo da invenção (a Forma 1 de ácido obeticólico). De acordo com outra concretização, a formulação é administrada de forma oral.

[00215] De acordo com uma concretização, a formulação está na forma de comprimidos. De acordo com outra concretização, a formulação compreende ácido obeticólico e um ou mais componentes selecionados a partir de celulose microcristalina, amido de glicolato de

sódio, estearato de magnésio, material de revestimento, ou dióxido de silício coloidal. De acordo com uma concretização, o material de revestimento é um material de revestimento Opadry®.

[00216] De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 0,1 mg até cerca de 1500 mg de ácido obeticólico por comprimido. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 100 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 50 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 30 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 4 mg até cerca de 26 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 5 mg até cerca de 25 mg. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 2 mg. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1,2 mg até cerca de 1,8 mg. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1,3 mg até cerca de 1,7 mg. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1,5 mg.

[00217] De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 25 mg de ácido obeticólico por comprimido. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg de ácido obeticólico, cerca de 180 até cerca de 190 mg de celulose microcristalina, cerca de 10 até cerca de 15 mg de amido glicolato de sódio, cerca de 1 até cerca de 3 mg de estearato de magnésio, e cerca de 5 mg até cerca de 10 mg de material de revestimento. De acordo com uma concretização, o material de revestimento é um material de revestimento Opadry®.

[00218] De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 25 mg de ácido obeticólico

por comprimido. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg de ácido obeticólico, cerca de 185,0 mg de celulose microcristalina, cerca de 12,0 mg de amido glicolato de sódio, cerca de 2,0 mg de estearato de magnésio, e cerca de 8,0 mg de material de revestimento. De acordo com uma concretização, o material de revestimento é um material de revestimento Opadry®.

[00219] De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 25 mg de ácido obeticólico por comprimido. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 5 mg de ácido obeticólico, cerca de 175 até cerca de 190 mg de celulose microcristalina, cerca de 10 até cerca de 15 mg de amido glicolato de sódio, cerca de 1 até cerca de 3 mg de estearato de magnésio, e cerca de 5 mg até cerca de 10 mg de material de revestimento. De acordo com uma concretização, o material de revestimento é um material de revestimento Opadry®.

[00220] De acordo com uma concretização, a formulação compreende de cerca de 1 mg até cerca de 25 mg de ácido obeticólico por comprimido. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 5 mg de ácido obeticólico, cerca de 181,0 mg de celulose microcristalina, cerca de 12,0 mg de amido glicolato de sódio, cerca de 2,0 mg de estearato de magnésio, e cerca de 8,0 mg de material de revestimento. De acordo com uma concretização, o material de revestimento é um material de revestimento Opadry®.

[00221] De acordo com uma concretização, a formulação compreende desde cerca de 1 mg até cerca de 25 mg de ácido obeticólico por comprimido. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 10 mg de ácido obeticólico, cerca de 170 mg até cerca de 180 mg de celulose microcristalina, cerca de 10 mg até cerca de 15 mg de amido glicolato de sódio, cerca de 1 mg até cerca de 3 mg de estearato de magnésio, e cerca de 5 mg até cerca

de 10 mg de material de revestimento. De acordo com uma concretização, o material de revestimento é um material de revestimento Opadry®.

[00222] De acordo com uma concretização, a formulação compreende desde cerca de 1 mg até cerca de 25 mg de ácido obeticólico por comprimido. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 10 mg de ácido obeticólico, cerca de 176,0 mg de celulose microcristalina, cerca de 12,0 mg de amido glicolato de sódio, cerca de 2,0 mg de estearato de magnésio, e cerca de 8,0 mg de material de revestimento. De acordo com uma concretização, o material de revestimento é um material de revestimento Opadry®.

[00223] De acordo com uma concretização, a formulação compreende desde cerca de 1 mg até cerca de 25 mg de ácido obeticólico por comprimido. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 25 mg de ácido obeticólico, cerca de 150 mg até cerca de 160 mg de celulose microcristalina, cerca de 10 mg até cerca de 15 mg de amido glicolato de sódio, cerca de 1 mg até cerca de 3 mg de estearato de magnésio, cerca de 5 até cerca de 10 mg de material de revestimento, e cerca de 1 até cerca de 10 mg de dióxido de silício coloidal. De acordo com uma concretização, o material de revestimento is um material de revestimento Opadry®.

[00224] De acordo com uma concretização, a formulação compreende desde cerca de 1 mg até cerca de 25 mg de ácido obeticólico por comprimido. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 25 mg de ácido obeticólico, cerca de 157,0 mg de celulose microcristalina, cerca de 12,0 mg de amido glicolato de sódio, cerca de 2,0 mg de estearato de magnésio, cerca de 8,0 mg de material de revestimento, e cerca de 4,0 mg de dióxido de silício coloidal. De acordo com uma concretização, o material de

revestimento é compreendido por um material de revestimento Opadry®.

[00225] Todas as percentagens e relações usadas neste contexto, a não ser que de outro modo indicado, são em peso. D percentual de impureza dimérica é em uma base percentual de área, tipicamente tal como quantificada por meio de HPLC analítico.

[00226] Por toda a descrição, onde as composições são descritas como sendo dotadas, que incluem, ou que compreendem componentes específicos, é considerado que as composições também consistem essencialmente de, ou consistem de, os componentes mencionados. De uma forma assemelhada, onde métodos ou processos são descritos como sendo dotados, incluindo, ou que compreendem etapas de processo específicas, os processos também consistem essencialmente de, ou consistem de, as etapas de processamento descritas. Além disso, deverá ser compreendido que a ordem das etapas ou ordem para a execução de determinadas ações é imaterial desde que a invenção permaneça capaz de ser operada. Além disso, duas ou mais etapas ou ações podem ser realizadas simultaneamente.

Formulação de Comprimidos

Comprimido Revestido de Película			
Component	Quantidade por Comprimido	Função	Referência ao Padrão
Comprimido de 1 mg			
Ácido obeticólico	1,0 mg*	API	HSE
Celulose microcristalina	185,0 mg*	Enchimento/Ligante	USP-NF/EP/JP
Amido glicolato de sódio	12,0 mg	Desintegrante	USP-NF/EP/JP

Estearato de magnésio	2,0 mg	Lubrificante	USP-NF/EP/JP
Opadry® II verde, branco ou amarelo	8,0 mg	Material de revestimento	HSE
Peso total	208,0 mg		
Comprimido de 5 mg			
Ácido obeticólico	5,0 mg*	API	HSE
Celulose microcristalina	181,0 mg*	Enchimento/Ligante	USP-NF/EP/JP
Amido glicolato de sódio	12,0 mg	Desintegrante	USP-NF/EP/JP
Estearato de magnésio	2,0 mg	Lubrificante	USP-NF/EP/JP
Opadry® II verde, branco, ou amarelo	8,0 mg	Material de revestimento	HSE
Peso total	208,0 mg		
Comprimido de 10 mg			
Ácido obeticólico	10,0 mg*	API	HSE
Celulose microcristalina	176,0 mg*	Enchimento/Ligante	USP-NF/EP/JP
Amido glicolato de sódio	12,0 mg	Desintegrante	USP-NF/EP/JP
Estearato de magnésio	2,0 mg	Lubrificante	USP-NF/EP/JP
Opadry® II verde, branco, ou amarelo	8,0 mg	Material de revestimento	HSE
Peso total	208,0 mg		
Comprimido de 25 mg			
Ácido obeticólico	25,0 mg*	API	HSE
Celulose	157,0 mg*	Enchimento/Ligante	USP-

microcristalina			NF/EP/JP
Amido glicolato de sódio	12,0 mg	Desintegrante	USP- NF/EP/JP
Esterato de magnésio	2,0 mg	Lubrificante	USP- NF/EP/JP
Dióxido de silício coloidal	4,0 mg	Agente deslizante	USP- NF/EP/JP
Opadry® II verde, branco, ou amarelo	8,0 mg	Material de revestimento	HSE
Peso total	208,0 mg		

API: Ingrediente farmacêutico ativo

HSE = Especificação doméstica

USP-NF = US Pharmacopeia National Formulary

Ph Eur = Farmacopeia européia

JP = Farmacopéia japonesa

* a quantidade de ácido obeticólico apresentada supõe que o API é anidro e 100% puro; a quantidade efetiva é ajustada com base na potência do lote de substância de fármaco usado, e a quantidade de celulose microcristalina é correspondentemente diminuída.

[00227] De acordo com uma concretização, o comprimido compreende Opadry® amarelo. De acordo com outra concretização, o comprimido compreende Opadry® branco. De acordo com outra concretização, o comprimido compreende Opadry® verde.

Composições Farmacêuticas

[00228] O ácido obeticólico, incluindo a Forma 1 de ácido obeticólico, formas substancialmente puras de ácido obeticólico e formas cristalinas de ácido obeticólico, ou um sal, solvato, ou conjugado de aminoácidos farmaceuticamente aceitável do mesmo é de utilidade para uma variedade de propósitos medicinais. O ácido obeticólico pode ser usado em métodos para a prevenção ou

tratamento de enfermidades e condições mediadas por FXR. De acordo com uma concretização, a enfermidade ou condição é selecionada a partir de atresia biliar, enfermidade colestática do fígado, enfermidade hepática crônica, esteatoepatide não alcoólica (NASH), infecção por hepatite C, enfermidade alcoólica do fígado, cirrose biliar primária (PBC), lesão hepática devida a fibrose progressiva, fibrose hepática, e enfermidades cardiovesselares incluindo aterosclerose, arteriosclerose, hipercolesterolemia, e hiperlipidemia. De acordo com uma concretização, a Forma 1 de ácido obeticólico pode ser usada em métodos para a diminuição de triglicerídeos. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico cristalino pode ser usado em métodos para a diminuição de triglicerídeos. A Forma 1 de ácido obeticólico ou ácido obeticólico cristalino pode aumentar o HDL. Outros efeitos da Forma 1 de ácido obeticólico ou ácido obeticólico cristalino incluem a diminuição da fosfatase alcalina (ALP), bilirubin, ALT, AST, e GGT.

[00229] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica que compreende ácido obeticólico e um carreador farmaceuticamente aceitável, em que o ácido obeticólico é produzido 'pr meio de um processo da invenção, *por exemplo*, a Forma 1 de ácido obeticólico. De acordo com uma concretização, a composição farmacêutica compreende ácido obeticólico substancialmente puro e um carreador farmaceuticamente aceitável. De acordo com outra concretização, a composição farmaceutica compreende ácido obeticólico cristalino e um carreador farmaceuticamente aceitável. De acordo com outra concretização, the ácido obeticólico cristalino é compreendido pela Forma C.

[00230] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a um método de tratamento ou prevenção de uma enfermidade ou condição mediada por FXR em um paciente que

compreende administrar uma quantidade efetiva da Forma 1 de ácido obeticólico produzida por meio de um processo da invenção ou uma composição farmaceutica da mesma. De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a um método de treating ou prevenção de uma enfermidade ou condição mediada por FXR em um paciente que comprehende administrar uma quantidade efetiva de ácido obeticólico substancialmente puro produzido por meio de um processo da invenção ou uma composição farmaceutica do mesmo. De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a um método de tratamento ou prevenção de uma enfermidade ou condição mediada por FXR em um paciente que comprehende administrar uma quantidade efetiva de ácido obeticólico cristalino ou uma composição farmaceutica do mesmo. De acordo com outra concretização, o ácido obeticólico cristalino é compreendido pela Forma C. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico cristalino é compreendido pela Forma A. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico cristalino é compreendido pela Forma C. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico cristalino é compreendido pela Forma D. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico cristalino é compreendido pela Forma F. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico cristalino é compreendido pela Forma G.

[00231] De acordo com outra concretização, a enfermidade ou condição é compreendida por enfermidade cardiovascular ou enfermidade colestática do fígado e por diminuição de triglicerídeos. De acordo com outra concretização, a enfermidade cardiovascular é compreendida por aterosclerose ou hipercolesterolemia. De acordo com outra concretização, o paciente é um mamífero. De acordo com outra concretização, o mamífero é compreendido pelo ser humano.

[00232] De acordo com outra concretização, o composto ou

composição farmaceutica é administrado de forma oral, parenteral, ou tópica. De acordo com outra concretização, o composto ou composição farmaceutica é administrada de forma oral.

[00233] De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a um método para inibir fibrose em um paciente que sofre de uma condição colestática, em que o método compreende a etapa de administrar ao paciente uma quantidade efetiva de ácido obeticólico ou uma composição farmaceutica do mesmo, em que ácido obeticólico é produzido por meio do processo da invenção. De acordo com uma concretização, a presente invenção refere-se a um método para inibir fibrose em um paciente que não está sofrendo de uma condição colestática, sendo que o método compreende a etapa de administrar ao paciente uma quantidade efetiva de ácido obeticólico ou uma composição farmaceutica do mesmo, em que ácido obeticólico é produzido por meio do processo da invenção. Na concretização, a fibrose a ser inibida ocorre em um órgão onde é expresso o FXR.

[00234] De acordo com uma concretização, a condição colestática é definida como tendo níveis de soro anormalmente elevados de fosfatase alcalina, transpeptidase 7-glutamil (GGT), e 5' nucleotidase. De acordo com outra concretização, a condição colestática é ainda definida como apresentando pelo menos um sintoma clínico. De acordo com outra concretização, the symptom is itching (pruritus). De acordo com outra concretização, a fibrose é selecionada a partir do grupo que consiste de fibrose hepática, fibrose renal, e fibrose intestinal. De acordo com outra concretização, a condição colestética é selecionada a partir do grupo que consiste de cirrose biliar primária, colangite esclerosante primária, colestase induzida por drogas, colestase hereditária, e colestase intra-hepática de gravidez. De acordo com outra concretização, o paciente não sofre de uma condição colestática associada com a enfermidade ou condição

selecionada a partir do grupo que consiste de câncer primário do fígado e biliar, câncer metastático, septicemia, nutrição parenteral total crônica, fibrose cística, e enfermidade granulomatosa do fígado.

[00235] De acordo com outra concretização, o paciente tem fibrose hepática associada com uma enfermidade selecionada a partir do grupo que consiste de hepatite B; hepatite C; enfermidades parasíticas do fígado; infecções bacterianas, virais e fúngicas pós-transplante; enfermidade alcoólica do fígado (ALD); enfermidade do fígado gordo não alcoólica (NAFLD); esteato-hepatite não alcoólica (NASH); enfermidades hepáticas induzidas por metotrexato, isoniazid, oxifenistatin, metildopa, clorpromazina, tolbutamida, ou amiodarona; hepatite autoimune; sarcoidose; doença de Wilson; hemocromatose; doença de Gaucher; enfermidades de armazenamento de glicogênio dos tipos III, IV, VI, IX e X; deficiência de α_1 -antitripsina; síndrome de Zellweger; tirosinemia; fructosemia; galactosemia; desarranjo vascular associado com síndrome de Budd-Chiari, enfermidade veno-oclusiva, ou trombose veno portal; e fibrose hepática congênita.

[00236] De acordo com outra concretização, o paciente é portador de fibrose intestinal associada com uma enfermidade selecionada a partir do grupo que consiste de enfermidade de Crohn, colite ulcerosa, colite pós-radiação, e colite microscópica.

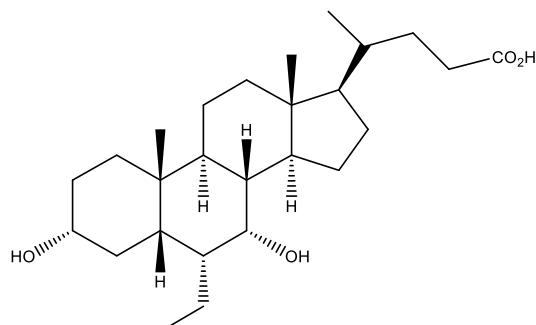
[00237] De acordo com outra concretização, o paciente tem fibrose renal associada com uma enfermidade selecionada a partir do grupo que consiste de nefropatia diabética, nefroesclerose hipertensiva, glomerulonefrite crônica, glomerulopatia do transplante crônica, nefrite intersticial crônica, e enfermidade policística renal.

Definições

[00238] Por conveniência, determinados termos usados no relatório, Exemplos e reivindicações em anexo são coletados neste contexto.

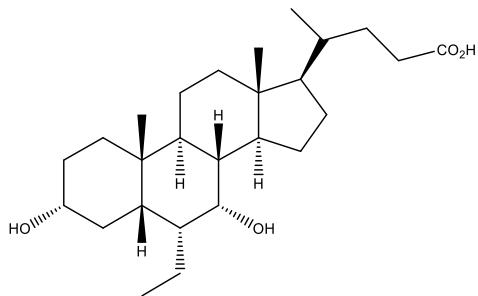
[00239] Da forma que é usado neste contexto o termo “ácido

obeticólico" ou "OCA" refere-se a um composto que é dotado da seguinte estrutura química:



[00240] Outros nomes químicos para o ácido obeticólico incluem: ácido 3 α ,7 α -dihidroxi-6 α -etyl-5 β -olan-24-óico, ácido 6 α -etyl-cenodesoxicólico, ácido 6-etyl-CDCA, 6ECDCA, colan-24-óico, 6-etyl-3,7-dihidroxi-,(3 α ,5 β , 6 α ,7 α)- e INT-747, O número de registro CAS para o ácido obeticólico é 459789-99-2, Este termo refere-se a todas as formas de ácido obeticólico, por exemplo, não-cristalino, cristalino e substancialmente puro.

[00241] Da forma que é usado neste contexto o termo "ácido obeticólico cristalino" refere-se a qualquer forma cristalina de um composto que é dotado da estrutura química:



[00242] Ácido obeticólico cristalino significa que o composto é cristalizado em uma disposição de acondicionamento de cristal específica em três dimensões espaciais ou o composto é dotado de planos de faces externas. A forma cristalina do ácido obeticólico (ou um sal, conjugado de aminoácidos, solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo) pode cristalizar-se em diferentes disposições de acondicionamento de cristais, as quais têm todas elas a mesma

composição elementar do ácido obeticólico. As formas de cristais diferentes usualmente têm diferentes padrões de difração aos raios-X, espectrais do infravermelho, pontos de fusão, dureza de densidade, forma de cristal, propriedades ópticas e elétricas, estabilidade e solubilidade diferentes. Solvente de recristalização, a taxa de cristalização, temperatura de armazenamento, e outros fatores podem fazer com que uma forma de cristal domine. Os cristais de ácido obeticólico podem ser preparados por cristalização sob diferentes condições, *por exemplo*, diferentes solventes, temperaturas, e outros.

[00243] Da forma que é usado neste contexto, o termo “Forma C de ácido obeticólico cristalino” refere-se a uma forma cristalina do ácido obeticólico com um padrão de difração aos raios-X que é substancialmente similar àquela que se encontra exposta na Figura 5, por exemplo, a forma cristalina tal como caracterizada no Exemplo 3,

[00244] Da forma que é usado neste contexto, o termo “ácido obeticólico substancialmente puro” refere-se ao ácido obeticólico que é dotado de uma potência maior do que cerca de 95%. A potência do ácido obeticólico leva em conta impurezas que incluem, por exemplo, água, solventes, e outras impurezas orgânicas e inorgânicas que estão em uma amostra de ácido obeticólico. De acordo com outra concretização, o padrão conhecido para potência é 100% de ácido obeticólico, e a potência é determinada subtraindo-se as percentagens de impurezas tais como solvente, água, e outras impurezas orgânicas e inorgânicas a partir de 100% do padrão conhecido. De acordo com um aspecto, as impurezas inorgânicas incluem, por exemplo, sais inorgânicos e cinzas sulfatadas. De acordo com um aspecto, as impurezas orgânicas incluem ácido 6-etylursodesoxicólico, ácido 3 α -hidroxi-6 α -etyl-7-ceto-5 β -colan-24-óico, ácido 6 β -etylquenodeoxicólico,

ácido 3 α ,7 α -diidroxi-6-etyliden-5 β -colan-24-óico, ácido quenodesoxicólico, e ácido 3 α (3 α ,7 α -dihidroxi -6 α -etyl -5 β -colan -24 -

oiloxi) -7 α -hidroxi -6 α -etil -5 β -olan -24 -óico. As quantidades das impurezas podem ser determinadas por meio de procedimentos que são conhecidos na técnica, por exemplo, HPLC, NMR, ou métodos a partir da US Pharmacopeial, ou European Pharmacopeia, ou uma combinação de dois ou mais de tais métodos.

[00245] Da forma que é usado neste contexto, o termo “pureza” refere-se a uma análise química de um composto obtido a partir de por exemplo, HPLC. De acordo com uma concretização, a pureza do composto é comparada a uma pureza do padrão de referência, por exemplo, ácido obeticólico, por intermédio da área sob seu pico respectivo para comparações. De acordo com uma concretização, a pureza leva em consideração as impurezas orgânicas em uma amostra.

[00246] Da forma que é usado neste contexto, o termo “mistura de reação” refere-se a uma mistura de uma ou mais substâncias combinadas entre si. De acordo com uma concretização, a mistura ou combinação das substâncias causa uma transformação química ou mudança em uma ou mais das substâncias originais.

[00247] Da forma que é usado neste contexto, o termo “Forma 1 de ácido obeticólico” refere-se a ácido obeticólico não cristalino. De acordo com uma concretização, esta forma de ácido obeticólico é produzida por intermédio de um ácido obeticólico cristalino como um intermediário sintético. Por exemplo, esta forma de ácido obeticólico é produzida por meio do processo do pedido por intermédio da Forma C de ácido obeticólico cristalino como o intermediário sintético. De acordo com uma concretização, a Forma 1 de ácido obeticólico é a forma que é usada como o ingrediente farmaceuticamente ativo. Vide o Exemplo 5 para maiores detalhes.

[00248] “Tratar”, inclui qualquer efeito, *por exemplo*, diminuição, redução, modulação, ou eliminação, que resulta no aperfeiçoamento

da condição, enfermidade, distúrbio e assemelhados. "Tratar" ou "tratamento" de um estado enfermo inclui: inibir o estado da enfermidade, *ou seja*, interromper o desenvolvimento do estado enfermo ou seus sintomas clínicos; ou aliviar o estado da enfermidade, *ou seja*, causar a regressão temporária ou permanente do estado enfermo ou seus sintomas clínicos.

[00249] "Prevenir" o estado da enfermidade inclui fazer com que os sintomas clínicos do estado da enfermidade não se desenvolvam em um paciente que pode ser exposto ou predisposto ao estado da enfermidade, mas ainda não experimentou ou exibiu sintomas do estado da enfermidade.

[00250] "Estado da enfermidade" significa qualquer enfermidade, distúrbio, condição, sintoma ou indicação.

[00251] O termo "quantidade efetiva" da forma que é usado neste contexto refere-se a uma quantidade de ácido obeticólico (*por exemplo*, um ligante de ativação de FXR) que produz um efeito terapêutico agudo ou crônico na administração de dose apropriada. O efeito inclui a prevenção, correção, inibição, ou reversão dos sintomas, sinais e patologia subjacente da enfermidade / condição (*por exemplo*, fibrose do fígado, rim, ou intestino) e complicações relacionadas em qualquer extensão suscetível de ser detectada.

[00252] "Uma quantidade terapeuticamente efetiva" significa a quantidade de ácido obeticólico que, quando administrado a um mamífero para o tratamento de uma enfermidade, é suficiente para realizar esse tratamento da enfermidade. A "quantidade terapeuticamente efetiva" será variável na dependência do ácido obeticólico, da enfermidade e sua gravidade e da idade, peso e outros do mamífero a ser tratado.

[00253] Uma quantidade terapeuticamente efetiva de ácido obeticólico pode ser formulada com um carreador farmaceuticamente

aceitável para administração a um ser humano ou animal. Por essa razão, ácido obeticólico ou suas formulações podem ser administrados, por exemplo, por via oral, parentérica, ou tópica, para proporcionar uma quantidade efetiva do composto. De acordo com concretizações alternativas, o ácido obeticólico preparado de acordo com a presente invenção pode ser usado para revestir ou impregnar um dispositivo médico, *por exemplo*, uma órtese.

[00254] Da forma que é usado neste contexto "efeito farmacológico" abrange efeitos produzidos no paciente que conseguem o propósito pretendido de uma terapia. De acordo com uma concretização, um efeito farmacológico significa que indicações preliminares do paciente a ser tratado são prevenidas, aliviadas, ou reduzidas. Por exemplo, um efeito farmacológico será um que resultará na prevenção, alívio ou redução de indicações preliminares em um paciente tratado. De acordo com outra concretização, um efeito farmacológico significa que distúrbios ou sintomas das indicações preliminares do paciente que está sendo tratado são prevenidas, aliviadas ou reduzidas. Por exemplo, um efeito farmacológico será aquele que resulta na prevenção ou redução das indicações preliminares em um paciente tratado.

[00255] A invenção também compreende ácido obeticólico rotulado isotopicamente, ou sais, solvato, ou conjugados de aminoácidos farmaceuticamente aceitáveis do mesmo, que são identicos àqueles recitados nas fórmulas da invenção e seguintes, mas para o fato de que um ou mais átomos sejam substituídos por um átomo que é dotado de uma massa atômica ou número de massa diferente da massa atômica ou número de massa mais comumente encontrado na natureza. Exemplos de isótopos que podem ser incluídos dentro do ácido obeticólico, ou sais, solvato, ou conjugados de aminoácidos dos mesmos farmaceuticamente aceitáveis incluem isótopos de

hidrogênio, carbono, nitrogênio, flúor, tais como ^3H , ^{11}C , ^{14}C e ^{18}F .

[00256] Ácido obeticólico, ou sais, solvatos, ou conjugados de aminoácidos do mesmo farmaceuticamente aceitáveis que contêm os isótopos mencionados anteriormente e / ou outros isótopos de outros átomos estão dentro do escopo da presente invenção. Isotopically-labeled ácido obeticólico isotopicamente rotulado, ou sais, solvatos, ou conjugados de aminoácidos do mesmo farmaceuticamente aceitáveis, por exemplo, aqueles dentro dos quais isotópos radioativos, tais como ^3H , ^{14}C , são incluídos, são de utilidade em fármacos e / ou ensaios de distribuição de tecido de substrato. Isótopos tritiados, ou seja, ^3H , e carbono-14, ou seja, ^{14}C , são particularmente preferidos pela sua facilidade de preparação e detectabilidade. Além disso, a substituição por isótopos mais pesados tais como deutério, ou seja, ^2H , pode proporcionar determinadas vantagens terapêuticas resultantes da maior estabilidade metabólica, por exemplo, increased in vivo half-life ou reduced dosage requirements and, hence, may be preferred in some circumstances, ácido obeticólico isotopicamente rotulado, ou sais, solvatos, ou conjugados de aminoácidos do mesmo farmaceuticamente aceitáveis podem ser de uma maneira geral preparados por meio da realização dos procedimentos expostos nos Esquemas e / ou nos Exemplos da invenção, pela substituição de um reagente isotopicamente rotulado facilmente disponível por um reagente não isotopicamente rotulado. De acordo com uma concretização, ácido obeticólico, ou sais, solvatos, ou conjugados de aminoácidos dos mesmos farmaceuticamente aceitáveis não são isotopicamente rotulados. De acordo com uma concretização, ácido obeticólico deuterizado é de utilidade para ensaios bioanalíticos. De acordo com outra concretização, ácido obeticólico, ou sais, solvatos, ou conjugados de aminoácidos do mesmos farmaceuticamente aceitáveis são rádio-rotulados.

[00257] "Isômeros Geométricos" significa os diastereômeros que devem sua existência à rotação impedida em torno de ligações duplas. Estas configurações são diferenciadas nos seus nomes pelos prefixos *cis* e *trans*, ou *Z* bem como *E*, que indica que os grupos estão no mesmo ou no lado oposto da ligação dupla na molécula de acordo com as regras Cahn-Ingold-Prelog.

[00258] "Solvatos" significa formas de adição de solventes que contêm quantidades de solvente sejam elas estequiométricas ou não estequiométricas. O ácido obeticólico pode ter uma tendência a prender uma relação molar fixa de moléculas de solvente no estado sólido cristalino, formando deste modo um solvato. Se o solvente for água o solvato formado é compreendido por um hidrato, quando o solvente é álcool, o solvato formado é compreendido por um alcoolato. Os hidratos são formados pela combinação de uma ou mais moléculas de água com uma das substâncias em que a água retém o seu estado molecular na forma de H_2O , sendo essa combinação capaz de formar um ou mais hidratos. Adicionalmente, os compostos da presente invenção, por exemplo, os sais dos compostos, podem existir na forma seja hidratada ou não hidratada (o anidro) ou os solvatos com outras moléculas de solventes. Exemplos não limitativos de hidratos incluem monoidratos, diidratos, e assemelhados. Exemplos não limitativos de solvatos incluem os solvatos de etanol, os colvatos de acetona, e assim por diante.

[00259] "Tautômeros" refere-se aos compostos cujas estruturas diferem acentuadamente na disposição dos átomos, mas que existem em equilíbrio fácil e rápido. Deve ser compreendido que o ácido obeticólico pode ser descrito como diferentes tautômeros. Deverá ser igualmente compreendido que quando o ácido obeticólico e intermediários sintéticos da invenção são dotados de formas tautoméricas, todas as formas tautoméricas devem ser consideradas

como incluídas dentro do escopo da invenção, e a nomenclatura de ácido obeticólico não exclui qualquer forma de tautômero. O ácido obeticólico e intermediários sintéticos da invenção podem existir em civersas formas tautiméricas, incluindo a ceto-enol. Por exemplo, no tautomerismo ceto-enólico ocorre uma mudança simultânea de elétrons e um átomo de hidrogênio. Os tautômeros existem na forma de misturas de um conjunto tautomérico em solução. Na forma sólida, usualmente ocorre a predominância de um tautômero. Mesmo que possa ser descrito um tautômero, a presente invenção inclui todos os tautômeros dos presentes compostos.

[00260] Por essa razão, deverá ser compreendido que os isômeros decorrentes de átomos de carbono assimétricos (*por exemplo*, todos os enantiômeros e diastereômeros) estão incluídos dentro do escopo da invenção, a não ser que de outro modo indicado. Esses isômeros podem ser obtidos na forma substancialmente pura por meio de técnicas de separação clássicas e por meio de spintese controlada de forma estereoquímica. Além disso, as estruturas e outros compostos e porções discutidos no presente pedido também incluem todos os seus tautômeros. Onde for apropriado, os alquenos podem incluir a geometria E- ou Z. O ácido obeticólico e intermediários sintéticos podem existir na forma estereoisomérica e, por essa razão, podem ser produzidos na forma de estereoisômeros individuais ou as suas misturas.

[00261] Uma "composição farmaceutica" é uma formulação que contém ácido obeticólico em uma forma adequada para a administração a um paciente. De acordo com uma concretização, a composição farmaceutica está na forma a granel ou na forma de dosagem unitária. Pode ser vantajoso formular as composições na forma de dosagem unitária para facilidade de administração e uniformidade de dosagem. Da forma que é usado neste contexto a

forma de dosagem unitária refere-se a unidades fisicamente distintas adequadas como dosagens unitárias para o paciente a ser tratado; com cada unidade contendo uma quantidade predeterminada de reagente ativo calculada de forma a produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o carreador farmacêutico requerido. As especificações para as formas de dosagens unitárias da invenção são ditadas e diretamente dependentes das características únicas do reagente ativo e do efeito terapêutico particular a ser alcançado, e pelas limitações inerentes na técnica de formação de composições de tais agentes ativos para o tratamento de pessoas.

[00262] A forma de dosagem unitária é qualquer uma de uma variedade de formas, incluindo, por exemplo, uma cápsula, uma bolsa IV, um comprimido, uma única bomba de um inalador de aerossol, ou um frasco. A quantidade de ácido obeticólico (*por exemplo*, uma formulação de ácido obeticólico, ou um sal, solvato, ou conjugado de aminoácidos farmaceuticamente aceitável do mesmo) em uma dose unitária da composição é uma quantidade efetiva e é variada de acordo com o tratamento particular envolvido. Uma pessoa versada na técnica compreenderá que é por vezes necessário fazer variações de rotina para a dosagem na dependência da idade e condição do paciente. A dosagem também será dependente da via de administração. Entra em consideração uma variedade de vias, incluindo oral, pulmonar, retal, parenteral, transdérmica, subcutânea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, por inalação, bucal, sublingual, intrapleural, intratecal, intranasal, e outras assemelhadas. A forma de dosagem para a administração tópica ou transdérmica de um composto desta invenção inclui pós, sprays, unguentos, pastas, cremes, loções, géis, soluções, emplastos e inalantes. De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico é misturado sob condições estéreis com um carreador farmaceuticamente aceitável, e com

quaisquer preservativos, tampões, ou propelentes que sejam necessários.

[00263] O termo “dose instantânea” refere-se às formulações do ácido obeticólico que são formas de dosagem de dispersão rápida.

[00264] O termo "liberação imediata" é definido como uma liberação de ácido obeticólico a partir de uma forma de dosagem em um período de tempo relativamente rápido, de uma maneira geral até cerca de 60 minutos. O termo "liberação modificada" é definido de modo a incluir liberação retardada, liberação prolongada, e liberação pulsada. O termo "liberação pulsada" é definido como uma série de liberações do fármaco a partir de uma forma de dosagem. O termo "liberação sustentada" ou "liberação prolongada" é definido como uma liberação contínua de ácido obeticólico a partir de uma forma de dosagem durante um período prolongado.

[00265] Um “sujeito” inclui mamíferos, *por exemplo*, seres humanos, animais domésticos (*por exemplo*, cães, gatos, aves, e outros assemelhados), animais de criação (*por exemplo*, vacas, ovelhas, porcos, cavalos, galinhas, e assemelhados) e animais de laboratório (*por exemplo*, ratos, camundongos, cobaias, pássaros, e outros assemelhados). De acordo com uma concretização, o sujeito é um ser humano. De acordo com uma concretização, o sujeito é uma criança humana (por exemplo, entre cerca de 30 kg até cerca de 70 kg). De acordo com uma concretização, a criança humana teve um procedimento de Kasai, onde o procedimento de Kasai efetivamente dá-lhes um conduto biliar funcional quando eles nascem seja sem um conduto biliar ou com ele completamente bloqueado no nascimento.

[00266] Da forma que é usada neste contexto, a frase “farmaceuticamente aceitável” refere-se àqueles compostos, materiais, composições, carreadores, e / ou formas de dosagem que são, dentro do escopo de um parecer médico, adequados para o uso em contacto

com os tecidos dos seres humanos e animais sem toxicidade excessiva, irritação, resposta alérgica, ou outro problema ou complicações, comensurável com uma proporção razoável de benefício / risco.

[00267] "Excipiente farmaceuticamente aceitável" significa um excipiente que é de utilidade na preparação de uma composição farmacêutica que é de uma maneira geral segura, não tóxica e nem biologicamente ou de outro modo indesejável, e inclui excipiente que é aceitável para o uso veterinário bem como para o uso farmacêutico humano. Um " excipiente farmaceuticamente aceitável " da forma que é utilizado neste relatório e nas reivindicações inclui tanto um como mais do que um desses excipientes.

[00268] Muito embora seja possível administrar o ácido obeticólico diretamente sem qualquer formulação, o ácido obeticólico é usualmente administrado na forma de formulações farmacêuticas que compreendem um excipiente farmaceuticamente aceitável e ácido obeticólico. Estas formulações podem ser administradas por meio de uma variedade de vias incluindo oral, bucal, retal, intranasal, transdérmica, subcutânea, intravenosa, intramuscular, e intranasal. As formulações orais de ácido obeticólico são descritas adicionalmente neste contexto sob a seção intitulada "Formulação Oral e Administração".

[00269] De acordo com uma concretização, o ácido obeticólico pode ser administrado de forma transdérmica. A fim de administrá-lo transdermicamente, é necessário um dispositivo de distribuição transdérmica ("emplastro"). Esses emplastos transdérmicos podem ser usados para proporcionarem a infusão contínua ou descontínua de um composto da presente invenção em quantidades controladas. A construção e utilização de emplastris transdérmicos para a distribuição de agentes farmacêuticos é amplamente conhecida na técnica. Vide,

por exemplo, a patente U.S. Nº. 5,023,252, Esses emplastros podem ser construídos para a distribuição contínua, pulsátil, ou conforme demanda dos agentes farmacêuticos.

[00270] De acordo com uma concretização da presente invenção, proporciona-se uma formulação farmacêutica que compreende pelo menos ácido obeticólico tal como descrito anteriormente em uma formulação adaptada para administração bucal e / ou sublingual, ou nasal. Esta concretização proporciona a administração de ácido obeticólico de uma maneira que evita complicações gástricas, tais como o metabolismo de primeira passagem pelo sistema gástrico e / ou através do fígado. Esta via de administração também pode reduzir os tempos de adsorção, proporcionando o início mais rápido do benefício terapêutico. Os compostos da presente invenção podem proporcionar perfis de solubilidade particularmente favoráveis para facilitar formulações sublinguais / bucais. Essas formulações tipicamente requerem concentrações relativamente altas dos ingredientes ativos para distribuir quantidades suficientes dos ingredientes ativos para a área de superfície limitada da mucosa sublingual / bucal durante os períodos relativamente curtos que a formulação está em contacto com a área de superfície, para permitir a absorção do ingrediente ativo. Deste modo, a atividade muito alta do ácido obeticólico, combinada com a sua alta solubilidade, facilita a sua adequação para a formulação sublingual / bucal.

[00271] O ácido obeticólico é formulado de preferência em uma forma de dosagem unitária, cada unidade contendo entre cerca de 0,1 mg até cerca de 1500 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 100 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 50 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 30 mg. De

acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 4 mg até cerca de 26 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 5 mg até cerca de 25 mg. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 2 mg. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1,2 mg até cerca de 1,8 mg. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1,3 mg até cerca de 1,7 mg. De acordo com uma concretização, a formulação compreende cerca de 1,5 mg. O termo "forma de dosagem unitária" refere-se a unidades fisicamente distintas adequadas como dosagens unitárias para pacientes humanos e outros mamíferos, com cada unidade contendo uma quantidade predeterminada de material ativo calculada de modo a produzir o efeito terapêutico desejado, em associação com um excipiente farmacêutico adequado tal como descrito anteriormente neste contexto.

[00272] Ácido obeticólico é de uma maneira geral efetivo sobre uma ampla gama de dosagens. Por exemplo, as dosagens por dia normalmente caem dentro da faixa de cerca de 0,0001 até cerca de 30 mg/kg de peso corpóreo. No tratamento de seres humanos adultos, a faixa de cerca de 0,1 até cerca de 15 mg / kg / dia, em uma única dose ou dividida, é especialmente preferida. Na concretização, a formulação compreende cerca de 0,1 mg até cerca de 1500 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 100 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 50 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 1 mg até cerca de 30 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 4 mg até cerca de 26 mg. De acordo com outra concretização, a formulação compreende cerca de 5 mg até cerca de 25 mg. De acordo com uma concretização, a

formulação comprehende cerca de 1 mg até cerca de 2 mg. De acordo com uma concretização, a formulação comprehende cerca de 1,2 mg até cerca de 1,8 mg. De acordo com uma concretização, a formulação comprehende cerca de 1,3 mg até cerca de 1,7 mg. De acordo com uma concretização, a formulação comprehende cerca de 1,5 mg. Não obstante, será comprehendido que a quantidade de ácido obeticólico efetivamente administrada será determinada por um medico, à luz das circunstâncias relevantes, incluindo a condição a ser tratada, a via de administraçāi selecionada, a forma de ácido obeticólico administrada, a idade, o peso, e a resposta do paciente individual, e a gravidade dos sintomas do paciente, e por essa razão as faixas de dosagens mencionadas retro não devem ser consideradas como limitativas do escopo da invenção em hipótese alguma. De acordo com alguns casos níveis de dosagem inferiores ao limite inferior da faixa mencionada anteriormente podem ser mais do que adequados, ao mesmo tempo que em outros casos doses ainda maiores poderão ser empregadas sem causarem qualquer efeito colateral prejudicial, a partir do momento que essas dosagens maiores sejam primeiro divididas em várias doses menores para administração ao longo do dia.

[00273] “Processo da invenção” refere-se a um método para preparar ácido obeticólico na forma descrita neste contexto, em que o método é comprehendido de ácido obeticólico cristalino.

[00274] “Fibrose” refere-se a uma condição que envolve o desenvolvimento de tecido conectivo fibroso excessivo, *por exemplo*, tecido cicatricial, em um tecido ou órhāo. Essa geração de tecido cicatricial pode ocorrer em resposta a infecção, inflamação, ou lesão de órgão devida a uma enfermidade, trauma, toxicidade química, e assim por diante. A fibrose pode desenvolver-se em uma variedade de diferentes tecidos e órgãos, incluindo o fígado, rim, intestino,

pulmão, coração, e assim por diante.

[00275] O termo “inibir” ou “inibição”, da forma que é usado neste contexto, refere-se a qualquer efeito positivo capaz de ser detectado no desenvolvimento ou progressão de uma enfermidade ou condição. Esse efeito positivo pode incluir o retardamento ou prevenção do início de pelo menos um sintoma ou sinal da enfermidade ou condição, alívio ou reversão do(s) sintoma(s) ou sinal(s), e retardando ou prevenção do agravamento do(s) sintoma(s) ou sinal(s).

[00276] Da forma que é usado neste contexto, uma “condição colestática” refere-se a qualquer enfermidade ou condição em que a excreção biliar a partir do fígado é prejudicada ou bloqueada, o que pode ocorrer tanto no fígado quanto nos condutos biliares. A colestase intrahepática e colestase extrahepática são os dois tipos de condições colestáticas. A colestase Intrahepática (que ocorre no interior do fígado) é mais comumente observada em cirrose biliar primária, colangite esclerosante primária, septicemia (infecção generalizada), hepatite alcoólica aguda, toxicidade de fármacos, nutrição parenteral total (sendo alimentados por via intravenosa), fibrose cística maligna, e gravidez. A colestase extrahepática (que ocorre no lado externo do fígado) pode ser causada por tumores do conduto biliar, estenoses, cistos, divertículos, formação de pedra no conduto biliar comum, pancreatite, tumor ou pseudocisto pancreático, e compressão decorrente de uma massa ou tumor em um órgão próximo.

[00277] Os sintomas clínicos e sinais de uma condição colestática incluem: coceira (prurite), fadiga, pele ou olhos ictéricos, incapacidade em digerir determinados alimentos, náusea, vômito, fezes claras, urina escura, e dor abdominal no quadrante superior direito. Um paciente com uma condição colestática pode ser diagnosticado e acompanhado clinicamente com base em um conjunto de testes laboratoriais clínicos

padrão, incluindo medição dos níveis de fosfatase alcalina, γ -glutamil transpeptidase (GGT), 5' nucleotidase, bilirrubina, ácidos biliares, e colesterol em um soro sanguíneo do paciente. De uma maneira geral, um paciente é diagnosticado como tendo uma condição colestática se os níveis de soro de todos três marcadores de diagnósticos de fosfatase alcalina, GGT, e 5' nucleotidase, são considerados anormalmente elevados. O nível de soro normal destes marcadores pode variar em certo grau de laboratório para laboratório e de procedimento para procedimento, na dependência do protocolo de teste. Deste modo, um médico será capaz de determinar, com base no procedimento de laboratório e teste específico, qual é um nível de sangue anormalmente elevado para cada um dos marcadores. Por exemplo, um paciente que sofre de uma condição colestática de uma maneira geral tem mais do que cerca de 125 IU/l fosfatase alcalina, mais do que cerca de 65 IU/l de GGT, e mais do que cerca de 17 NlL 5' nucleotidase no sangue. Por causa da variabilidade no nível de marcadores do soro, uma condição colestática pode ser diagnosticada com base nos níveis anormais destes três marcadores adicionalmente a pelo menos um dos sintomas mencionados anteriormente, tais como coceira (prurite).

[00278] O termo “órgão” refere-se a uma estrutura diferenciada (como em um coração, pulmão, rim, fígado, e *assemelhado*) que consiste de células e tecidos e que desempenha determinada função específica em um organismo. Este termo também abrange partes corpóreas que desempenham uma função ou cooperam em uma atividade (*por exemplo*, um olho e estruturas relacionadas que compõem os órgãos visuais). O termo “órgão” abrange ainda qualquer estrutura parcial de células e tecidos diferenciados que é potencialmente capaz de se desenvolver em uma estrutura completa (*por exemplo*, um lóbulo ou uma seção de um fígado).

[00279] Todas as publicações e documentos de patentes citados neste contexto ficam aqui incluídos por referência como se cada um desses documentos ou publicações fosse especificamente e individualmente indicado para ser incluído neste contexto por referência. A citação de publicações e documentos de patentes não pretende ser uma admissão de que qualquer um deles é pertinente como técnica anterior, nem constitui qualquer admissão quanto ao conteúdo ou dados dos mesmos. A invenção tendo sido até agora descrita por meio de descrição escrita, aqueles versados na técnica reconhecerão que a invenção pode ser praticada segundo uma variedade de concretizações e que a descrição seguinte e Exemplos adiante têm o propósito de ilustração e não de limitação das reivindicações que se seguem.

[00280] No relatório, as formas do singular também incluem o plural, a não ser que o contexto claramente determine de outro modo. A não ser que de outro modo definido, todos os termos técnicos e científicos usados neste contexto têm o mesmo significado tal como é comumente compreendido por aqueles versados na técnica à qual esta invenção pertence. No caso de conflito, o presente relatório será determinante.

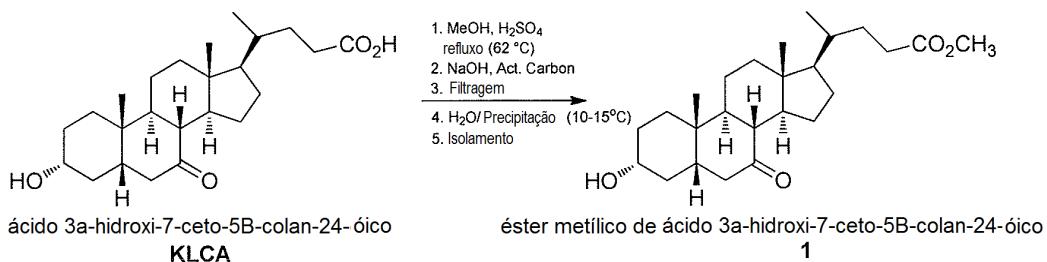
[00281] Todas as percentagens e proporções usadas neste contexto, a não ser que de outro modo indicado, são em peso.

EXEMPLOS

EXEMPLO 1: Síntese de ácido obeticólico

[00282] Os números dos compostos usados neste procedimento sintético referem-se àqueles encontrados no Esquema 1 e à reação que corresponde a cada uma das etapas.

Etapa 1 – Preparação de éster metílico de ácido 3 α -hidroxi -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico (1):

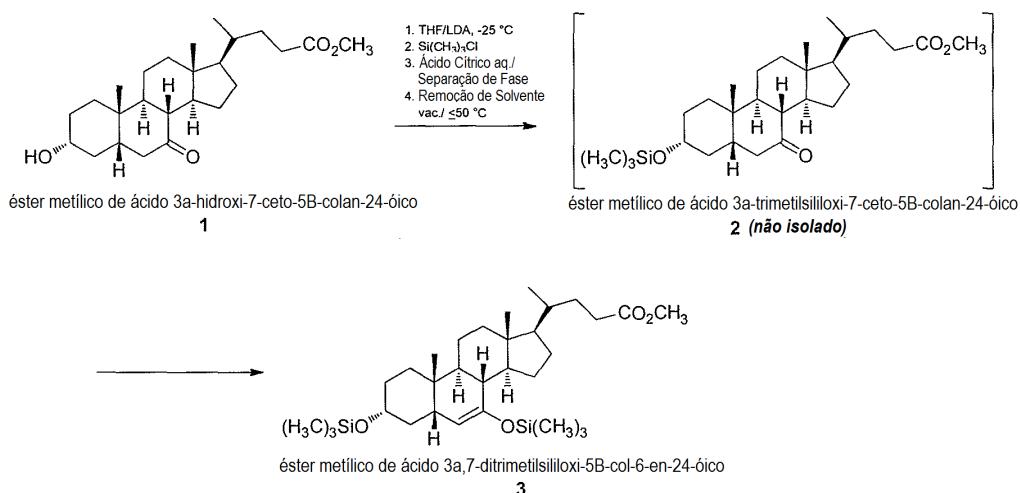


Reação 1: Esterificação de ácido C-24 carboxílico de ácido 7-ceto litocólico (KLCA)

[00283] Ácido 3a-hidroxi-7-ceto-5 β -olan-24-óico (KLCA; 500,0 g, 1,28 mol) foi esterificado utilizando-se álcool metílico (2500 ml), na presença de catálise ácida (ácido sulfúrico, 1,0 ml) e foi aquecido para 62°C até 64°C durante aproximadamente 3 horas, para se proporcionar éster metílico de ácido 3 α -hidroxi-7-ceto-5 β -olan-24-óico (1). Nesta reação, the álcool metílico funciona como o reagente de metilação, da mesma forma que como o solvente de reação. Para o trabalho, o valor do pH foi ajustado com solução de hidróxido de sódio (2N) para pH 7,0 até 7,5, A solução foi tratada com carbono ativado (25 g) durante aproximadamente 30 minutos e filtrada para se removerem os sólidos de carbono. De uma forma alternativa, a solução não foi tratada com carbono ativado. Para se precipitar o produto, água (625 ml) sob 10°C até 15°C foi adicionada durante 15 minutos e adicionou-se material de semeadura. A mistura de reação foi submetida a agitação durante 1 hora sob 10°C até 15°C. Outra porção de água (1875 ml) foi adicionada durante cerca de 20 até 25 minutos. A suspensão do produto foi submetida a agitação durante 30 minutos sob 10°C até 15°C. O produto foi isolado com uma centrífuga e lavado com uma mistura de metanol e água (1:1, 350 ml). O conteúdo de água do material úmido foi quantificado por meio de Karl Fischer (KF). O material foi submetido a secagem em um secador de tambor sob vácuo atNMT 70°C. O material também pode ser usado na etapa seguinte sem secagem. O rendimento (calculado no produto

seco) é 501,4 g (1,24 mol, 96,8%).

Etapa 2 – Preparação de éster metílico de ácido 3 α ,7 α -ditrimetilsiloxi -5 β -col -6 -en -24 -óico (3):

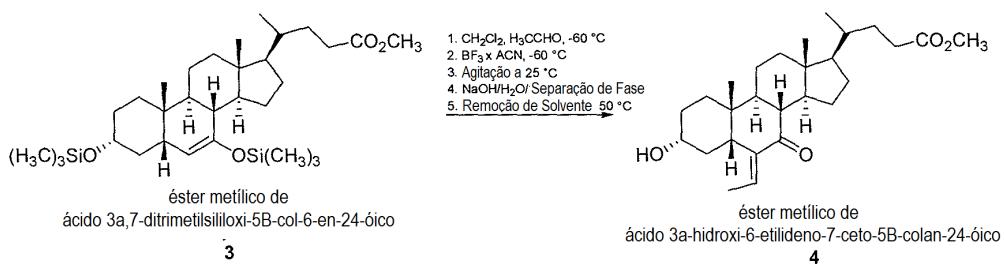


Reação 2: Formação de éter de silenol a partir de éster metílico 7-ceto litocólico

[00284] O composto 1 (60,69 g, 150 mmol, calculado como substância seca), contendo água residual e metanol, foi carregado dentro do reator sob condição inerte e foi dissolvido em tetraidrofuran (THF, 363 ml). A água e metanol foram removidos por meio de destilação azeotrópica repetida sob aproximadamente 65°C e pressão normal. Adicionou-se THF ao resíduo conforme necessário e a destilação foi repetida aproximadamente 4 vezes. A solução remanescente deve ser dotada de um teor de água final de ≤ 0,05% (Titulação de Karl Fischer). Esta solução foi pré-refrigerada para -20 °C até -25 °C e então clorotrimetilsilano (73,33 g, 675 mmol, 4,5 equivalentes) foi adicionado em cerca de 30 até 45 minutos. Sob atmosfera de nitrogênio, carregaram-se diisopropil amida de lítio (solução a 28% de LDA, 900 mmol) e THF (504 ml) em um reator inerte separado e refrigerou-se para -20°C até -25°C. A solução seca, refrigerada, do composto 1, THF (84 ml), e clorotrimetilsilano foi carregada para dentro da solução de LDA sob -20°C até -25°C. Então, a mistura de reação foi submetida a agitação durante

aproximadamente 2 horas. Para a operação, a mistura de reação foi adicionada a uma solução aquosa pré-refrigerada de ácido cítrico (34,6 g em 300 ml) sob 2°C até 8°C. Depois da adição, a fase aquosa foi separada e descartada. A partir da fase orgânica, o líquido foi removido por meio de destilação a vácuo sob uma máxima de 50°C. O resíduo isolado continha o composto 3 e alguns solventes residuais e foi usado “nessa mesma forma” na etapa seguinte.

Etapa 3 – Preparação de éster metílico de ácido 3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico (4):

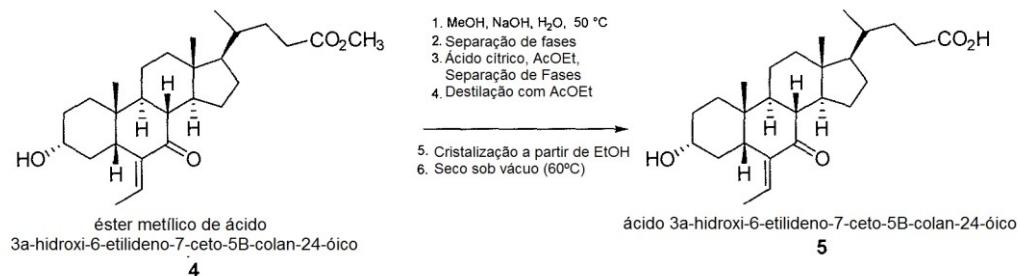


Reação 3: Condensação de aldol do éter de silenol e acetaldeído

[00285] A solução do composto 3 (164,68 g, 300 mmol, calculado como substância seca) em THF foi carregada em um reator inerte. Sob uma temperatura máxima de 50°C, quantidades residuais de THF foram destiladas sob vácuo. A fim de prosseguir, o teor de água no resíduo foi limitado a $\leq 0,5\%$ (titulação de Karl Fischer). O resíduo foi então dissolvido em diclorometano (200 ml) e pré-refrigerado para -60°C até -65°C. Adicionou-se então acetaldeído (33,8 ml, 600 mmol). Sob atmosfera de nitrogênio, carregaram-se diclorometano (700 ml) e trifluoreto de boro (solução a 16%, em peso em acetonitrila, 318 g, 750 mmol) complexo de acetonitrila em um reator separado e então refrigerou-se para -60°C até -65°C. Sob -60°C até -65°C, adicionou-se a solução de composto 3 seco. A mistura de reação foi submetida a agitação durante aproximadamente duas horas sob -60°C até -65°C, aquecida para 23°C até 28°C, submetida a agitação durante aproximadamente outras 3 horas e refrigerada para aproximadamente

2°C até 10°C para a hidrólise / processamento. Para o processamento, a solução refrigerada proveniente do reator foi adicionada a uma solução aquosa pré-refrigerada de 50%, em peso, de soda cáustica (40 ml) e 660 ml de água. Depois de cerca de 10 minutos de agitação intensa, as fases foram separadas e a camada orgânica (mais baixa) foi transferida para um reator separado. A partir da camada orgânica, o solvente foi removido por meio de destilação sob NMT 50°C na medida do possível. O resíduo, que consistia de o composto 4 e alguns acetonitrilo remanescente e diclorometano, foi descarregado em tambores. O composto 4A, uma mistura de isômeros E/Z também pode ser preparado por meio do procedimento que se descreveu anteriormente para a etapa 3,

Etapa 4 – Preparação de ácido 3 α -hidroxi-6-etylideno-7-ceto-5 β -olan-24-óico (5):



Reação 4: Saponificação de éster C-24.

[00286] O composto 4 (258,37 g, 600 mmol, calculado na forma de substância seca) foi carregado para dentro de um reator unerte. Sob uma temperatura de NMT 50°C, quantidades residuais de solvente foram destiladas sob vácuo. O resíduo foi dissolvido em metanol (360 ml) e água (54 ml) e soda cáustica 50%, em peso, (54 ml) foram adicionados. A mistura de reação foi aquecida para 49°C até 53°C e submetida a agitação sob esta temperatura for pelo menos 2 horas. O pH da mistura de reação é apurado e verificado para ser > 12, Se o pH é < 12, acrescenta-se NaOH adicional e o tempo de reação de 2 horas é repetido. A solução foi diluída com água (1000 ml) e a

temperatura foi ajustada para 25°C até 35°C. Para o processamento, deixou-se a mistura de reação repousar durante pelo menos 30 minutos. As fases foram separadas e a camada aquosa mais baixa foi transferida para um reator separado e a camada orgânica foi descartada. Acetato de etila (1400 ml) e ácido cítrico aquoso (244 g em 480 ml) foram adicionados com agitação intensa à camada aquosa. A mistura de reação foi submetida a agitação sob 25°C até 35°C durante 10 minutos. As fases foram separadas e camada aquosa mais baixa foi descartada. Acetato de etila foi destilado a partir da camada orgânica e substituídos por acetato de etila (800 ml). Esta operação foi repetida até o teor de água do destilado ser NMT 1% ou até ser alcançado um ponto de ebulição constante. A suspensão foi refrigerada para 20°C até 25°C, submetida a agitação durante 30 minutos, e então o produto foi isolado e lavado com acetato de etila (100 ml, 3 até 4 vezes). A secagem foi realizada em um secador de tambor sob vácuo sob aproximadamente 60°C. O rendimento é de 118,71 g (47,5% a partir de KLCA) do composto bruto 5. O composto 4A, uma mistura de isômeros E/Z também pode ser usada como material de partida para produzir o composto 5A, uma mistura de isomeros E/Z.

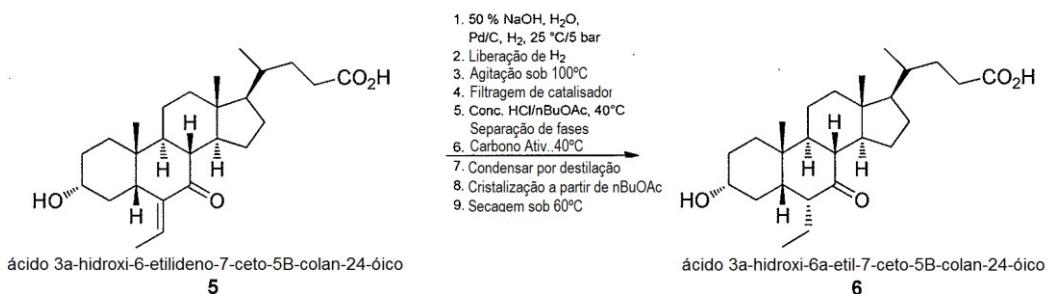
[00287] O composto bruto 5 foi então cristalizado utilizando-se etanol. O composto bruto para cristalização também pode ser uma mistura de isômeros E/Z, composto 5A. Etanol (390 até 520 ml) e composto bruto 5 (130 g) foram carregados em um reator inerte. Para dissolver o composto bruto 5, a mistura de reação foi aquecida para refluxo. Então, a mistura de reação foi refrigerada em uma rampa de resfriamento controlado para 15°C até 20°C durante um período de 3 até 5 horas por meio de um perfil linear. O composto cristalino 5A foi isolado utilizando-se uma centrífuga e então lavado com acetato de etila (50-100 ml, 2 vezes). Secagem foi realizada no secador de

tambor sob vácuo e sob aproximadamente 60°C. Isto conduziu a 85,8 g (66%) de rendimento. Recolheu-se uma amostra para ensaio de medição, pureza, e umidade do composto purificado 5. O composto purificado 5 é compreendido pelo isômero E de ácido 3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico. Vide o Exemplo 2 para plenos detalhes com relação à identificação e caracterização do composto purificado 5. O isolamento do composto purificado 5, o isômero E, pode ser opcional. Os isômeros E e Z são dotados de solubilidades diferentes. O isômero E é menos solúvel e cristalizável de forma tal que o isômero Z pode ser lavado.

[00288] Um método alternativo para preparar o composto 5 é o que se segue. O composto 4 (111,96 g) foi carregado para dentro do reator inerte. Sob um máximo de 50°C quantidades residuais de solvente (por exemplo, acetonitrila, diclorometano) foram destiladas sob vácuo. O resíduo foi dissolvido em metanol (156 ml) e refrigerado até cerca de 10°C. Água corrente (23,4 ml) e soda cáustica 50 % (23,4 ml) foram adicionadas. A mistura de reação foi submetida a agitação durante cerca de quatro horas sob cerca de 20°C até cerca de 25°C. A solução foi diluída com água corrente (433 ml) e tolueno (144 ml) foi adicionado. Depois de agitação, as fases foram separadas e a camada mais baixa, aquosa, foi transferida para dentro do reator inerte. A camada orgânica foi descartada. Éster etílico de ácido acético (607 ml) e uma solução de ácido cítrico (105,7 g em 208 ml de água) foram adicionados durante agitação intensa para a camada aquosa. As fases foram separadas e a camada aquosa, mais baixa, foi descartada. A camada orgânica foi transferida para dentro do reator inerte. A partir da camada orgânica éster etílico de ácido acético foi destilado e substituído por éster etílico de ácido acético (347 ml). De acordo com uma concretização, esta operação foi repetida com éster etílico de ácido acético (173 ml) até o teor de água

do destilado ser não mais do que cerca de 1% ou até ser atingido um ponto de ebulição constante. A presente suspensão foi refrigerada para 20°C até 25°C. O composto 5 foi isolado e lavado com éster etílico de ácido acético (3 até 4 vezes cada uma de 43 ml) com centrífuga inerte. Realizou-se secagem no secador de tambor sob vácuo e sob aproximadamente 60°C (rendimento de 64,8% com base no composto 1). O composto 4A (uma mistura de isômeros E/Z) também pode ser usado como material de partida para a etapa 4 para produzir o composto 5A (uma mistura de isômeros E/Z).

Etapa 5 – Preparação de ácido 3 α -hidroxi -6 α -etil -7 -ceto -5 β -olan -24-óico (6):

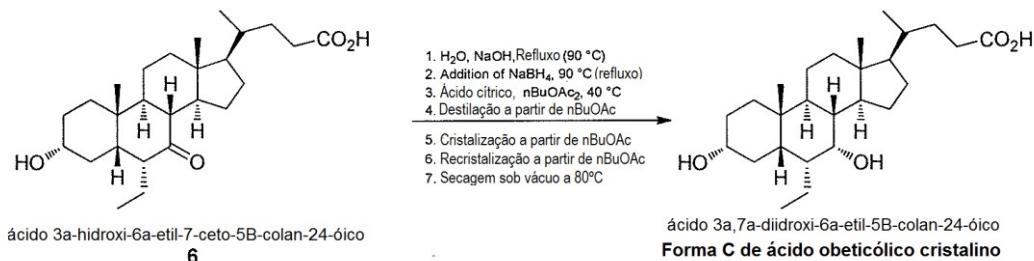


Reação 5: Hidrogenação da porção de 6-etylideno

[00289] Uma mistura de composto purificado 5 (110 g, 264 mmol), água (1100 ml), solução de soda cáustica (35,8 ml, 682 mmol) sob 50% e catalisador de paládio (Pd/C, 11 g) foi carregada em um reator de hidrogenação. A temperatura foi ajustada para 25°C até 35°C e o reator foi lavado três vezes com nitrogênio (2 bar) e três vezes com hidrogênio (1 bar). Estes valores de pressão foram dados em relação à pressão ambiente (= 0 bar). Uma pressão de 5 bar foi aplicada e a mistura de reação foi aquecida para 100°C (para isomerização para a posição alfa) durante um período de 1,5 horas e então submetida a agitação durante 3 horas ao mesmo tempo que se mantinha a pressão de hidrogênio sob 4,5 até 5 bar. A mistura de reação foi então refrigerada para 40°C até 50°C. Para o processamento, o Pd/C é filtrado. Ao filtrado adicionaram-se acetato de n-butila (1320 ml) e

ácido clorídrico (67,8 ml, 815 mmol, 37%). A fase aquosa foi separada e descartada. A fase orgânica foi tratada com carbono ativado (5,5 g) durante cerca de 10 minutos sob 40 até 50°C. O carbono ativado foi filtrado e o filtrado foi condensado por meio de destilação e a suspensão resultante foi refrigerada para 15°C até 20°C durante um período de 2 até 3 horas. O composto 6 precipitado foi isolado e lavado com acetato de n-butila (160 ml). O produto foi filtrado utilizando-se um filtro de pressão. A secagem foi realizada no filtro de pressão sob vácuo sob aproximadamente 60°C. Isto conduziu a 89,8 g (81,2%) de composto 6. O composto 5A, uma mistura de isômeros E/Z, pode ser utilizado na etapa 5 para preparar o composto 6.

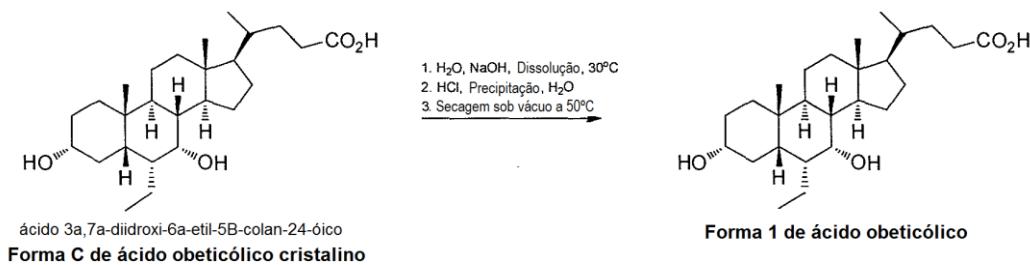
Etapa 6 – Preparação de ácido 3 α ,7 α -diidroxi -6 α -etyl -5 β -olan -24 -óico (ácido obeticólico):



Reação 6: Redução seletiva do grupo 7-ceto para o grupo 7 α -hidroxi [00290] Uma mistura de compound 6 (86 g, 205,4 mmol), água (688 ml) e solução de hidróxido de sódio a 50% (56,4 ml) foi levada a reagir com boroidreto de sódio (7,77 g, 205,4 mmol) em uma mistura de 50%, em peso, de solução de hidróxido de sódio (1,5 ml) e água (20 ml) sob 90°C até 105°C. A mistura de reação foi aquecida para refluxo e submetida a agitação durante pelo menos 3 horas. Para o processamento, depois de a reação estar completa, a mistura de reação foi refrigerada para aproximadamente 80°C e transferida para um reator refrigerado. Sob 30°C até 50°C, acetato de n-butila (860 ml) e ácido cítrico (320,2 g, anidro) em água (491 ml) foram adicionados. A fase aquosa foi separada e descartada depois de verificação do

valor do pH para certificação de que o mesmo era ácido. A fase orgânica foi transferida e destilada. O resíduo foi diluído com acetato de n-butila e foi refrigerado lentamente para 15°C até 20°C e o ácido obeticólico bruto foi filtrado utilizando-se uma centrífuga. O produto úmido foi cristalizado a partir de acetato de n-butila. O produto ácido obeticólico foi isolados e lavado com acetato de n-butila (43 ml, 4 vezes) em um filtro de pressão inerte. A secagem foi realizada no filtro de pressão inerte sob vácuo sob aproximadamente 80°C. Isto conduzir a 67,34 g (77,9%) de ácido obeticólico cristalino. Vide Exemplo 3 para detalhes completos com relação à identificação e caracterização do ácido obeticólico cristalino.

Etapa 7 – Preparação da Forma 1 de ácido obeticólico:



Reação 7: Preparação da Forma 1 de ácido obeticólico a partir da Forma C de ácido obeticólico cristalino

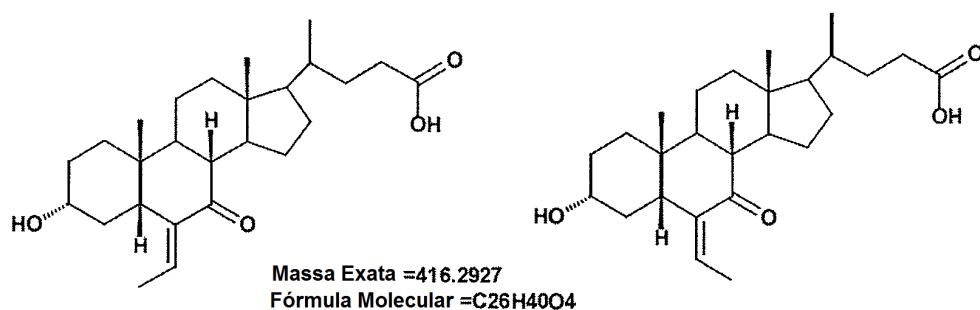
[00291] A Forma C de ácido obeticólico cristalino (58 g) foi dissolvida em água (870 ml) e solução de soda cáustica (50%, 8,7 ml, 166 mmol) sob 30°C até 40°C. A mistura foi submetida a agitação até todos os sólidos serem dissolvidos. O produto foi precipitado utilizando-se o processamento exposto em seguida. A solução de ácido obeticólico foi adicionada lentamente por intermédio de um filtro para ácido clorídrico diluído (37%, 16,05 ml, 193 mmol) em água (870 ml) sob 30°C até 40°C. A suspensão foi submetida a agitação durante aproximadamente 30 minutos sob 30°C até 40°C e então refrigerada para não mais do que (NMT) 20°C. O produto foi isolado e lavado com água (465 ml, 6 vezes) no filtro de pressão inerte. Realizou-se a

secagem no filtro de pressão sob vácuo sob uma temperatura de NMT 50°C. Isto conduziu a 53,2 g (91,7%) da Forma 1 de ácido obeticólico.

EXEMPLO 2: Caracterização de ácido E -3 α -hidroxi -6 -etilideno -7 -ceto -5 β -olan -24 -óico (5)

[00292] O composto 5 é o intermediário chave para o processo do presente pedido. O composto foi isolado a partir de acetato de etila e foi então cristalizado a partir de etanol. O composto 5 altamente puro permite a produção eficiente e de alto rendimento do composto 6 e subsequentemente da Forma C de ácido obeticólico cristalino e da Forma 1 de ácido obeticólico, incluindo o ácido obeticólico substancialmente puro.

[00293] A estrutura do composto 5 a partir da etapa 4 no Exemplo 1 foi confirmada utilizando-se ^1H NMR, ^{13}C NMR, e massa spec. O produto bruto proveniente da etapa 4 resultou em um produto principal sob o tempo de retenção (RT) de 27,457 min. e um produto minoritário sob RT 28,078 min. no cromatograma de UV gerado pelo método 1 de controle de qualidade por meio de acoplamento de LC / MS. Os dois produtos são os isômeros E/Z do composto 5:



[00294] Estes dois isômeros mostram a mesma massa exata e a mesma fragmentação no espectro de MS/MS. Eles não podem ser diferenciados pelos dados espectrométricos de massa.

[00295] Utilizando-se um método semi-preparatório para isolar os picos dos isômeros E/Z, as estruturas dos isômeros E/Z foram confirmadas utilizando-se uma abordagem de dois estágios. O método 1 de controle de qualidade de HPLC usou um tampão de ácido

fosfórico não volátil e deste modo, não foi possível o acoplamento de LC / MS direto com o tampão não volátil. Testes preliminares para ajustagem do método mostraram que aomente um método de UPLC permitiu números muito elevados de placas para a separação adequada dos isômeros E / Z. A abordagem de dois estágios foi a seguinte: A etapa A foi compreendida pela identificação dos isômeros E/Z em duas amostras com o novo método de UPLC / MS desenvolvido e a etapa B foi compreendida pelo isolamento da fração dos picos dos isômeros E/Z com o método 2 de HPLC e subsequente identificação com o método 1 de UPLC / MS. Os detalhes experimentais dos métodos foram os seguintes:

Tabela C

1, Método UPLC compatível com MS (método 1)	
Instrumento:	Acoplamento de UPLC Accela com LTQ
Coluna:	200 x 2mm Hypersil Gold 1,9 µm
Eluente:	A: Água + 10 mM Amônio formiato + 0,1% Ácido fórmico
Gradiente:	45% B em 20 minutos até 60% B (10 min. isocrático)
Fluxo:	0,4 ml/min., temperatura de coluna 40°C
Detecção:	MS: Íons positivos e negativos de ESI ; UV: PDA
Massa	R=100000 ICR
Amostra:	1 mg / ml em water/acetonitrila (1:1), 3µl/20µl injetado
2, HPLC (método 2)	
Instrumento:	Agilent1100 HPLC (Agilent Technologies)
Coluna:	125 x 4mm Purospher STAR C18 5 Lm
Eluente:	A: Água pH 2,6 com ácido fosfórico B: Acetonitrila
Gradiente:	30% B em 10 minutos até 35% B em 30 minutos até 60% B
Fluxo:	1 ml/min., temperatura da coluna 35°C
Detecção:	UV: DAD 200 – 400 nm (UVA 200 nm)
Amostra:	10 mg / ml em água/acetonitrila (9:1), 25µl injetado

[00296] Os resultados estão ilustrados nas Figuras 1 e 2. As Figuras 1 e 2 são cromatogramas de UPLC UV / MS para “composto bruto 5” (Figura 1) e composto 5 “referência purificada” (Figura 2) obtida em uma coluna de UPLC de alto desempenho. Para a Figura 1, a amostra foi dissolvida sob 1 mg/ml em ACN/H₂O 1:1; 200x2mm Hypersil GOLD R122; LMA:H20+10 mM AF + 0,1% HFo; LMB:ACN; 45%-20-60% (10); 0,4ml/min.; 40°C; UVA=200 nm; volume de injeção 3 µl. Para a Figura 2, a amostra foi dissolvida sob 1 mg/ml em ACN/H₂O; 200x2 mm Hypersil GOLD R122; A: 10 mM AF + 0,1% HFo; B:ACN; 45%-20-60% B(10); 0,4 ml/min.; volume de injeção 20 µl. Tanto em uma amostra como na outra, o peso molecular do componente principal (RT 9,92 min.) e do componente secundário (RT 10,77 min.) foi o mesmo que era esperado e as massas exatas dos dois compostos foram compatíveis com as estruturas proporcionadas conforme ilustradas nas Tabelas D e E de dados da medição de íons positivos e negativos ilustrada em seguida:

Tabela D: Dados da medição de íons positivos

RT (min.)	Íon m/z	Fórmula	Proposta de Estrutura
9,98	417,30008	C ₂₈ H ₄₁ O ₄	M+H Isômero E
		ΔM 0,35 ppm	
	833,59381	C ₅₂ H ₈₁ O ₈	2M +H Isômero E
		ΔM 1,45 ppm	
10,77	850,61938	C ₅₂ H ₈₄ O ₈ N	2M + NH ₄ Isômero E
		ΔM 0,28 ppm	
	417,30023	C ₂₈ H ₄₁ O ₄	M+H Isômero Z
	833,59409	C ₅₂ H ₈₁ O ₈	2M + H Isômero Z
	850,61984	C ₅₂ H ₈₄ O ₈ N	2M + NH ₄ Isômero Z

Tabela E: Dados da medição de íons negativos

RT (min.)	Íon m/z	Fórmula	Proposta de Estrutura
9,98	415,28520	C ₂₈ H ₃₉ O ₄	M-H Isômero Z

		ΔM 0,44 ppm	
	481,29051	C ₂₇ H ₄₁ O ₈	M + Formiato Isômero
		ΔM 0,76 ppm	Z
	831,57683	C ₅₂ H ₇₉ O ₆	2M – H Isômero Z
		ΔM 1,46 ppm	
10,77	415,28545	C ₂₈ H ₃₉ O ₄	M-H Isômero E
	461,29069	C ₂₇ H ₄₁ O ₆	M + Formiato Isômero
			E
	831,57739	C ₅₂ H ₇₉ O ₈	2M - H Isômero E

[00297] Para assegurar a portabilidade de o método 2 de HPLC de controle de qualidade, a separação original foi repetida exatamente sob as condições prescritas. O pico principal e o pico menor foram isolados como semi preparatórios. O cromatograma de UV resultante com as posições marcadas das frações presas está ilustrado na Figura 3, A Figura 3 é um cromatograma de UV do composto bruto 5 utilizando-se o método 2 de HPLC; 125 x 4 mm Purospher STAR C18 5 μ m AG; LMA:H₂O pH 2,6 mit H₃PO₄; LMB:ACN; 30% B-10-35%-30-60%-1-90%(9); 1 ml/min.; 35°C; UVA=200 nm; ohne MS; 25 ml. Subsequentemente, as frações isoladas foram analisadas separadamente com o método UPLC/MS recém desenvolvido. Para a avaliação do rastreamento de íons precisos dos íons quasimoleculares utilizou-se [2M+NH₄] sob 850,61914 \pm 3ppm. Os cromatogramas resultantes da fração de pico principal, da fração de pico secundário e das duas amostras estão ilustrados na Figura 4 (A-D). Os estudos de MS mostraram que os dois picos gerados pelo método 2 de copntrole de qualidade sob RT 27,457 min. e sob RT 28,078 min. são dois isômeros com a fórmula C₂₆H₄₀O₄. Esta fórmula é coerente com a estrutura proposta para os isômeros E/Z. Deste modo, o desenvolvimento do método UPLC-MS demonstrou que os isômeros E/Z do ácido 3 α -hidroxi -etiliden -7 -ceto -5 β -cólico -24 são

cromatograficamente separáveis com alta resolução. Os dados de MS precisos provenientes do espectrômetro de massa FR-ICR são compatíveis com a estrutura proposta para os isômeros E/Z. Tanto para um como para o outro dos isômeros, a mesma fórmula $C_{26}H_{40}O_4$ foi derivada.

[00298] Devido ao isolamento semi-preparatório dos picos de isômeros E/Z- com I método 2 do HPLC e subsequente identificação com o método UPLC-MS os inventores podem demonstrar que os dois picos gerados pelo método 2 de controle de qualidade (RT 27,457 minutos e RT 28,078 minutos, vide a Figura 1) são os dois isômeros com a fórmula $C_{26}H_{40}O_4$. Esta fórmula é coerente com a proposta de estrutura para os isômeros E/Z. Em conjunto com é compreendido por resultados de NMR descritos mais adiante obtiveram-se as seguintes designações: RT 27,457 minutos pertence ao é isômero E e RT 28,078 minutos ao isômero Z.

[00299] A designação das mudanças de 1H e ^{13}C para o isômero E de ácido 3α -hidroxi-etyliden-7-ceto-5 β -cólico-24 está ilustrada em seguida. As mudanças foram avaliadas de acordo com “L. Bettarello et al., II Farmaco 55 (2000), 51-55” (substância ácido 3α -hidroxi -7 -ceto -5 β -colan -24 -óico).

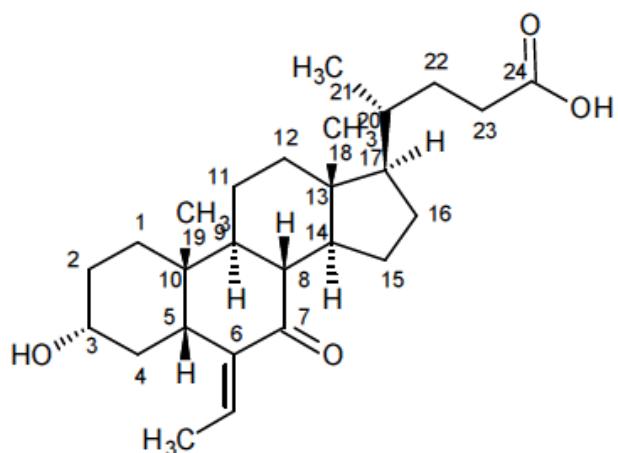


Tabela F: Designação de Mudanças de 1H (1H -NMR, 500 MHz, 303K, CD_3OD)

Mudança química [ppm]	Intensidade [H]	Multiplicidade	Designação
6.10	1	Q	25
3.61	1	M	3
2.69	1	DD	5
2.28	2	DT	23
1.72	3	D	26
1.05	3	S	19
0.99	3	D	21
0,70	3	S	18

Tabela G: Designação de Mudanças de ^{13}C ($^{13}\text{C-NMR}$, 125 MHz, 303K, CD_3OD)

Mudança química [ppm]	Multiplicidade	Designação
207.5	S	7
178.1	S	24
145.3	S	6
130.4	D	25
71.0	D	3
56.0	S	17
52.0 e 50.1	D cada um	8 e 14
46.9	D	5
44.7	S	13
40.7	D	9
40.3	T	12*
38.3	T	4*
36.5	D	20
35.8	S	10
35.4	T	1
32.3 e 32.0	T cada um	22 e 23
30.5	T	2*
29.4	T	16*
27.0	T	15*
23.2	Q	19
22.4	T	11
18.9	Q	21
12.7	Q	26
12.5	Q	18

S = singuleto

D = duplet

T = triplet

Q = quarteto

M = multiplet

DD = doubleto de dobletos

DT = Doubleto de tripletos

EXEMPLO 3: Caracterização da Forma C de ácido obeticólico

cristalino

[00300] A caracterização de estado sólido completo do produto proveniente da etapa 6 do Esquema 1 e Exemplo 1 mostrou que o ácido obeticólico é cristalino. Esta forma cristalina é rotulada como Forma C. Em seguida apresenta-se uma tabela que resume a caracterização da Forma C do ácido obeticólico cristalino:

Tabela G: Sumário das Características da Forma C de ácido obeticólico cristalino

Técnica	Forma C do ácido obeticólico cristalino
aparência	Pó Branco
NMR	Consistent com supplied structure ca. 3,5% w/w heptane
XRPD	Cristalino
TGA	Perdas de peso entre r.t. até 85°C (0,4%) e 85-115°C (4,1%)
DSC	Endotermia com início em 97,9°C
GVS	Levemente higroscópico, 1,2% de absorção de água sob 90% RH
Determinação de Água Karl Fisher	1,5% p/p
Estabilidade sob 40°C/75% RH	Nenhuma mudança na forma ou cristalinidade

Análise Térmica

[00301] Dados de DSC (Calorimetria de Varredura Diferencial) foram coletados em um Mettler DSC 823e equipado com um auto-amostrador de 34 posições. O instrumento foi calibrado para energia e temperatura utilizando-se índio certificado. Tipicamente 0,5-1 mg de cada amostra sample, em uma panela de alumínio perfurada, foi aquecida sob $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ a partir de 25°C até 350°C. Uma purga de

nitrogênio sob $50 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ foi mantida sobre a amostra. O software de controle de instrumento e análise de dados foi um STARe v 9,20,

[00302] Dados de TGA (Análise Termo-Gravimétrica) foram coletados em um Mettler TGA/SDTA 851e equipado com um amostrador automático de 34 posições. A temperatura do instrumento foi calibrada utilizando-se índio certificado. Tipicamente 5-10 mg de cada amostra foram carregados em um cadiño de alumínio previamente pesado e foi aquecido para $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ a partir da temperatura ambiente até 300°C . Uma purga de nitrogênio de $50 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ foi mantida sobre a amostra. O software de controle de instrumento e anáclise de dados foi um STARe v 9,20,

[00303] Duas etapas de perda de peso foram observadas por meio de TGA de Forma C de ácido obeticólico cristalino. A primeira ocorreu entre a temperatura ambiente (r.t.) e 85°C (0,41 %) e a segunda ocorreu entre 85°C - 115°C (4,10 %). A primeira etapa da perda de peso pode ser atribuída à perda de água, com a segunda etapa sendo atribuída à perda da água remanescente (água responsável por perda de peso em torno de 1,2%em peso) e a perda de heptano de ligação (perda de peso de ca. 3,4%). A Forma C de ácido obeticólico cristalino continha entre 0,15 e 0,2 mols de solvente (heptano) e ca. 1,5%, p/p (0,3 mols). O termograma de DSC thermogram da Forma C de ácido obeticólico cristalino continha uma endotermia. Esta foi bastante acentuada e teve início em torno de 98°C , vide Figura 6. Solventes diferentes teriam diferentes pontos de ebulição e, portanto, se evaporariam sob diferentes temperaturas dentro das experiências de DSC e TGA.

Análise de Difração de Pó ao Raio-X (XRPD)

Bruker AXS C2 GADDS

[00304] Padrões de Difração de Pó ao Raio-X foram coletados em um difratômetro Bruker AXS C2 GADDS utilizando-se radiação Cu Ka

(40 kV, 40 mA), estágio XYZ automatizado, microscópio vídeo de laser para posicionamento de auto amostra e um detector de área bidimensional HiStar. A óptica de raio-X consistia de um único espelho de várias camadas Göbel acoplado com um colimador de furos de pino de 0,3 mm. Realizou-se uma verificação de desempenho semanal utilizando-se um NIST 1976 Corundum padrão certificado ('laca plana).

[00305] A divergência do feixe, ou seja, a dimensão efetiva do feixe de raio-X na amostra, foi de aproximadamente 4 mm. Empregou-se uma modalidade de varredura contínua θ - θ com uma distância de amostra – detector de 20 cm o que proporciona uma faixa 2θ efetiva de $3,2^\circ$ – $29,7^\circ$. Tipicamente, a amostra foi exposta ao feixe de raio-X durante 120 segundos. O software usado para a coleta de dados foi GADDS para WNT 4.1.16 e os dados foram analisados e apresentados utilizando-se Difrac *Plus* EVA v 9.0.0.2 ou v 13.0.0.2.

[00306] Condições ambientais: Amostras processadas sob condições ambientais foram preparadas na forma de espécimes de placa plana utilizando-se pó tal como recebido sem moagem. Aproximadamente 1-2 mg da amostra foram levemente pressionados em uma lâmina de vidro para se obter uma superfície plana.

[00307] Condições não ambientais: Amostras processadas sob condições não ambientais foram montadas em uma pastilha de silicone com composto condutor de calor. A amostra foi então aquecida para a temperatura apropriada sob cerca de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e subsequentemente mantida isotermicamente durante cerca de 1 minuto antes de ser iniciada a coleta de dados.

Bruker AXS/Siemens D5000

[00308] Coletaram-se padrões de Difração de Pó ao raio-X em um difratômetro Siemens D5000 utilizando-se radiação de Cu K α (40 kV, 40 mA), goniômetro θ - θ , divergência de V20 e ranhuras receptoras,

um monocromador secundário de grafite e um contador de cintilação. O instrumento é verificado quanto a desempenho utilizando-se um padrão de Corundum certificado (NIST 1976). O software utilizado para a coleta de dados foi o Diffrac *Plus* XRD Commander v2.3.1 e os dados foram analisados e apresentados utilizando-se Diffrac *Plus* EVA v 11.0.0.2 ou v 13.0.0.2.

[00309] As amostras foram processadas sob condições ambientais na forma de espécies de chapa plana utilizando-se pó tal como recebido. Aproximadamente 20 mg da amostra foram delicadamente acondicionados dentro de uma cavidade cortada na pastilha de silício polida de fundo zero (510). Durante a análise a amostra foi rodada no seu próprio plano. Os detalhes da coleta de dados são:

- Faixa angular: 2 até 42 °2θ
- Dimensão da etapa: 0,05 °2θ
- Tempo de coleta: 4 s·etapa⁻¹

Bruker AXS D8 Advance

[00310] Coletaram-se padrões de difração de pó por raio X em um difratômetro Bruker D8 utilizando-se radiação Cu Kα (40 kV, 40 mA), goniômetro 0-2θ, e divergência de V4 e ranhuras receptoras, um monocromador Ge e um detector Lynxeye. O desempenho do instrumento é verificado utilizando-se um padrão Corundum certificado (NIST 1976). O software utilizado para a coleta de dados foi o Diffrac *Plus* XRD Commander v 2.5.0 e os dados foram analisados e apresentados utilizando-se o Diffrac *Plus* EVA v 11.0.0.2 ou v 13.0.0.2.

[00311] As amostras foram processadas sob condições ambientais na forma de espécimes de placas planas utilizando-se o pó tal como recebido. Aproximadamente 5 mg da amostra foram delicadamente acondicionados dentro de uma cavidade cortada na pastilha de silício polida de fundo zero (510). Durante a análise a amostra foi rodada no seu próprio plano. Os detalhes da coleta de dados são:

- Faixa angular: 2 até 42 °2θ
- Dimensão da etapa: 0,05 °2θ
- Tempo de coleta: 0,5 s·etapa⁻¹

[00312] XRPD mostrou que o pó isolado a partir da etapa 6 do processo da invenção foi coletado no Bruker AXS D8 Advance. Vide Figura 5, Os dados correspondentes para o difratograma de raios-X encontram-se apresentados na tabela exposta a seguir. O software utilizado para a coleta de dados foi o Diffrac *Plus* XRD Commander v2.6.1 e os dados foram analisados e apresentados utilizando-se o Diffrac *Plus* EVA v13.0.0.2 ou v15.0.0.0. As amostras foram processadas sob condições ambientais na forma de espécimes de placas planas utilizando-se o pó tal como recebido. A amostra foi delicadamente acondicionada dentro de uma cavidade cortada na pastilha de silício polida de fundo zero (510). Durante a análise a amostra foi rodada no seu próprio plano. Os detalhes da coleta de dados são:

- Faixa angular: 2 até 42 °2θ
- Dimensão da etapa: 0,05 °2θ
- Tempo de coleta: 0,5 s·etapa⁻¹

Tabela H: Dados de Difratograma por raios-X da Forma C de ácido obeticólico cristalino

Pico	Ângulo 2-Teta (deg)	valor d (Angstrom)
1	4,2	21,0203
2	6,35	13,90839
3	8,298	10,64718
4	9,5	9,30229
5	11,05	8,00042
6	12,246	7,22192
7	12,498	7,07692
8	12,647	6,99367

9	15,497	5,71337
10	15,843	5,5895
11	15,998	5,53561
12	16,346	5,41836
13	16,695	5,30601
14	16,996	5,21251
15	17,849	4,96547
16	18,593	4,76844
17	18,798	4,71689
18	19,047	4,65579
19	20,493	4,33041
20	20,894	4,24808

[00313] A VT-XRPD (Difração de Raios-X de Temperatura Variável) revelou que a endotermia observada no termograma de DSC correspondia to the dessolvatação da amostra quando nenhuma mudança de forma foi observada no aquecimento. Existe uma diferença de temperaturas entre o DSC e os dados de VT-XRPD quando a experiência de VT-XRPD foi realizada em um amplo espaço com a amostra exposta enquanto que a experiência de DSC foi realizada em um espaço confinado, fechado. Esta diferença situa-se em torno de 20°C e explica por que a amostra foi fundida a uma temperatura muito mais baixa na experiência de DSC e a amostra ainda se apresenta cristalina sob 110°C na experiência de VT-XRPD. A VT-XRPD mostra que a secagem do solvente a partir do material resultou na perda de cristalinidade que é consistente com o material que está em uma forma solvatada. Vide Figura 7,

Sorção de Vapor Gravimétrico (GVS)

[00314] Obtiveram-se isotermas de sorção utilizando-se um analisador de sorção de umidade intrínseca de SMS DVS, controlado por meio de software DVS Intrinsic Control software v 1.0.0.30. A

temperatura da amostra foi mantida sob 25°C por meio dos controles de instrumento. A umidade foi controlada pela mistura de correntes de nitrogênio seco e úmido, com uma taxa de fluxo total de 200 ml·min⁻¹. A umidade relativa foi medida por meio de uma sonda Rotronic calibrada (faixa dinâmica de 1,0-100% RH), localizada próxima da amostra. A alteração do peso, (relaxamento de massa) da amostra como uma função da % de RH (umidade relativa) foi monitorada constantemente pela microbalança (precisão de ±0,005 mg).

[00315] Colocaram-se de 5 até 20 mg de amostra em uma cesta de malha de aço inoxidável de tara determinada sob as condições ambientais. A amostra foi carregada e descarregada sob 40% de RH e 25°C (condições ambientais típicas). A sorção de umidade isotérmica foi realizada tal como salientada adiante (com 2 varreduras proporcionando 1 ciclo completo). A isoterma padrão foi realizada sob 25°C sob 10% de RH a intervalos sobre uma faixa de RH de 0,5-90%. A análise de dados foi obtida em Microsoft Excel utilizando-se o DVS Analysis Suite v6.0.0.7. Os Parâmetros do Método para Experiências Intrínsecas de SMS DVS são os seguintes:

Parâmetros	Valores
Adsorção – Varredura 1	40 – 90%
Desorção / Adsorção – Varredura 2	90 – 0,0 – 40%
Intervalos (% RH)	10
Número de Varreduras	2
Taxa de fluxo (ml min ⁻¹)	200
Temperatura (°C)	25
Estabilidade (°C/min ⁻¹)	0,2
Tempo de sorção (horas)	6 horas tempo limite

[00316] A amostra foi recuperada depois da conclusão da isoterma e reanalisada por meio de XRPD.

[00317] A análise da Forma C de ácido obeticólico cristalino

mostrou que a amostra estava levemente higroscópica quando um aumento de massa de 1,18% foi observado entre 0-90% de RH. Esta captação de água foi estável durante toda a análise e alcançou-se o equilíbrio em todas as etapas. A histerese da curva foi pequena indicando que a amostra perdeu facilmente a água que ela tinha captado. A análise de XRPD depois da análise de GVS mostrou que a amostra permaneceu inalterada. Vide Figuras 8A, 8B, e 8C.

Determinação de Água por meio de Titulação de Karl Fischer (KF)

[00318] O teor de água de cada amostra foi medido em um Mettler Toledo DL39 Coulometer utilizando-se reagente Hydranal Coulomat AG e uma purga de argônio. Amostras sólidas pesadas foram introduzidas dentro do vaso em um recipiente TGA de platina que foi conectado a uma sub-vedação para evitar a entrada de água. Utilizaram-se aproximadamente 10 mg de amostra por titulação e realizaram-se determinações em duplicata.

[00319] Análise de Karl Fischer demonstrou que a Forma C de ácido obeticólico cristalino continha 1,5% de água que corresponde até cerca de 0,3 mols de água.

Estabilidade de Uma Semana sob 40°C e 75% de RH

[00320] A estabilidade do ácido obeticólico sob 40°C e 75% de RH (umidade relativa) foi determinada da forma exposta em seguida. Uma amostra de ácido obeticólico foi armazenada em uma câmara de umidade durante uma semana sob 40°C / 75% de RH. A amostra foi novamente analisada por meio de XRPD e constatou-se ter permanecido inalterada.

[00321] O estudo do estado sólido demonstrou que é necessária a presença de uma quantidade relativamente grande de solvente orgânico para cristalizar a Forma C de ácido obeticólico. É altamente improvável que uma amostra da Forma 1 de ácido obeticólico se cristalize espontaneamente para formar a Forma C de ácido

obeticólico cristalino no armazenamento.

EXEMPLO 4: Formulação de Comprimidos de Ácido Obeticólico

[00322] A tabela exposta em seguida mostra a composição quantitativa para comprimidos de ácido obeticólico. As formulações de 5 mg, 10 mg, e 25 mg foram utilizadas como material de ensaio clínico de fase 3.

Tabela I: Comprimido Revestido de Película

Comprimido Revestido de Película			
Componente	Quantidade por Comprimido	Função	Referência a Padrão
comprimido de 1 mg			
Ácido obeticólico	1,0 mg*	API	HSE
Celulose microcristalina	185,0 mg*	Enchimento/Ligante	USP-NF/EP/JP
Amido glicolato de sódio	12,0 mg	Desintegrante	USP-NF/EP/JP
Estearato de magnésio	2,0 mg	Lubrificante	USP-NF/EP/JP
Opadry® II verde ou branco	8,0 mg	Material de revestimento	HSE
Peso total	208,0 mg		
comprimido de 5 mg			
Ácido obeticólico	5,0 mg*	API	HSE
Celulose microcristalina	181,0 mg*	Enchimento/Ligante	USP-NF/EP/JP
Amido glicolato de sódio	12,0 mg	Desintegrante	USP-NF/EP/JP
Estearato de magnésio	2,0 mg	Lubrificante	USP-NF/EP/JP

Opadry® II verde ou branco	8,0 mg	Material de revestimento	HSE
Peso total	208,0 mg		
comprimido de 10 mg			
Ácido obeticólico	10,0 mg*	API	HSE
Celulose microcristalina	176,0 mg*	Enchimento/Ligante	USP- NF/EP/JP
Amido glicolato de sódio	12,0 mg	Desintegrante	USP- NF/EP/JP
Estearato de magnésio	2,0 mg	Lubrificante	USP- NF/EP/JP
Opadry® II verde ou branco	8,0 mg	Material de revestimento	HSE
Peso total	208,0 mg		
comprimido de 25 mg			
Ácido obeticólico	25,0 mg*	API	HSE
Celulose microcristalina	157,0 mg*	Enchimento/Ligante	USP- NF/EP/JP
Amido glicolato de sódio	12,0 mg	Desintegrante	USP- NF/EP/JP
Estearato de magnésio	2,0 mg	Lubrificante	USP- NF/EP/JP
Collodial silicon dioxide	4,0 mg	Glidant	USP- NF/EP/JP
Opadry® II verde ou branco	8,0 mg	Material de revestimento	HSE
Peso total	208,0 mg		

API: Ingrediente farmacêutico ativo

HSE = Especificação de casa

USP-NF = US Pharmacopeia National Formulary

Ph Eur = European Pharmacopeia

JP = Japanese Pharmacopeia

* a quantidade de ácido obeticólico apresentada supõe que o API é anidro e 100% puro; a quantidade real é ajustada com base na potência do Lot de substância do fármaco usado, e a quantidade de celulose microcristalina é correspondentemente diminuída.

EXEMPLO 5: Caracterização da Forma 1 de ácido obeticólico

[00323] A Forma 1 de ácido obeticólico refere-se à forma não cristalina de ácido obeticólico. Esta forma de ácido obeticólico pode ser produzida por intermédio de um ácido obeticólico cristalino como um intermediário sintético. A Forma 1 de ácido obeticólico pode ser usada como o ingrediente farmaceuticamente ativo. A Forma 1 de ácido obeticólico foi caracterizada e analisada da forma exposta em seguida.

[00324] O lote 1 da Forma 1 de ácido obeticólico foi caracterizado utilizando-se as seguintes técnicas: avaliação por meio de difração de pó por raios-X (XPRD) quanto a cristalinidade, ressonância magnética nuclear ^1H e ^{13}C (NMR), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), avaliação óptica (por exemplo, forma / dimensão de partícula), propriedades térmicas (por exemplo, calorimetria de varredura diferencial (DSC) e análise termo - gravimétrica (TGA)), determinação de água por meio de Karl Fischer (KF), armazenamento sob 40°C e 75% de RH e nova análise depois de 2 semanas por XRPD, pKa por meio de método potenciométrico, Log P/D (octanol/água) por meio de potenciometria, e estabilidade à umidade utilizando-se sorção de vapor gravimétrica (GVS; por exemplo, ciclo de sorção -desorção completo com análise de sólido coletada por meio de XRPD). Cinco outros lotes (por exemplo, lotes 2, 3, 4, 5, e 6) da Forma 1 de ácido obeticólico também foram caracterizados e comparados utilizando-se as seguintes técnicas:

avaliação por meio de XRPD e comparação com o padrão do lote 1 principal, NMR ^1H e ^{13}C , FT-IR, avaliação óptica (por exemplo, forma / dimensão de partícula), propriedades térmicas (por exemplo, DSC, TGA, e microscopia de estáqui quente), e determinação de água por meio de KF.

Análise de Difração de Pó por Raios-X (XRPD)

[00325] Padrões de Difração de Pó por Raios-X foram coletados em um difractômetro Bruker AXS C2 GADDS utilizando-se radiação de Cu $\text{K}\alpha$ (40 kV, 40 mA), estágio de XYZ automatizado, microscópio de vídeo a laser para o posicionamento de auto-amostragem e um detector de área bidimensional HiStar. A óptica de raios-X consiste de um espelho multicamadas único Göbel acoplado com um colimador de furis de 0,3 mm. A divergência de feixe, ou seja, a dimensão efetiva do feixe de raios-X na amostra foi de aproximadamente 4 mm. Empregou-se uma modalidade de varredura contínua θ - θ com uma distância de amostra – detector de 20 cm que proporciona uma faixa 2θ efetiva de $3,2^\circ$ – $29,7^\circ$. Tipicamente a amostra foi exposta ao feixe de raios-X durante 120 segundos. O software utilizado para a coleta de dados foi um GADDS para WNT 4.1.16 e os dados foram analisados e apresentados utilizando-se Diffrac *Plus* EVA v 9.0.0.2 ou v 13.0.0.2.

[00326] Amostras processadas sob condições ambientais foram preparadas na forma de espécimes de placas planas utilizando-se pó tal como recebido sem moagem. Aproximadamente 1-2 mg da amostra foram levemente pressionados em uma pastilha de silício para se obter uma superfície plana. Os difratogramas mostram que a Forma 1 de ácido obeticólico é não-cristalina (vide, Figura 10 e Figura 11).

Caracterização de NMR

[00327] Espectros de NMR foram coletados em um instrumento

Bruker 400 MHz equipado com um amostrador automático e controlado por meio de um console DRX400. Experimentos automatizados foram adquiridos utilizando-se ICONNMR v4.0.4 (construção 1) operando com Topspin v 1.3 (nível de emplastro 8) utilizando-se os experimentos carregados Bruker padrão. Para espectroscopia de não-rotina, os dados foram adquiridos através do uso de Topspin isoladamente. As amostras foram preparadas em *d*6-DMSO, a não ser que de outro modo estabelecido. Análise for a de linha foi realizada utilizando-se ACD SpecManager v 9.09 (construção 7703).

[00328] A Figura 12 mostra o espectro de ^1H NMR para o lote 1. Os espectros ^1H NMR dos lotes 2-6 também foram registrados e comparados com o espectro do lote 1. Vide Figura 13. Os espectros são todos similares, mas com quantidades de água variáveis. Algumas diferenças são notadas na integração do grande grupo de prótons entre 0,75 ppm e 2 ppm, onde picos se sobrepõem e não podem ser integrados separadamente. A Tabela J mostra o número total de prótons integrados nos espectros dos lotes 1-6, levando em consideração a variação na região de 0,75 – 2 ppm.

Tabela J

Número de lote	Número de H por integração (excluindo COOH)
1	43
2	42
3	40
4	41
5	42
6	41-42

[00329] O próton de ácido carboxílico foi excluído, de modo que o número de prótons deverá ser 43, mas ele na realidade varia desde 40

até 43 entre os 6 espectros. Não obstante, a área onde vem a variação comes (0,75-2 ppm) é bastante ampla, e devido à qualidade da linha de base, esta integração não pode servir de base.

[00330] Como o espectro não poderia ser plenamente atribuído à integração e variado, foi registrado um espectro de ^{13}C NMR do lote 2. A Figura 14 mostra o espectro de DEPTQ, onde CH_2 e carbonos quaternários picos apontam para cima, ao mesmo tempo que CH_3 e grupos CH apontam para baixo. Há treze picos apontando para baixo, que correspondem a nove grupos CH e quatro CH_3 . Isto é compatível com a estrutura. O pico do carbono do ácido carboxílico foi visto em 175 ppm. Ele foi excluído desta vista expandida por razões de clareza da área de interesse. Não obstante, aparecem apenas onze picos apontando para cima, enquanto que deveria haver doze, uma vez que existem dez grupos CH_2 e dois carbonos quaternários na molécula (excluindo-se o carbonil). Um carbono parece estar sobreposto com um outro sinal. Por essa razão, coletou-se um espectro DEPT135, suprimindo-se os sinais de carbono quaternário, que poderia mostrar se o sinal de sobreposição é quaternário. Vide Figura 15. Uma comparação do espectro DEPT135 com o espectro DEPTQ mostra que um pico (sob 42,5 ppm) desaparece. Existem dois carbonos quaternários na molécula, que deveriam corresponder a dois picos desaparecendo. Por essa razão o sinal de carbono sobreposto é um sinal quaternário.

[00331] Além disso, realizou-se uma experiência para se determinar o tempo de relaxamento dos carbonos para determinar onde o sinal de carbono quaternário que está faltando se sobrepõe com outro sinal de carbono. Vide a Figura 16. Este espectro de ^{13}C contém picos que foram integrados. Isto demonstrou que o pico em 32,3 ppm é responsável por dois carbonos. Vide a Figura 17 para uma vista expandida do pico em 32,3 ppm. Deste modo, vinte e seis carbonos

são agora responsáveis pelas integrações (incluindo o ácido carboxílico), o que é coerente com a estrutura.

FT-IR por meio de ATR

[00332] Coletaram-se dадosem um Perkin-Elmer Spectrum One equipado com um acessório de amostragem de ATR Universal. Os dados foram coletados e analisados utilizando-se o software Spectrum v5.0.1. Vide a Figura 18.

Análise térmica por meio de Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) e Análise Termo-Gravimétrica (TGA)

[00333] Dados de DSC foram coletados em um instrumento TA Instruments Q2000 equipado com um amostrador automático de 50 posições. O instrumento foi calibrado para a calibragem de energia e temperatura utilizando-se índio certificado. Tipicamente 0,5-3 mg de cada amostra, em um recipiente de alumínio perfurado, foi aquecida para $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ a partir de 25°C até 300°C . Uma purga de nitrogênio sob 50 ml min^{-1} foi mantida sobre a amostra. O software de controle do instrumento foi o Advantage for Q Series v2.8.0.392 e o Thermal Advantage v4.8.3 e os dados foram analisados utilizando-se Universal Analysis v4.3A. Para DSC modulado, a amostra foi preparada como anteriormente, e o recipiente foi aquecido sob $2^{\circ}\text{C min}^{-1}$ a partir de 25°C até 200°C . As condições do modulador foram uma amplitude de $0,20^{\circ}\text{C}$ e uma periodicidade de 40 s. O intervalo de amostragem foi de 1 s / pt.

[00334] Dados de TGA foram coletados em um instrumento TA Instruments Q500 TGA, equipado com um amostrador automático de 16 posições. A temperatura do instrumento foi calibrada utilizando-se Alumel certificado. Tipicamente 5-10 mg de cada amostra foram carregados em um cadinho de platina previamente tarado e recipiente DSC de alumínio, e foi aquecida para $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ a partir da temperatura ambiente até 350°C . Uma purga de nitrogênio sob 60 ml

min⁻¹ foi mantida sobre a amostra. O software de controle do instrumento foi o Advantage for Q Series v2.8.0.392 e Thermal Advantage v4.8.3.

[00335] A análise térmica do lote 1 foi realizada por DSC e TGA. O rastreamento de TGA (vide Figura 19) mostra uma perda de peso de 1,7% entre a temperatura ambiente e 121°C, que é suscetível de ser a perda de água. O rastreamento de DSC (vide Figura 19) mostra uma endotermia de ampla temperatura baixa, provavelmente correspondente à perda de água, seguida por uma pequena endotermia com início em 94°C.

[00336] Esta segunda endotermia pode indicar uma transição vítreia e foi ainda investigada por DSC modulado (vide Figura 20). Esta técnica permite que eventos reversíveis, tais como uma transição vítreia, sejam separados daqueles irreversíveis, tais como perda de solvente ou uma fusão de uma forma cristalina. O rastreamento de fluxo de calor reversível no DSC modulado mostra a transição vítreia como uma etapa com um ponto de inflexão (Tg) em 95°C. Esta é alta para uma transição vítreia e sugere que a Forma 1 é estável. A pequena endotermia com início sob 89°C no rastreamento de fluxo térmico não reversível corresponde ao relaxamento molecular do material de consumo sob a temperatura de transição vítreia.

[00337] O rastreamento de DSC (vide Figura 19) mostra a decomposição começando em torno de 220°C, que também corresponde ao rastreamento de TGA curvar-se para baixo.

[00338] Os rastreamentos de TGA dos lotes 1, 2, 3, 4, 5, e 6 são de forma similar (Figura 21). As perdas de peso medidas entre a temperatura ambiente e 120°C estão ilustradas na Tabela K. Elas são consistentes com as quantidades variáveis de água observadas por NMR. Essas quantidades foram ainda quantificadas por meio de titulação de água Karl Fischer (KF). Vide determinação de água por

meio de FK.

Tabela K: Sumário de perdas de peso por TGA das amostras recebidas

Número de lote	Perda de peso por TGA
1	1,7%
2	0,6%
3	1,2%
4	0,9%
5	1,5%
6	1,6%

[00339] A Figura 22 mostra o rastreamento de DSC dos seis lotes para fins de comparação. Os traços são similares, com uma ampla endotermia de baixa temperatura de dimensão variável, coerente com quantidades variáveis de água, seguida por pequena endotermia em torno da temperatura de transição vítreia tal como se observou na seção DSC e TGA. Os resultados estão sumariados na Tabela L.

Tabela L: Sumário de resultados de DSC das amostras recebidas

Número de Lote	1 ^a endotermia, ampla	2 ^a endotermia, pequena	Início da decomposição
1	28,3J/g, Tmax = 64°C	1,2J/g, Tonset =94°C	220°C
2	7,4J/g, Tmax =48°C	1,4J/g, Tonset =94°C	220°C
3	nenhuma	2,0J/g, Tonset =89°C	175°C
4	14,5J/g, Tmax = 58°C	1,3J/g, Tonset =94°C	200°C
5	12,2J/g, Tmax = 59°C	1,2J/g, Tonset =94°C	175°C
6	28,7J/g, Tmax =59°C	1,5J/g, Tonset =94°C	200°C

Microscopia de Luz Polarizada (PLM)

[00340] As amostras foram estudadas em um microscópio de luz polarizada Leica LM/DM com uma câmera de vídeo digital para

captura de imagens. Uma pequena quantidade de cada amostra foi colocada em uma lâmina de vidro, montada em óleo de silicone e coberta com uma lâmina de vidro, com as partículas individuais sendo tão separadas quanto possível. A amostra foi visualizada com ampliação apropriada e luz parcialmente polarizada, acoplada a um filtro de cores falsas λ .

[00341] As Figuras 23A-23F mostram que os lotes 1, 2, 3, 4, 5, e 6 são material constituído por grandes aglomerados duros de pequenas partículas irregulares. Os lotes 1, 2, 3, 4, 5, e 6 parecem todos eles semelhante. Não foi observada qualquer birrefrigênci sob a luz polarizada plana, que é coerente com o material ser não cristalino. A dimensão de partícula varia desde menos do que $1\mu\text{m}$ até $3\mu\text{m}$. A pequena dimensão destas partículas sugere que elas foram precipitadas muito rapidamente.

Sorção Gravimétrica de Vapor (GVS)

[00342] Obtiveram-se isotermias de sorção utilizando-se um analisador de sorção de umidade intrínseca SMS DVS, controlado por meio de software SMS Analysis Suite. A temperatura das amostras foi mantida sob 25°C pelos controle dos instrumentos. A umidade foi controlada pela mistura de correntes de nitrogen seco e úmido, com uma taxa de fluxo total de 200 ml min^{-1} . A umidade relativa foi medida por meio de uma sonda Rotronic calibrada (faixa dinâmica de 1,0-100% de RH), localizada próxima da amostra. A mudança de peso, (relaxamento de massa) da amostra como uma função de %RH foi monitorada constantemente por meio de microbalança (precisão de $\pm 0,005\text{ mg}$).

[00343] Tipicamente, 5-20 mg de amostra foram colocados em uma cesta de aço inoxidável de malha tarada sob condições ambiente. A amostra foi carregada e descarregada sob 40% de RH e 25°C (condições de ambiente típicas). Uma isotermia de sorção de umidade

foi realizada tal como exposta adiante (2 varreduras dando 1 ciclo completo). A isoterma padrão foi realizada sob 25°C sob 10% de RH a intervalos sobre uma faixa de 0,5-90% de RH.

Tabela M

Parâmetros	Valores
Adsorção – Varredura 1	40 – 90%
Desorção / Adsorção – Varredura 2	85 – seco - seco – 40%
Intervalos (% RH)	10
Número de Varreduras	2
Taxa de fluxo (ml min ⁻¹)	200
Temperatura (°C)	25
Estabilidade (°C/min ⁻¹)	0,2
Tempo de sorção (horas)	6 horas tempo limite

[00344] A isoterma de Sorção Gravimétrica de Vapor (GVS) foi obtida para o lote 1 sob 25°C e está ilustrada na Figura 24. A amostra parece ser moderadamente higroscópica, com uma alteração de peso total e de 3,8% a partir de 0 até 90% de umidade relativa (RH). A histerese (área entre as curvas de adsorção e desorção) é pequena, indicando que o sólido libera muito rapidamente a água adsorvida. Não se observa qualquer formação de hidrato. Não ocorreu qualquer mudança de peso significativa depois de todo o período experimental (0,3%).

[00345] O traçado cinético da GVS (Figura 25) mostra que a adsorção da água ocorreu na sua maior parte sob umidades muito altas e a desorção sob umidades muito baixas. Na fase de adsorção, a amostra alcançou o equilíbrio muito rapidamente até 80% de RH e levou mais tempo para se equilibrar a 90% de RH. Na desorção, a massa estabilizou-se em todas as etapas.

[00346] Depois da conclusão do GVS, a amostra foi recuperada e reanalisada por meio de XRPD, que mostrou que o material ainda não

estava cristalino (Figura 26).

Determinação de Água por meio de Karl Fischer (KF)

[00347] O teor de água de cada amostra foi medido em um Mettler Toledo DL39 Coulometer utilizando-se reagente Hydranal Coulomat AG e uma purga de argônio. Amostras sólidas que foram pesadas foram introduzidas dentro do vaso em um recipiente TGA de platina, que foi conectado a uma sub-vedação para evitar ingresso de água. Aproximadamente 10 mg de amostra foram usados para titulação e realizaram-se determinações em duplicata.

[00348] Titulação de água por coulométrica de Karl Fischer proporcionou um resultado de 2,4%, em peso, de água. Isto é um pouco mais alto do que a perda de peso observada por TGA. Isso pode significar que alguma água não é liberada a partir do material em aquecimento, mas é provável que seja devido aos diferentes procedimentos experimentais para estas duas técnicas.

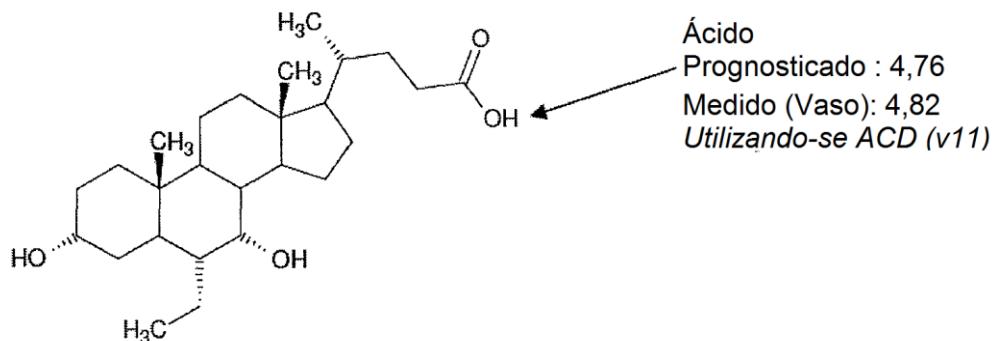
[00349] O teor de água de cada lote foi determinado por meio de coulométrica de Karl Fischer. A Tabela N mostra estes resultados e compara os mesmos com resultados de Karl Fischer anteriores obtidos e com as perdas de peso observadas por TGA. Os dados coadunam-se quando a tendência é a mesma em todas as três análises. Os dados de Karl Fischer obtidos anteriormente mostram quantidades mais baixas de água do que os resultados obtidos neste contexto. Isto se coaduna com o material ser higroscópico, enquanto algumas amostras tenham captado mais água do que outras. A perda de peso TGA é sistematicamente mais baixa do que os resultados obtidos por meio da titulação de Karl Fischer, que podem significar que alguma água permanece presa no material e não é liberada no aquecimento, mas também pode ser devido ao procedimento experimental.

Tabela N: Resultados e sumário de dados de teor de água de Karl Fischer (KF)

Número de lote	Teor de água KF	Resultados anteriores KF	Perda de peso TGA
1	2,4%	2,1%	1,7%
2	1,9%	0,4%	0,6%
3	2,5%	1,4%	1,2%
4	2,2%	0,92%	0,9%
5	2,3%	0,53%	1,5%
6	2,8%	2,1%	1,6%

Determinação e Prognóstico de pKa

[00350] Dados de determinação de pKa foram coletados em um instrumento Sirius GlpKa icom um acessório de D-PAS. Foram realizadas medições sob 25°C em solução aquosa por meio de UV e em misturas de metanol e água por meio de potenciometria. Os meios de titulação foram compreendidos por intensidade iônica ajustada (ISA) com 0,15 M KCl (aq). Os valores encontrados nas misturas de metanol e água foram corrigidos para 0% de co-solvente por intermédio de extração de Yasuda-Shedlovsky. Os dados foram refinados utilizando-se software Refinement Pro v1.0. O prognóstico dos valores de pKa foi realizado utilizando-se software de prognóstico de ACD pKa s v9,



[00351] O pKa do ácido obeticólico foi medido por meio de potenciometria utilizando-se metanol como um co-solvente (Figura 27) e extrapolado para 0% de co-solvente utilizando-se uma extração de Yasuda-Shedlovsky (Figura 28). O pKa possibilita a determinação

da proporção da forma neutral e da forma ionizada do composto sob um determinado pH. A Figura 29 mostra a distribuição das espécies dependentes de pH.

Determinação de Log P

[00352] Os dados foram coletados por meio de titulação potenciométrica em um instrumento Sirius GlpKa utilizando-se três relações de octanol: água ajustada por intensidade iônica (ISA) para gerar valores de Log P, Log Pion, e Log D. Os dados foram aprimorados utilizando-se software Refinement Pro v1.0. O prognóstico dos valores de Log P foi realizado utilizando-se software ACD v9 e Syracuse KOWWIN v1.67.

Tabela O: Log P prognosticado e medido

LogP Prognosticado ACD (V9)	5,81
LogP Medido	5,54
LogPion Medido	1,58
LogD7,4 Medido	2,98

[00353] O LogP foi prognosticado utilizando-se software ACD, então medido por meio de potenciometria. Realizaram-se três titulações em três relações octanol / ISA água diferentes, proporcionando a curva de diferença traçada na Figura 30. A curva preta é a titulação de pKa aquosa pura e as 3 curvas coloridas correspondem às três relações de octanol / ISA água. Os desvios em pKa permitem a determinação de LogP.

[00354] A curva de lipofilicidade (logD como uma função de pH) está ilustrada na Figura 31. Log D é o coeficiente de distribuição, que representa a lipofilicidade combinada de todas as espécies presentes sob um pH específico. LogP é uma constante de composto, que corresponde ao coeficiente de divisão das espécies neutras puras, ao mesmo tempo que o LogPion é aquele das espécies ionizadas puras. LogP e LogPion podem ser determinados a partir da curva de

lipofilicidade, como a interseção do eixo Y com respectivamente a tangente no início da escala de pH (quando a molécula se encontra puramente na sua forma neutra) e a tangente no final da escala do pH (quando a molécula está completamente ionizada).

Estabilidade de Duas Semanas sob 40°C & 75% de RH e 25°C & 97% de RH

[00355] Uma amostra do lote 1 foi armazenada sob 40°C e 75% de umidade relativa (RH) em um teste de estabilidade acelerado da forma sólida. Outra amostra foi armazenada sob 25°C e 97% de umidade relativa para se verificar o efeito da umidade muito alta. Tanto uma como a outra das amostras foram re-analisadas por meio de XRPD depois de cinco dias e depois de duas semanas. As duas amostras permaneceram não cristalinas sob as duas condições de armazenamento para até duas semanas, demonstrando que a Forma 1 é estável com estas condições. vide Figura 32 e Figura 33.

[00356] Os seis lotes analisados foram todos eles não cristalinos. A temperatura de transição vítreia foi medida sob 95°C com um experimento de DSC modulado. Os seis lotes apresentaram-se muito semelhantes com todas as técnicas analíticas utilizadas, com a única diferença entre elas sendo compreendido pelo seu teor de água, o qual variou desde 1,9% até 2,8% por meio de titulação de Karl Fischer. A análise térmica mostrou a quantidade variável de água e indicou que a decomposição começou em torno de 175-220°C. O pKa medido foi de 4,82 e o LogP é 5,54. Avaliação microscópica mostrou grandes aglomerados duros de partículas irregulares muito pequenas.

[00357] O teste de estabilidade mostrou que o material foi ainda não cristalino depois de duas semanas sob condições aceleradas (40°C / 75% de RH) ou sob alta umidade (25°C / 97% de RH). A análise de Sorção Gravimétrica de Vapor (GVS) mostrou que o material é apenas moderadamente higroscópico, com um ganho de

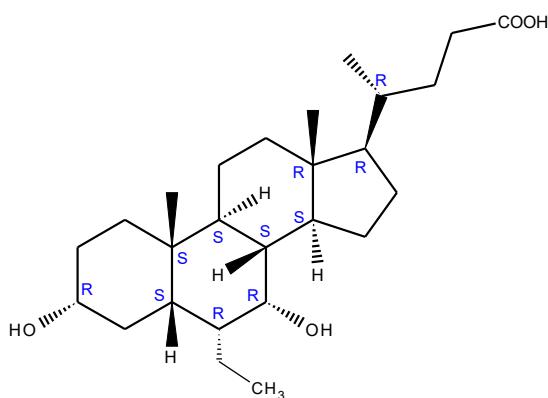
peso total de 3,8% a partir de 0 até 90% de umidade relativa (RH). Nenhuma formação de hidratos foi observada sob GVS. A amostra foi re-analisada por meio de XRPD depois de GVS permaneceu ainda não cristalina. A alta temperatura de transição vítreia e os resultados do teste de estabilidade sugerem que a forma não cristalino é estável.

EXEMPLO 6: Estrutura aos raios-X de Cristal Única e Estereoquímica Absoluta

[00358] A estrutura aos raios-X de cristal única de ácido obeticólico foi determinada a partir de um cristal obtido a partir da recristalização de ácido obeticólico a partir de uma solução de acetonitrila depois de resfriamento para 5°C sob 0,1°C/min. seguido por maturação sob RT/50°C 8 h ciclos durante 1 semana (vide Figura 34). A estrutura é consistente com a Forma G e um padrão de XRPD simulado foi gerado como um padrão de referência para este material. A Forma G pode ser preparada por meio do resfriamento de uma solução de ácido obeticólico em, por exemplo, acetonitrila.

[00359] A estrutura é ortorrômbica, grupo de espaço $P2_12_12_1$, e contém uma molécula de ácido obeticólico na unidade assimétrica. Final R1 [$I > 2\sigma(I)$] = 3,22%. O cristal exibiu morfologia de prisma de dimensões aproximadas 0,4 x 0,4 x 0,3 mm. A estereoquímica absoluta da molécula foi determinada como *S* nos centros quirais C5, C9, C10 e C14 e como *R* nos centros quirais C3, C6, C7, C8, C13, C17 e C22 com um parâmetro de Flack = -0,01 (13). Para a estrutura invertida com centros quirais C5, C9, C10 e C14 na configuração *R* e centros quirais C3, C6, C7, C8, C13, C17 e C22 na configuração *S*, o parâmetro de Flack = 1,01(13), confirmando a atribuição mencionada anteriormente.

[00360] No geral, a estrutura tinha um forte conjunto de dados e nenhum distúrbio.



[00361] O software usado para atribuir a estereoquímica (PLATON) determina o centro quiral (C8) como um estereocentro *R*, enquanto que a atribuição do software ACD (e o Cahn-Ingold-Prelog) para (C8) é *S*. Não obstante, a atribuição da junção do anel trans para o sistema de anel B/C é absolutamente definido a partir da estrutura cristalina.

[00362] A determinação da estrutura absoluta utilizando-se a estatística estatística bayesiana em diferenças Bijvoet, (Hooft *et al.*, *J. Appl. Cryst.*, (2008), 41, 96-103), revela que a probabilidade da estrutura absoluta tal como apresentada ser correta é de 1.000, enquanto que as probabilidades da estrutura absoluta ser um gêmeo racêmico ou falsa são de 0,000 e 0,000 respectivamente. O equivalente de Flack e sua incerteza são calculados por meio deste programa como sendo -0,019(17).

[00363] A estrutura de ácido obeticólico contém um anel de 5 elementos e 3 anéis de seis elementos que são fundidos entre si. A análise conformacional no anel de 5 elementos (C13, C14, C15, C16 e C17) revela que o descritor de franzimento mais próximo para este anel é uma meia cadeira. A análise conformacional nos três anéis de 6 elementos (C1, C2, C3, C4, C5 e C10); (C5, C6, C7, C8, C9 e C10) e (C 8, C9, C11, C12 C13 e C14) revela que o descrito de franzimento mais próximo para estes anéis é uma cadeira.

[00364] Duas ligações de hidrogênio intermoleculares únicas são observadas na estrutura de cristal. Cada molécula de ácido obeticólico forma uma ligação de hidrogênio para duas moléculas

relacionadas de simetria diferente de ácido obeticólico, com os oxigênios, O1 e O4, funcionando como doadores para os oxigênios, O3 e O1 respectivamente, atuando como aceitadores, O1—H1C---O3 [D···A = 2,7419(12) Å] e O4—H4C---O1 [D···A = 2,6053(13) Å (vide Figura 35). Estas interações resultam em uma rede ligada por hidrogênio tridimensional complexa. O mapa da diferença de Fourier final mostra densidades de elétrons máxima e mínima de 0,402 e -0,176 e Å⁻³, respectivamente.

[00365] Uma sobreposição do padrão de XRPD calculado para a estrutura com os lotes experimentais mostra que o cristal coaduna-se com a massa e é compreendido pela Forma G do ácido obeticólico (vide a Figura 36).

Tabela 1. Dados de cristal para a Forma G de ácido obeticólico

Solventes de Cristalização	Acetonitrila
Método de Cristalização	Maturação sob RT/50°C
Fórmula Empírica	C ₂₆ H ₄₄ O ₄
Peso da fórmula	420,63
Temperatura	100(2) K
Comprimento de onda	1,54178 Å
Dimensão do cristal	0,40 x 0,40 x 0,30 mm
Tendência do cristal	Prisma Incolor
Sistema do cristal	Ortorrombico
Grupo espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Dimensões de célula unitária	$a = 8,72510(10)$ Å $\alpha = 90^\circ$
$b = 12,69860(10)$ Å	$\beta = 90^\circ$
$c = 22,5408(2)$ Å	$\gamma = 90^\circ$
Volume	2497,44(4) Å ³
Z	4
Densidade (calculada)	1,119 Mg/m ³
Coeficiente de absorção	0,574 mm ⁻¹

F(000) 928

Tabela 2. Coleta de dados e aprimoramento de estrutura para a Forma D de ácido obeticólico

Difractômetro	SuperNova, Dual, Cu sob zero,
Atlas	
Fonte de radiação	SuperNova (Cu) X-ray Source,
CuK α	
Método de coleta de dados	varreduras ômega
Faixa teta para coleta de dados	9,15 até 74,49°
intervalos de índice	-10 ≤ h ≤ 10, -15 ≤ k ≤ 15, -28 ≤ l ≤ 26
Reflexos coletados	50001
Reflexos independentes	5073 [R(int) = 0,0220]
Cobertura de reflexos independentes	99,4 %
Variação nos reflexos de verificação	N/A
Correção de absorção	Semi-empírica a partir de equivalentes
Transmissão máx. e mín.	1,00000 e 0,78605
Técnica de solução de estrutura	direta
Programa de solução de estrutura	SHELXTL (Sheldrick, 2001)
Técnica de refinamento	Matriz plena de mín. quadrados
em F^2	
Programa de refinamento	SHELXTL (Sheldrick, 2001)
Função minimizada	$\Sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2$
Dados / restrições / parâmetros	5073 / 0 / 286
Adequação de ajuste em F^2	1,060
$\Delta/\sigma_{\text{max.}}$	0,001
Índices R finais	
5039 dados; $ I > 2\sigma(I)$	$R_1 = 0,0320$, $wR_2 = 0,0859$
Todos os dados	$R_1 = 0,0322$, $wR_2 = 0,0861$

$$\text{Sistema de ponderação} \quad \text{calc } w=1 / [\sigma^2 (F_o^2) + (0,0503P)^2 + 0,5520P]$$

$$\text{onde } P=(F_o^2+2F_c^2)/3$$

Parâmetro de estrutura absoluta -0,01(13)

Maior diferença de pico e furo 0,402 e -0,176 eÅ⁻³

O sumário de refinamento das estruturas é o seguinte:

Átomos de Non-H pedidos, XYZ Livremente refinados

Átomos de Non-H pedidos, U Anisotrópicos

Átomos de H (em carbono), XYZ Posições idealizadas montadas em átomos ligados

Átomos de H (em carbono), U Múltiplo apropriado de
U(eq) para átomo ligado

Átomos de H (em heteroátomos), XYZ Livremente refinados

Átomos de H (em heteroátomos), U Isotrópicos

Átomos desordenados, OCC Sem desordem

Átomos desordenados, XYZ Sem desordem

Exemplo 7: Diferença de Biodisponibilidade Entre a Forma 1 de ácido obeticólico (não cristalino) e as Formas Cristalinas (Forma F)

[00366] O estado físico de um ácido obeticólico sólido pode desempenhar uma função na biodisponibilidade da molécula quando administrado de forma oral a um sujeito (por exemplo, ratos). O estudo descrito adiante foi realizado para se avaliar a cinética do plasma depois de uma única administração oral e a eficiência da absorção intestinal e a farmacocinética das formas sólidas não cristalina e cristalina de ácido obeticólico. Foram comparados os perfis da concentração de plasma de ácido obeticólico vs tempo, o t_{max} , C_{max} e AUC depois da administração da Forma 1 de ácido obeticólico (não cristalina) ou Forma F (vide Figuras 37-38)

[00367] A Forma 1 de ácido obeticólico (não cristalina) e a Forma F

foram administradas a ratos e em cada animal o sangue foi coletado em diferentes períodos de tempo durante pelo menos 3 horas. Estudaram-se seis animais para cada uma das formas de ácido obeticólico.

Protocolo experimental:

[00368] A substância de teste utilizada foi a Forma 1 de ácido obeticólico (não cristalina) e a Form F cristalina. A Forma F pode ser preparada por meio de maturação a partir de acetonitrila ou nitrometano. A formulação foi preparada na forma de uma suspensão em água sob pH 4. O modelo do estudo é compreendido por ratos Sprague Dawley adultos, machos, de cerca de 225 até cerca de 250 g (Harlan Laboratories). Seis animais foram usados por via de dosagem. A dosagem é de PO 20 mg/kg/5 ml. Os animais foram submetidos a jejum durante a noite antes do tratamento com a formulação de ácido obeticólico. A administração oral foi realizada por sonda esofágica.

[00369] No dia um (1) os animais foram providos com uma canula implantada na veia jugular esquerda (SOP VIVO/SAF6), a anestesia foi obtida por meio de Isoflurane. A experiência foi iniciada depois de um dia de recuperação após a cirurgia. Cerca de 500 µl de sangue (250 µl de plasma) foram coletados por meio da cânula em uma seringa heparinizada (Na Heparin) e coletados imediatamente em microtubos em um banho de gele/água. Depois de um período de 1 hora, as amostras foram centrifugadas sob 10000xg durante 5 minutos sob 4°C. O plasma foi imediatamente transferido em microtubos e armazenado sob -20°C. As amostras de sangue foram coletadas 30 minutos, 1 hora, 1,3 horas, 2 horas, e 3 horas pós-dose. As amostras de plasma foram analisadas utilizando-se o método quantitativo HPLC-ES/MS/MS. O estudo farmacocinético foi realizado utilizando-se métodos não compartimentados.

Resultados:

[00370] As concentrações médias de ácido obeticólico no plasma depois de 20 mg/Kg b.w de administração de dose única oral das duas formas sólidas estão reportadas na Figura 37. Os valores são a media de seis Values are the mean de seis grupos de experimentos para cada formulação. Os desvios padrão estão reportados no gráfico.

[00371] Depois da administração da forma cristalina o Cmax é obtido depois de 1,5 horas e a concentração de ácido obeticólico de plasma segue uma cinética regular com um valor máximo e depois de 3 horas a dose é quase metade do Cmax.

[00372] O perfil cinético depois da administração da Forma 1 de ácido obeticólico (não cristalino) é diferente daquele da Forma F cristalina. Um pocp de concentração de plasma prévio é obtido depois de 30 minutos e um segundo é obtido depois de 2 horas. A variabilidade dos dados nos 6 ratos é muito baixa e este comportamento é estatisticamente diferente daquele da forma cristalina. The AUC for the three hours studied is higher for the crystalline form. A cinética sugere que o ácido obeticólico ainda está presente no plasma depois de 3 horas. Foi previamente demonstrado que a passagem de ácido obeticólico através do fígado produz o conjugado tauro metabolito hepático, que é segregado na biles e acumulado na circulação enteroepática. Deste modo, a medição do conjugado tauro pode ser usada para se determinar a passagem da quantidade de ácido obeticólico através do fígado. A taxa de formação do conjugado tauro está reportada na Figura 38, que mostra que a formação do conjugado tauro é mais rápida e uma concentração mais alta é conseguida depois da administração da forma cristalina.

Ponto de fusão e transição vítreo

[00373] Os pontos de fusão da Forma 1 de ácido obeticólico (não cristalina) e da Forma F cristalina foram medidos utilizando-se um

método convencional. O ponto de fusão de ácido Chenodeoxycholic acid e de ácido Ursodeoxycholic foram medidos como compostos de referência. As medições foram realizadas em triplicata. Para a forma cristalina a transição do estado sólido para líquido é definida como temperatura de fusão (T_m) enquanto que para a forma não cristalina é definida como transição de temperatura vítreia (T_g). Na tabela estão reportados os valores expressos tanto em Celsius °C quanto em Kelvin °K.

Tabela 3: Pontos de fusão de ácido obeticólico (Forma 1 e Forma F) e CDCA e UDCA

Composto	Dados experimentais		Dados da literatura	
	T_m (°C)	T_g (°C)	T_m (°C)	T_g (°C)
CDCA	136-140	-	119	
			143	98
			163	
UDCA	203-207	-	203	105
Ácido obeticólico	120-124 235-237	108-112	-	-

Composto	Fafos experimentais			Dados da literatura		
	T_m (°K)	T_g (°K)	T_g/T_m (°K)	T_m (°K)	T_g (°K)	T_g/T_m (°K)
CDCA	409-413	-	-	392		
				416	371	0,85
				436		
UDCA	476-480	-	-	477	378	0,79
Ácido obeticólico	393-397 508-510	381-385	0,75	-	-	0,75

Resultados:

[00374] Os valores obtidos para CDCA e UDCA concordam com aqueles anteriormente reportados, onde o ponto de fusão de UDCA é mais alto do que aquela de CDCA. A temperatura de transição vítreia

Tg da Forma 1 (102-112°C) é mais baixa do que a temperatura do ponto de fusão Tm da Forma F (120-124°C). Este padrão observado concorda com os dados reportados anteriormente quando as duas formas de estado sólido são comparadas. A Forma F é dotada de uma transição adicional sob uma temperatura mais alta (235-237°C).

[00375] A relação entre a temperatura do ponto de fusão mais alta e a temperatura de transição vítreia expressa em graus Kelvin é muito semelhante a de outros fármacos e de outros ácidos biliares. (J. Kerc *et al.* Thermochim. Acta, 1995 (248) 81-95).

Análise de calorimetria de varredura diferencial

[00376] Análise de calorimetria de varredura diferencial (DSC) foi realizada para melhor definir os pontos de fusão e o estado físico das formas de ácido obeticólico cristalino e não cristalino. O instrumento usado foi um Mettler Toledo DSC model 821e. Aproximadamente 4-5 mg de cada Forma 1 e Forma F foram submetidas a análise. Os compostos foram expostos a uma faixa de temperaturas de 30-300°C sob taxa de aquecimento de 10°C/min.

[00377] A Figura 39 mostra a curva da DSC obtida para a Forma F de ácido obeticólico cristalino. Uma transição endotérmica a 120,04°C foi detectada correspondente ao ponto de fusão do composto. Este resultado foi confirmado também por meio de microscopia de estado quente (HSM); na faixa de 30°-240°C a transição de sólido para líquido foi observada em 122°-124°C. No traçado da DSC, a configuração de pico e a intensidade obtida para a Forma F estão em concordância com o comportamento típico mostrado pelas formas cristalinas. Não obstante, a largura de pico é mais ampla; isto pode ser devido a cristais não homogêneos. A análise termo gravimétrica (TGA) não mostra qualquer perda de peso na faixa de temperaturas 30-300°C.

[00378] A Figura 40 mostra a curva da DSC obtida para a Forma 1 de ácido obeticólico não cristalino. Em 79,95°C foi observada uma

transição endotérmica. A forma de pico e intensidade estão em concordância com o comportamento esperado para os compostos não cristalinos. Para estas substâncias a energia requerida para a transição de sólido para líquido (transição vítreia) é menor do que para os compostos cristalinos. O termograma não mostrou qualquer perda de peso na faixa de temperaturas de 30°-300°C.

Solubilidade na água

[00379] A solubilidade da Forma 1 de ácido obeticólico (não cristalino) e da Forma F cristalina na água foi medida seguindo-se procedimentos que são conhecidos na técnica. Sucintamente, o sólido foi colocado em suspensão na água sob um pH baixo (HCl 0,1 mol/l) e deixou-se equilibrar sob 25°C durante uma semana sob mistura suave. A solução saturada foi filtrada e a concentração do composto na solução foi medida por meio de HPLC-ES-MS/MS.

Resultados:

	Solubilidade na água (μmol/L)
Forma 1	17,9
Forma F	9,1

[00380] A Forma 1 apresenta uma solubilidade mais alta 17,9 μmol/l vs. 9,1 μmol/l para a Forma F.

[00381] De acordo com os dados de biodisponibilidade do ácido obeticólico, a Forma F cristalina é mais alta do que a Forma 1 de ácido obeticólico (não cristalino). Apesar de um pico de concentração plasmática observado anteriormente após administração da Forma 1, os perfis de plasma mostram que a Forma F é absorvida mais eficientemente (AUC mais alto) e até mesmo a cinética é mais regular, refletindo uma distribuição ótima do fármaco in the intestinal content. Form 1 mostra this early peak then a later second one com no conteúdo intestinal. A Forma 1 mostra este pico anterior, então um segundo posterior com uma Cmax mais baixa do que a Forma F.

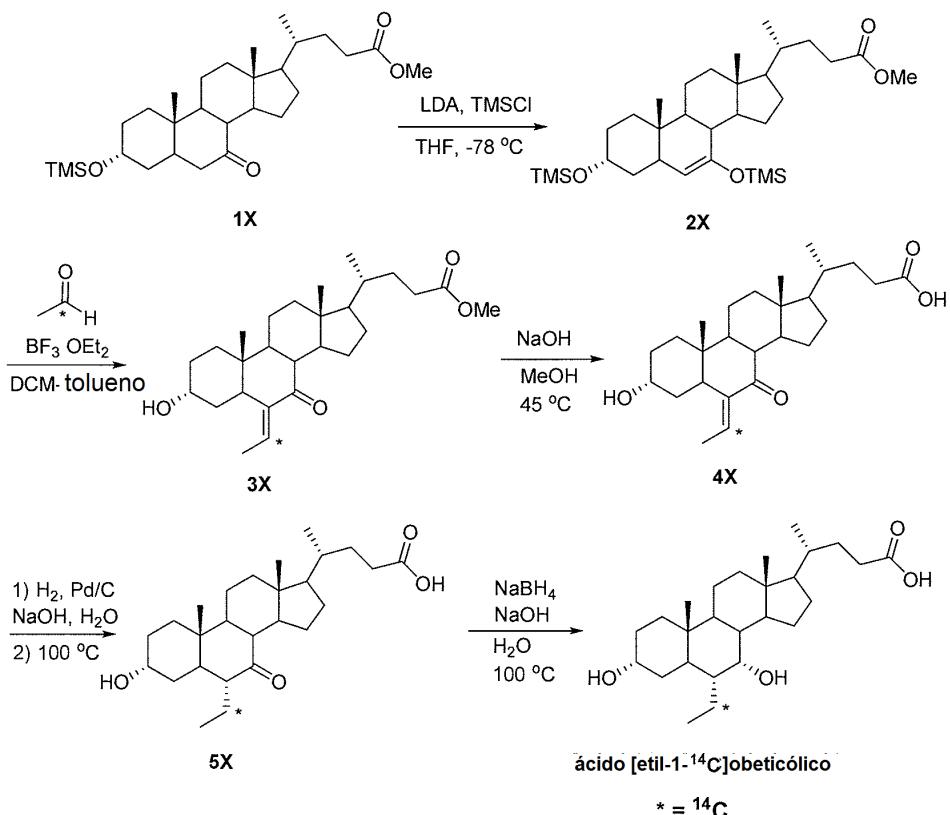
[00382] A solubilidade da Forma 1 na água é mais alta do que a Forma F. A Forma F parece ser estável uma vez que a análise termo gravimétrica (TGA) não mostrou qualquer perda de peso em uma faixa de temperaturas estudada.

[00383] De acordo com estes resultados, a Forma F quando administrada oralmente parece ser mais eficientemente absorvida pelo intestino e absorvida pelo fígado. A taxa de formação do conjugado tauri metabolite hepático principal é quase duas vezes para a Forma F comparada com a Forma 1, sugerindo um transporte mais eficiente e acúmulo na circulação enteroepática e na concentração de plasma depois de 3 horas.

Exemplo 8: Preparação de Ácido Obeticólico Radiorrotulado

[00384] Ácido obeticólico radiorrotulado foi preparado de acordo com o esquema exposto em seguida.

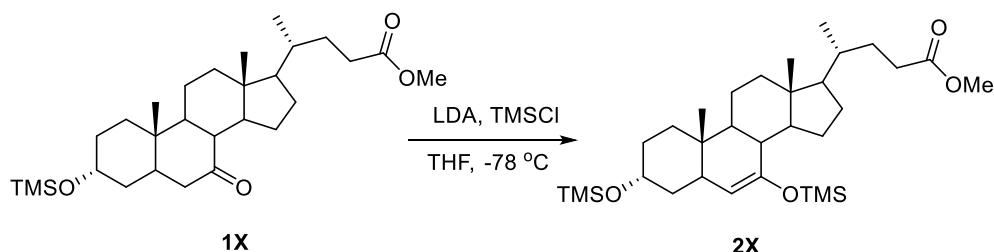
Esquema 5



[00385] Registraram-se espectros de NMR em solução CDCl_3 e

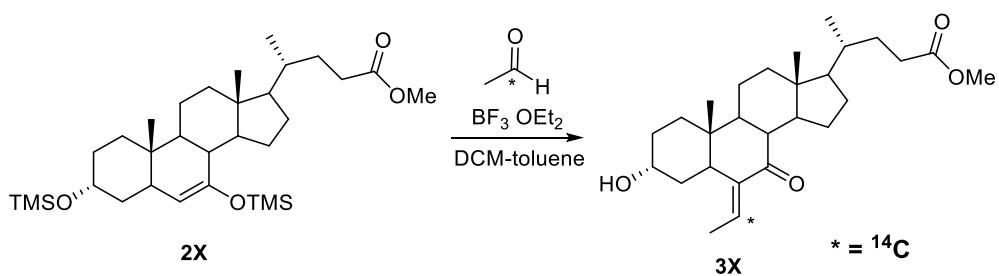
MeOD-d₄ em tubos de 5-mm d.e. (Norell, Inc. 507-HP) sob 30°C e foram colerados em Varian VNMRS-400 sob 400 MHz para ¹H. Os desvios químicos (δ) são relativos ao tetrametilsilano (TMS = 0,00 ppm) e expressos em ppm. LC-MS/MS foi obtido em Ion-trap Mass Spectrometer em Accela-Thermo Finnigan LCQ Fleet operand ona modalidade de ionização EST (-). HPLC foi tomado em Agilent 1200 series (Coluna: Xterra MS C8, 250 x 4,6 mm, 5 μ m, 40°C) em linha β -Ram. Atividade específica foi tomada em LSA (Liquid Scintillation Analyzer, Perkin Elmer, Tri-Carb 2900TR).

Preparação de composto 2X



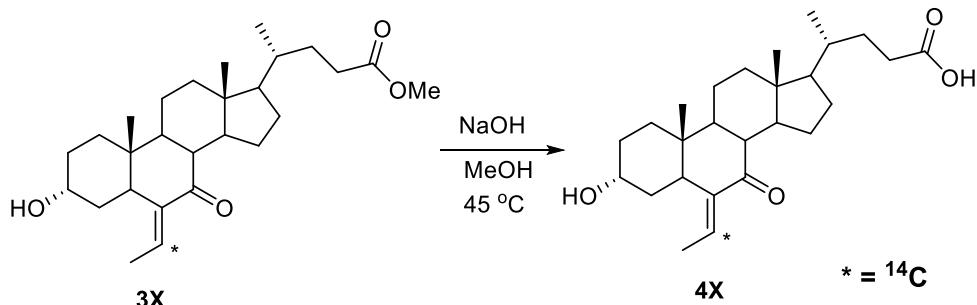
[00386] A uma solução de diisopropilamina (1,59 g, 15,8 mmol) em THF anidro (6,0 ml) foi adicionado n-BuLi (6,30 ml, 2,5 M, 15,8 mmol) sob -20°C. Depois de agitação da mistura de reação durante 1 h sob -20°C, refrigerada para -78°C e TMSCl (1,72 g, 15,8 mmol) foi adicionado seguido pelo composto 1X (3,00 g, 6,29 mmol) em THF anidro (6,0 ml). A mistura de reação foi submetida a agitação durante 1 h sob -78°C, extinta por adição de NaHCO₃ e submetida a agitação durante 30 min. sob temperatura ambiente. A camada orgânica foi separada e concentrada *in vacuo* para proporcionar o composto 2X (3,29 g, 95%) e usada na etapa seguinte sem qualquer outra purificação.

Preparação de composto 3X



[00387] O [1-¹⁴C]actaldeído (330 mCi, 5,63 minol) (preparado a partir de [¹⁴C]BaCO₃, SA = 58,6 mCi/mmol) em tolueno (1,0 ml) e acetaldeído (130 mg, 2,95 mmol) em DCM (2,0 ml) foram misturados sob -78°C e então transferidos para uma solução do composto 2X (3,29 g, 6,00 mmol) em DCM (13,0 ml) seguido por adição de BF₃·OEt₂ (1,05 g, 7,40 mmol) sob -78°C. Depois de agitação durante 1 h sob -78°C, deixou-se a mistura de reação ser aquecida para 35°C e submetida a agitação durante 1 h sob a temperatura supra. A reação foi extinta por meio da adição de água (10 ml), a camada aquosa foi extraída com DCM, a camada orgânica combinada foi submetida a secagem sobre Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi purificado por meio de cromatografia de coluna em SiO₂ (Hexano: EtOAc = 5:1 até 3:1) para proporcionar o composto 3X (102 mCi, 31%, SAW 37,0 mCi/mmol) na forma de um sólido de cor branca. ¹H-NMR (CDCl₃, Varian, 400 MHz): δ 0,65 (3H, s); 0,93 (3H, d, *J* = 6,0 Hz), 1,01 (3H, s), 1,06-1,49 (12H, m), 1,62-2,04 (7H, m), 1,69 (3H, d, *J* = 6,8 Hz), 2,18-2,28 (2H, m), 2,32-2,43 (2H, m), 2,58 (1H, dd, *J* = 12,8, 4,0 Hz), 3,62-3,70 (1H, m), 3,67 (3H, s), 6,18 (1H, q, *J* = 6,8 Hz).

Preparação do composto 4X

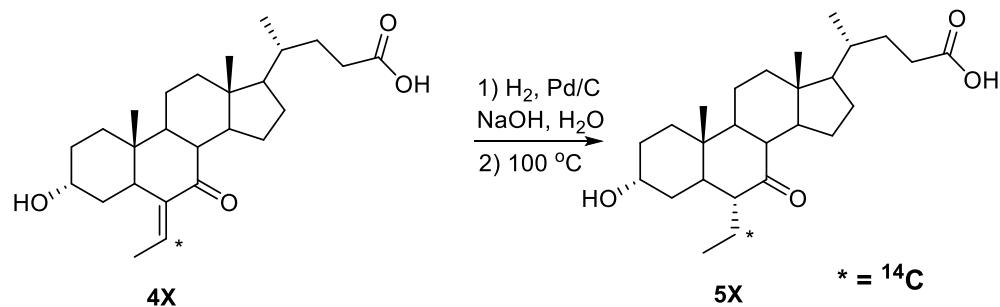


[00388] A uma solução do composto 3X (102 mCi, 2,75 mmol) em

MeOH (6,0 ml) foi adicionado NaOH (220 mg, 5,50 mmol) em H₂O (3,0 ml) sob temperatura ambiente. Depois de agitação a mistura de reação durante 1 h sob 45°C, refrigerada para a temperatura ambiente, MeOH foi removido sob pressão reduzida e diluído com H₂O (12 ml). A camada aquosa foi acidulada com H₃PO₄, extraída com DCM e a camada orgânica foi concentrada *in vacuo*. O resíduo foi suspenso em Et₂O e o precipitado foi coletado por meio de filtração para proporcionar o composto 4X (86,3 mCi, 85%) na forma de um sólido de cor branco.

[00389] ¹H-NMR (CDCl₃, Varian, 400 MHz); δ 0,63 (3H, s), 0,92 (3H, d, *J*= 6,0 Hz), 0,99 (3H, s), 1,04-1,50 (13H, m), 1,61-2,01 (7H, m), 1,67 (3H, d, *J*= 7,2 Hz), 2,21-2,28 (2H, m), 2,35-2,41 (2H, m), 2,56 (1H, dd, *J*= 12,8, 4,0 Hz), 3,58-3,69 (1H, m), 6,16 (1H, q, *J*= 7,2 Hz).

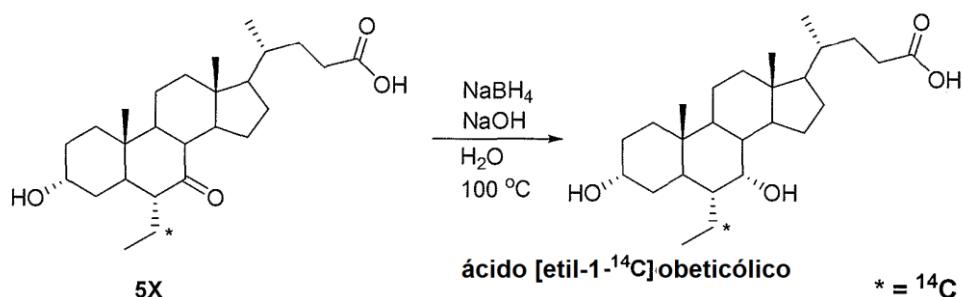
Preparação do composto 5X



[00390] A mistura de composto 4X (86,3 mCi, 2,35 mmol) e 5% - Pd/C (100 mg) em aq. 0,5 M NaOH (10 ml, 5,0 mmol) foi submetida a agitação durante 10 h sob temperatura ambiente sob atmosfera de H₂ (balão) e então submetida a agitação durante 14 h sob 100°C. O catalisador foi removido por meio de filtração, lavado com água e o filtrado foi acidulado com H₃PO₄. O precipitado foi coletado por meio de filtração, o sólido foi dissolvido em EtOAc, lavado com solução salina, filtrado através de um chumaço curto de SiO₂ e concentrado *in vacuo*. O sólido residual foi recristalizado com EtOAc para proporcionar o composto 5X (67,7 mCi, 78%) na forma de um composto de cor branco.

[00391] $^1\text{H-NMR}$ (MeOD-d₄, Varian, 400 MHz): δ 0,71 (3H, s), 0,75-0,84 (1H, m), 0,81 (3H, t, J = 7,4 Hz), 0,921,01 (1H, m), 0,96 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,06-1,38 (7H, m), 1,25 (3H, s), 1,41-1,96 (12H, m), 2,01-2,05 (1H, m), 2,11-2,24 (2H, m), 2,30-2,37 (1H, m), 2,50 (1H, t, J = 11,4 Hz), 2,80-2,85 (1H, m), 3,42-3,49 (1H, m).

Preparação de ácido [etil-1- ^{14}C] obeticólico



[00392] A uma solução de composto 5X (67,7 mCi, 1,83 mmol) em aq. 2 M NaOH (4,50 ml, 9,00 mmol) foi adicionada uma solução de NaBH₄ (416 mg, 11,0 mmol) em 1120 (2,0 ml) sob 80°C. Depois de agitação da mistura de reação durante 2 h sob 100°C, água (6,0 ml) foi adicionada sob temperatura ambiente e acidulada com H₃PO₄. A camada aquosa foi extraída com DCM, submetida a secagem sobre Na₂SO₄ anidro, filtrada através de um curto chumaço de SiO₂ e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi purificado por meio de cromatografia de coluna em SiO₂ (Hexano:EtOAc = 1:1 até 1:3) para proporcionar o produto (44,0 mCi, 65%) na forma de um sólido de cor branca. O produto (44,0 mCi, 1,19 mmol) e ácido obeticólico (120 mg, 0,285 mmol) foram dissolvidos em EtOAc (4 ml), a solução foi submetida a agitação durante 2 h sob 50°C e então concentrada *in vacuo*. O óleo residual foi colocado em suspensão em Et₂O, o precipitado foi coletado por meio de filtração para proporcionar o ácido [etil-1- ^{14}C] obeticólico (560 mg, 38,5 mCi, SA = 29 mCi/ mmol) na forma de um sólido de cor branca.

[00393] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, Varian, 400 MHz): δ 0,66 (3H, s), 0,88 (3H, s), 0,93 (3H, t, J = 7,2 Hz), 0,93 (3H, d, J = 6,4 Hz), 0,96-1,04

(1H, m), 1,08-1,52 (14H, m), 1,51-1,60 (1011, m), 2,22-2,30 (111, m), 2,36-2,44 (1H, m), 3,38-3,45 (111, m), 3,71 (1H, s).

LC-MS/MS (MS: LCQ Fleet): MS Calculado: 421,56; MS Encontrado: 421,07 [M-H]⁻.

[00394] Radio TLC: TLC placa de sílica 60 F₂₅₄, e fase móvel é EtOAc. A pureza radioquímica é 98,90%, R_f = 0,675

[00395] HPLC (Agilent 1200 series): Fase móvel; acetonitrila: 5 mM Tampão de fosfato (pH = 3) : MeOH = 450:450:100. A pureza radioquímica é de 98,19% (β -ram), R_t = 20,00 min.

[00396] O ácido [Etil-1-¹⁴C] obeticólico é dotado de uma fórmula molecular de 14C1C25H44O4 e um peso molecular de 421,46 sob a atividade específica de 29 mCi/mmol por LSC.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende a Forma 1 de ácido obeticólico e um veículo farmaceuticamente aceitável, em que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 1% de ácido quenodesoxicólico.

2. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico ainda compreende entre 0% e 0,15% de ácido 6 β -etilquenodesoxicólico.

3. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,07% de ácido 6 β -etilquenodesoxicólico.

4. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,06% de ácido 6 β -etilquenodesoxicólico.

5. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 4, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,05% de ácido 6 β -etilquenodesoxicólico.

6. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,5% de ácido quenodesoxicólico.

7. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,3% de ácido quenodesoxicólico.

8. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 7, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,2% de ácido quenodesoxicólico.

9. Composição farmacêutica, de acordo com a

reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico ainda compreende entre 0% e 0,15% de ácido 3 α (3 α ,7 α -dihidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-oilóxi)-7 α -hidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-óico.

10. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,07% de ácido 3 α (3 α ,7 α -dihidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-oilóxi)-7 α -hidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-óico.

11. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,06% de ácido 3 α (3 α ,7 α -dihidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-oilóxi)-7 α - hidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-óico.

12. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 11, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,05 % de ácido 3 α (3 α ,7 α -dihidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-oilóxi)-7 α -hidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-óico.

13. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende ainda entre 0% e 0,15% de ácido 6 β -etilquenodesoxicólico e entre 0% e 0,15% de ácido 3 α (3 α ,7 α -dihidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-oilóxi)-7 α -hidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-óico.

14. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 13, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,07% de ácido 6 β -etilquenodesoxicólico.

15. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 13, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,05% de ácido 6 β -etilquenodesoxicólico.

16. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 13, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido

obeticólico compreende entre 0% e 0,5% de ácido quenodesoxicólico.

17. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 16, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,3% de ácido quenodesoxicólico.

18. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,2% de ácido quenodesoxicólico.

19. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,05 % de ácido 6 β -etilquenodesoxicólico e entre 0% e 0,05 % de ácido 3 α (3 α ,7 α -dihidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-oílico)-7 α -hidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-óico.

20. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 19, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,3% de ácido quenodesoxicólico.

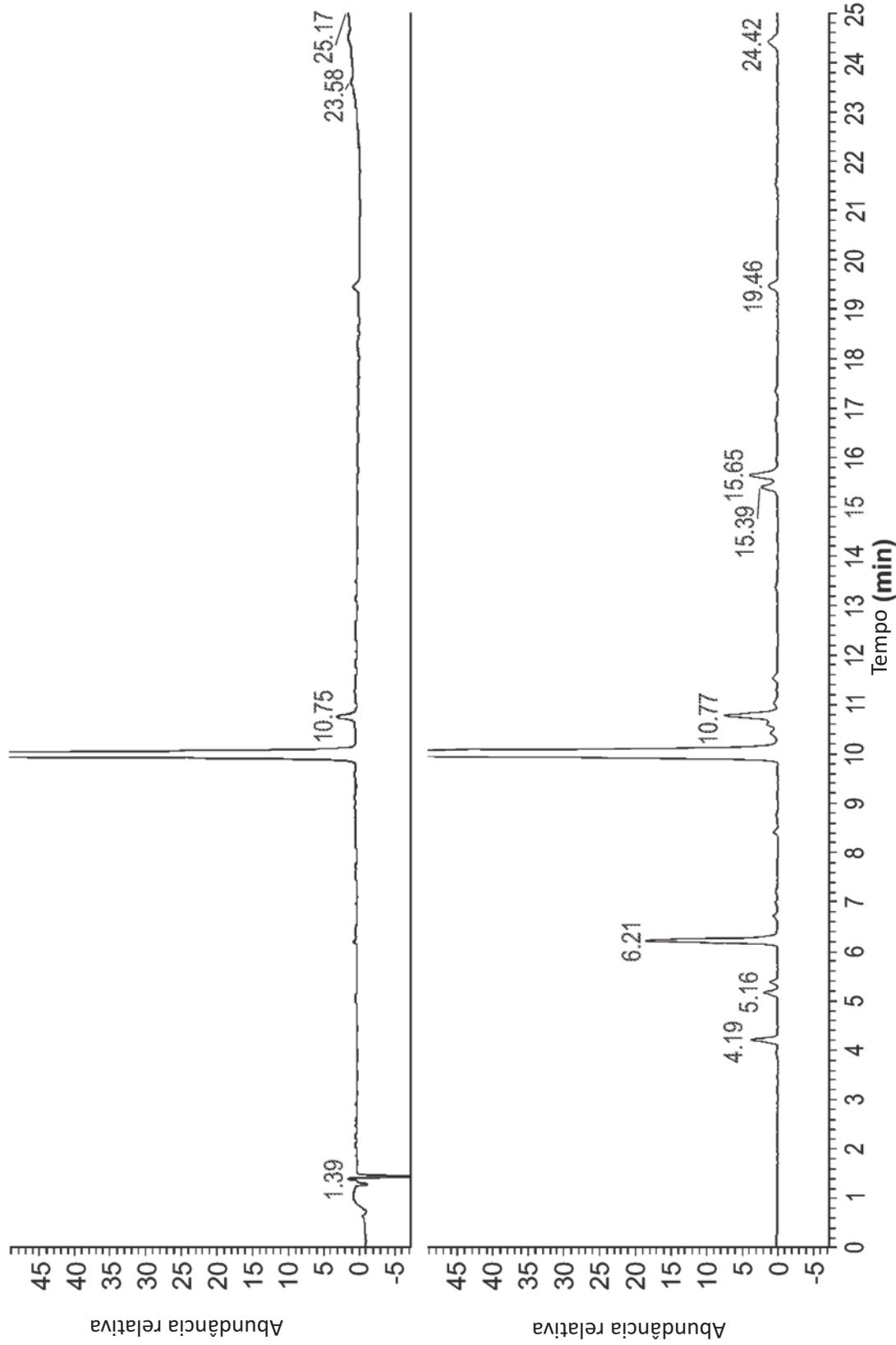
21. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 20, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende entre 0% e 0,2% de ácido quenodesoxicólico.

22. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a Forma 1 de ácido obeticólico ainda compreende entre 0% e 2% de água.

23. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende a Forma 1 de ácido obeticólico e um veículo farmaceuticamente aceitável, em que a Forma 1 de ácido obeticólico compreende um ou mais compostos selecionados dentre ácido 6 β -etilquenodesoxicólico, ácido quenodesoxicólico, e ácido 3 α (3 α ,7 α -dihidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-oílico)-7 α -hidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-óico, em que o ácido 6 β -etilquenodesoxicólico está presente em uma quantidade entre 0% e 0,05%, o ácido quenodesoxicólico está presente em uma quantidade entre 0% e 0,2%, e o ácido 3 α (3 α ,7 α -di-

hidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-oilóxi)-7 α -hidróxi-6 α -etil-5 β -olan-24-óico
está presente em uma quantidade entre 0% e 0,05%.

FIG. 1



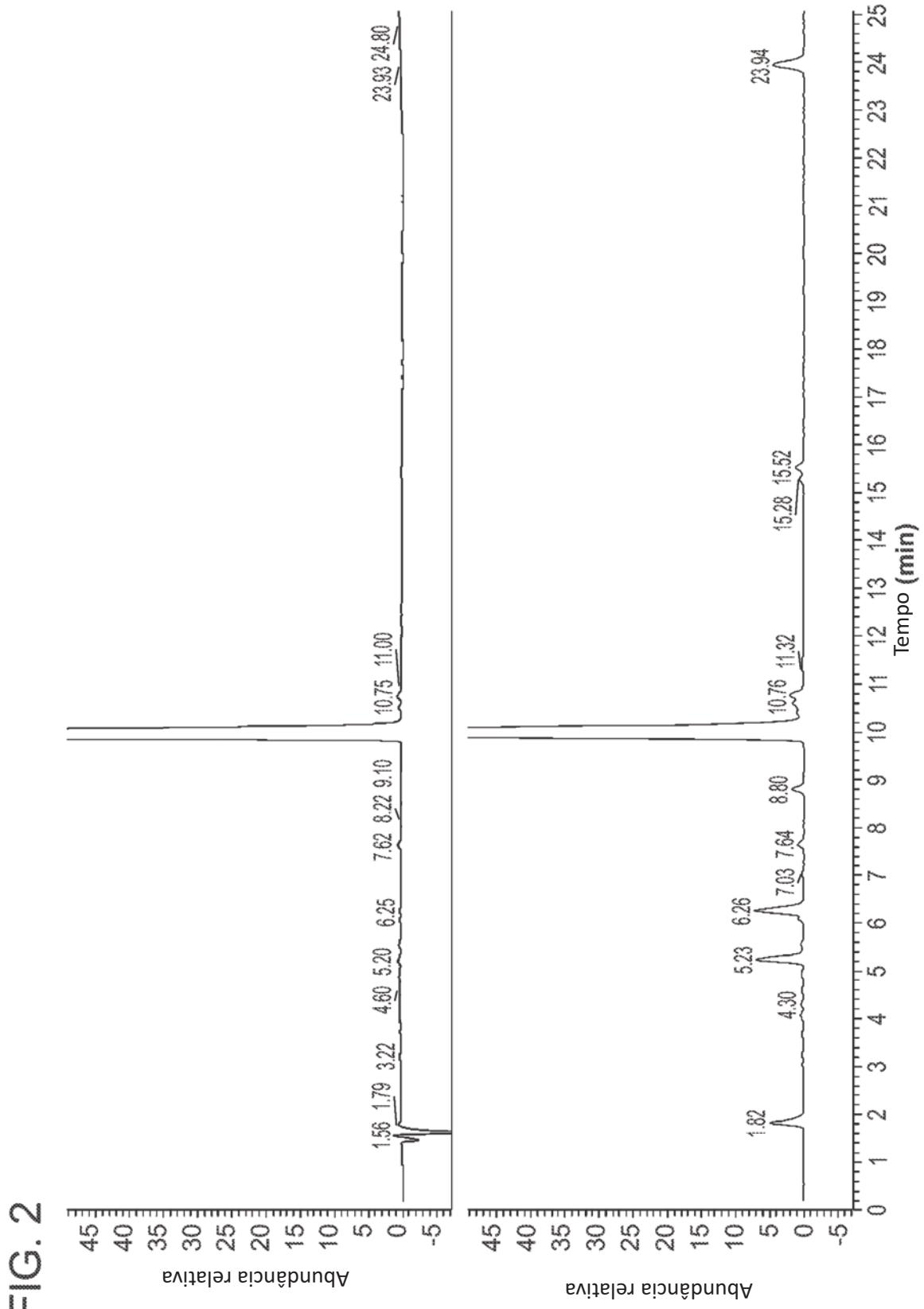


FIG. 3

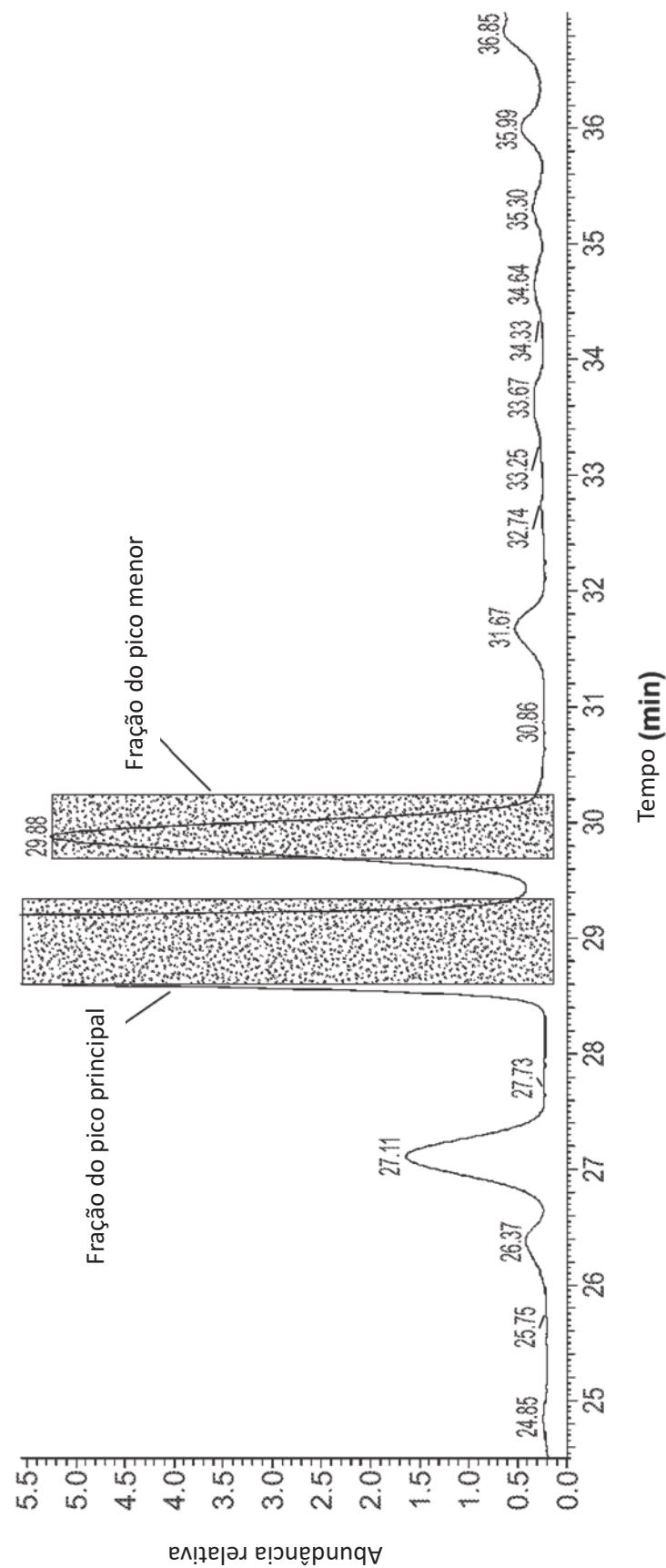


FIG. 4A

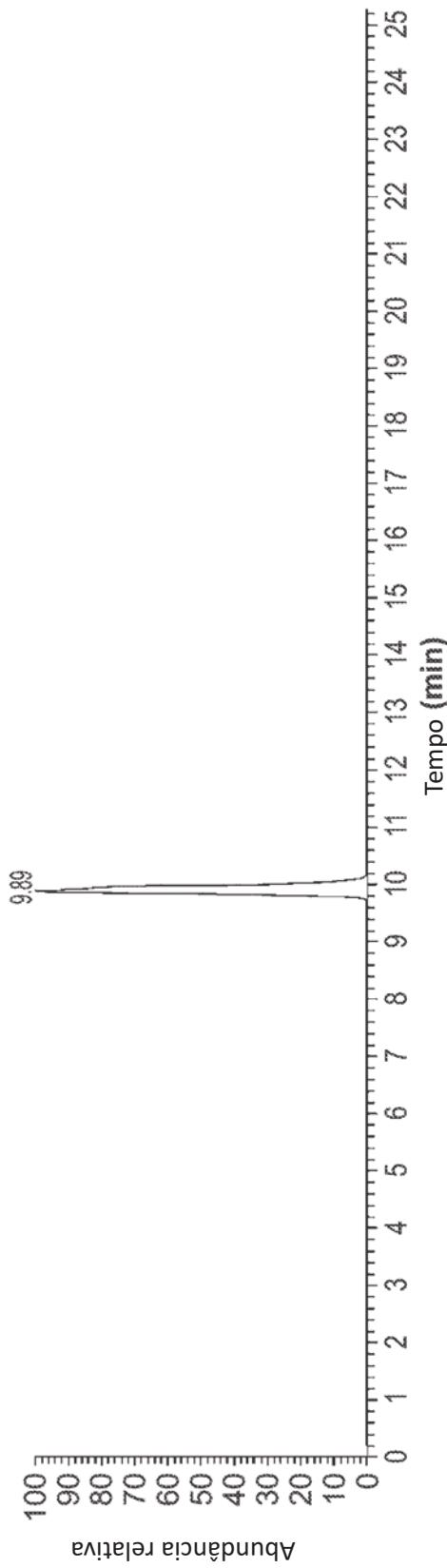


FIG. 4B

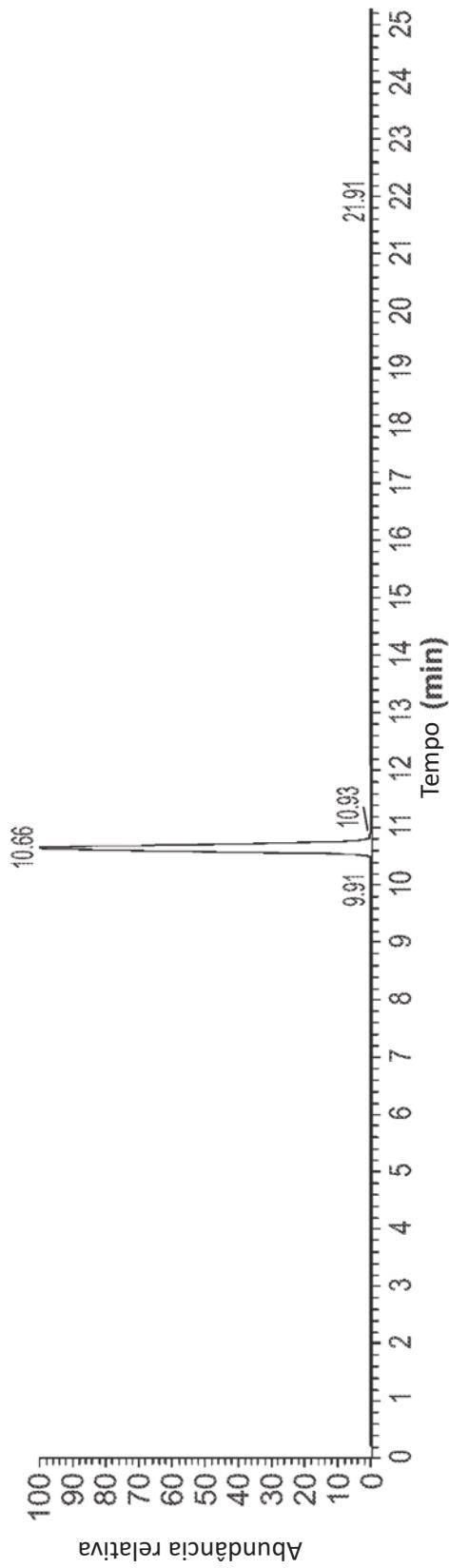


FIG. 4C

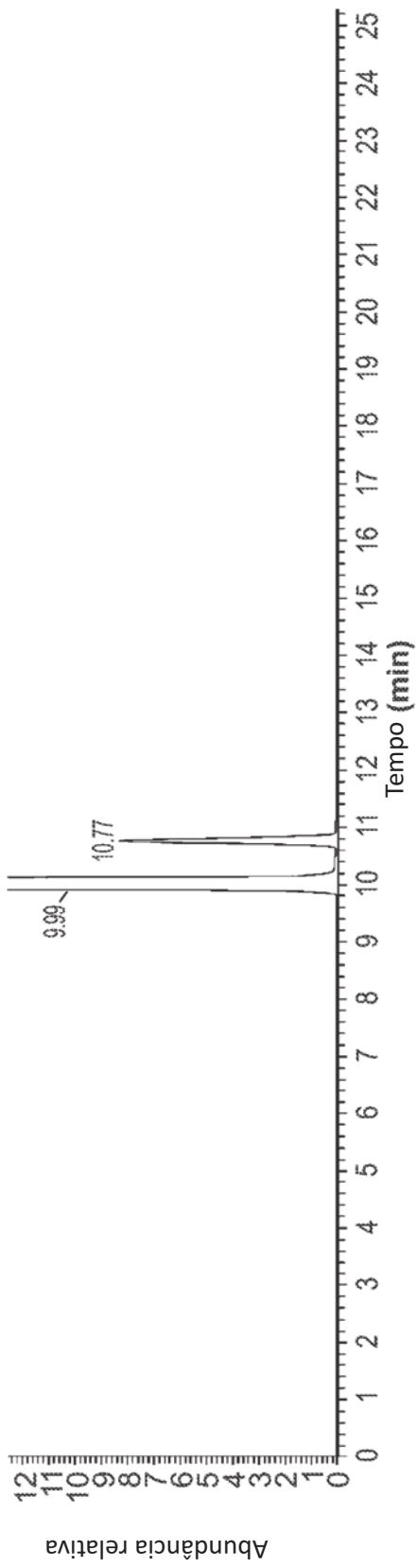


FIG. 4D

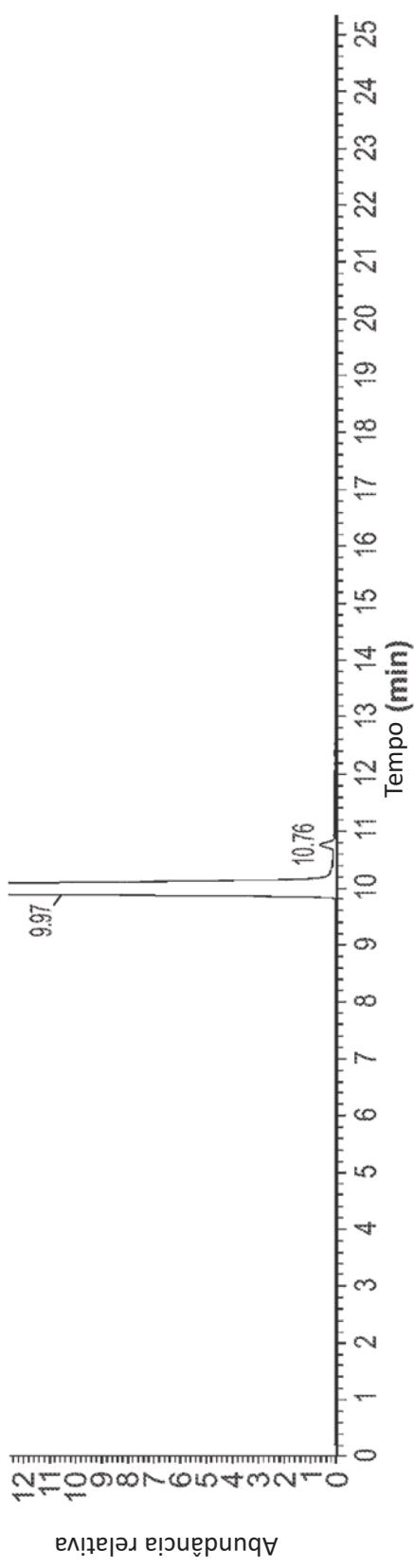


FIG. 5

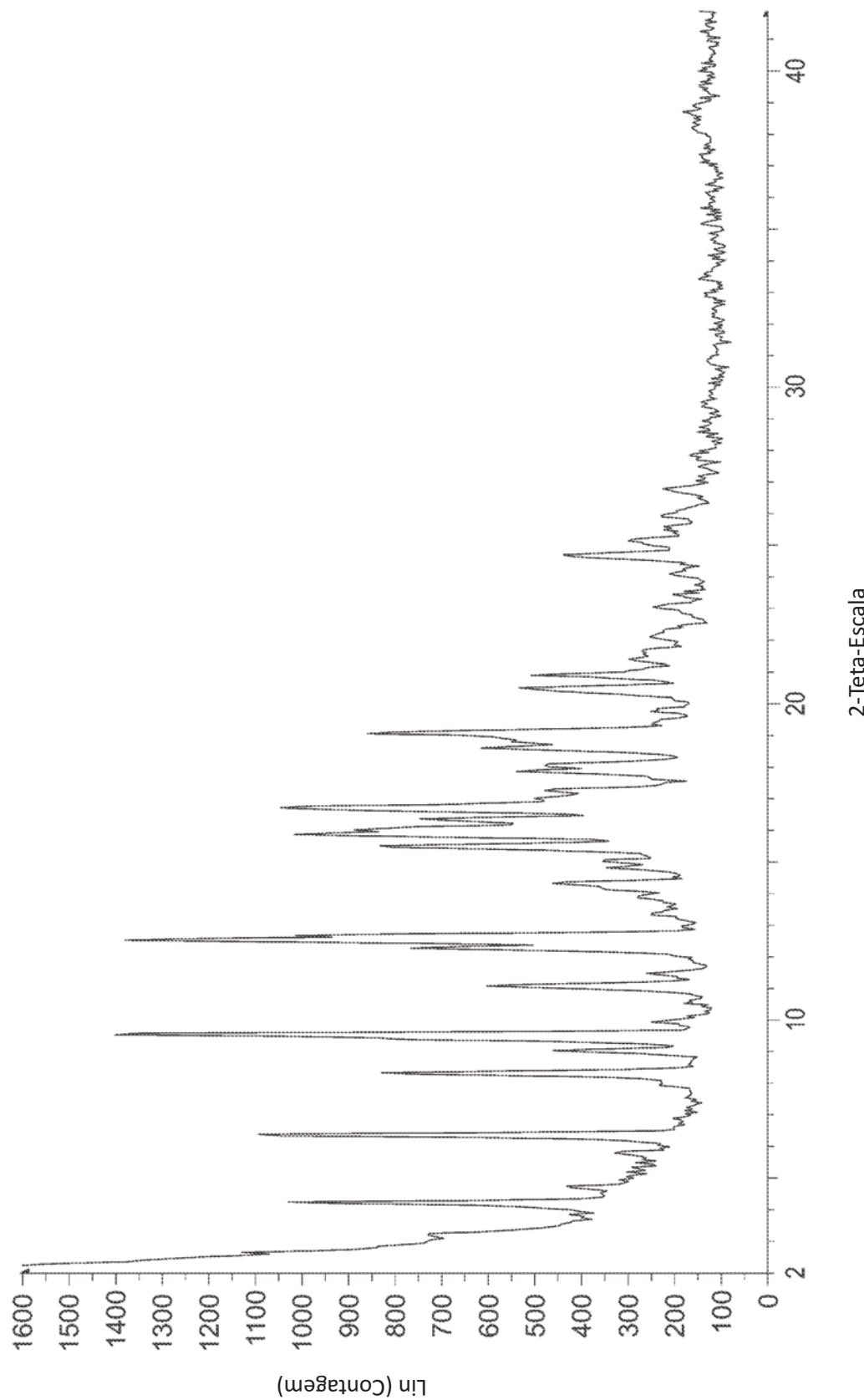


FIG. 6

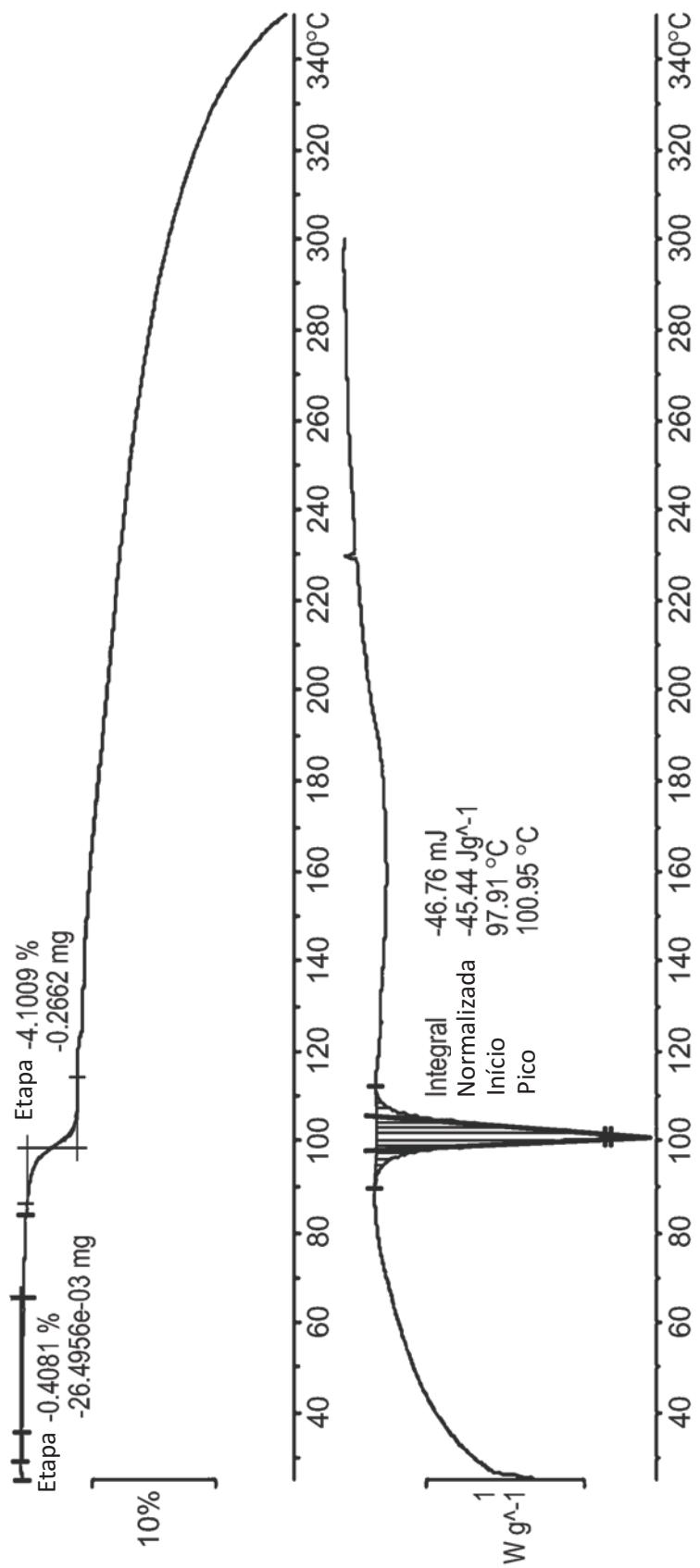


FIG. 7

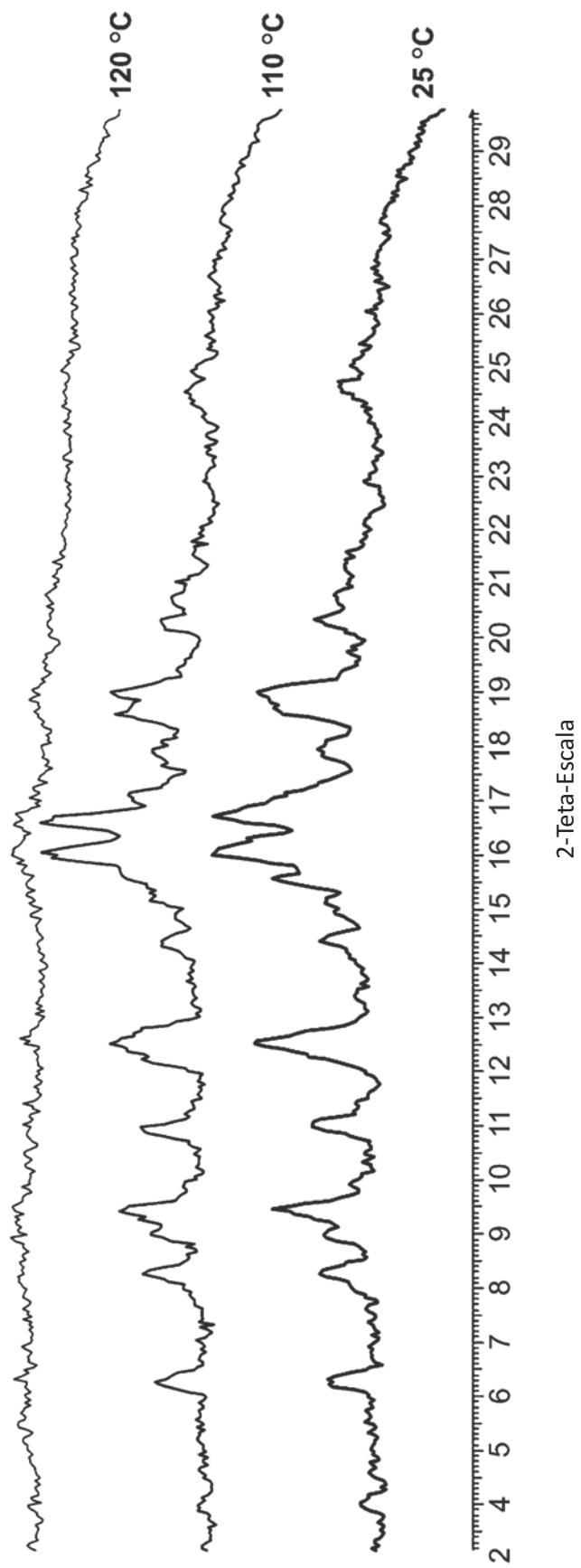


Gráfico isotérmico de DVS

FIG. 8A

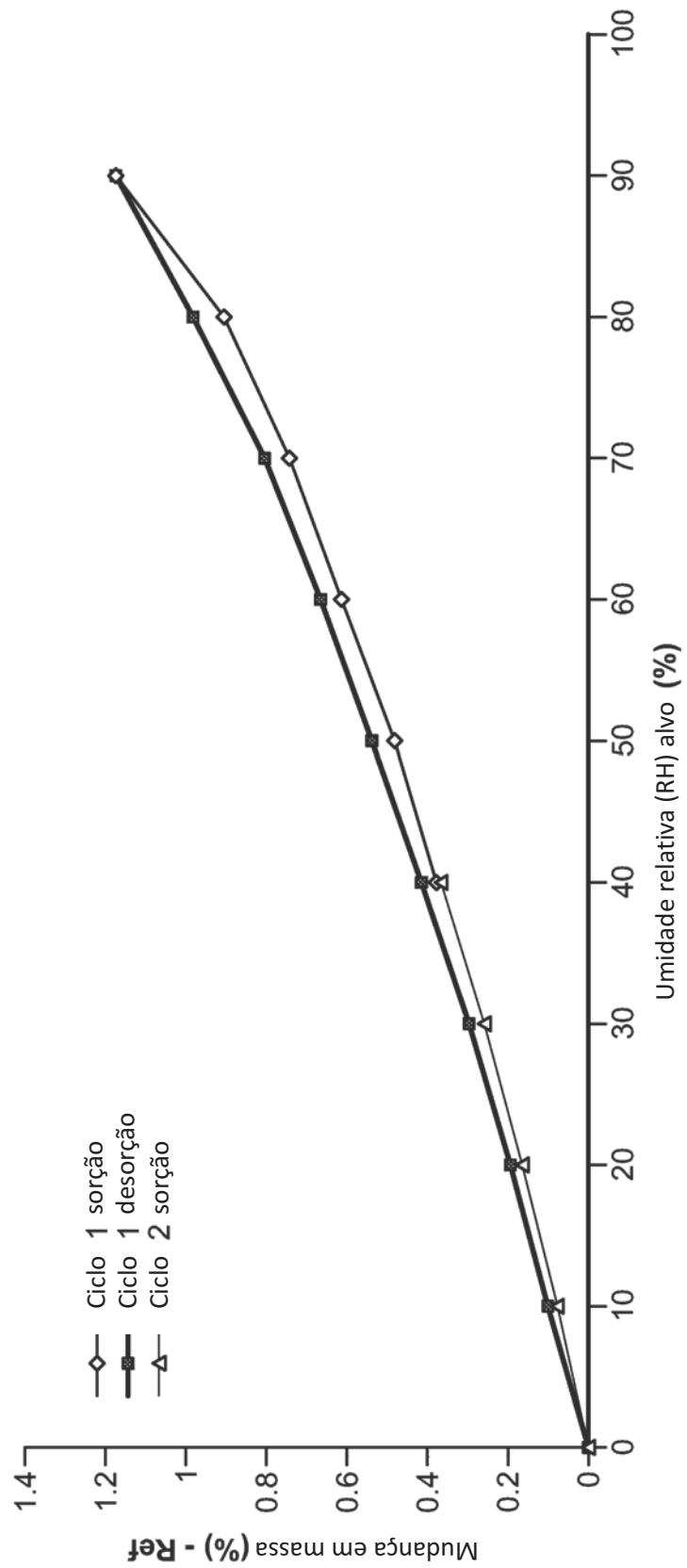


Gráfico de mudança em massa de DVS (ref)

FIG. 8B

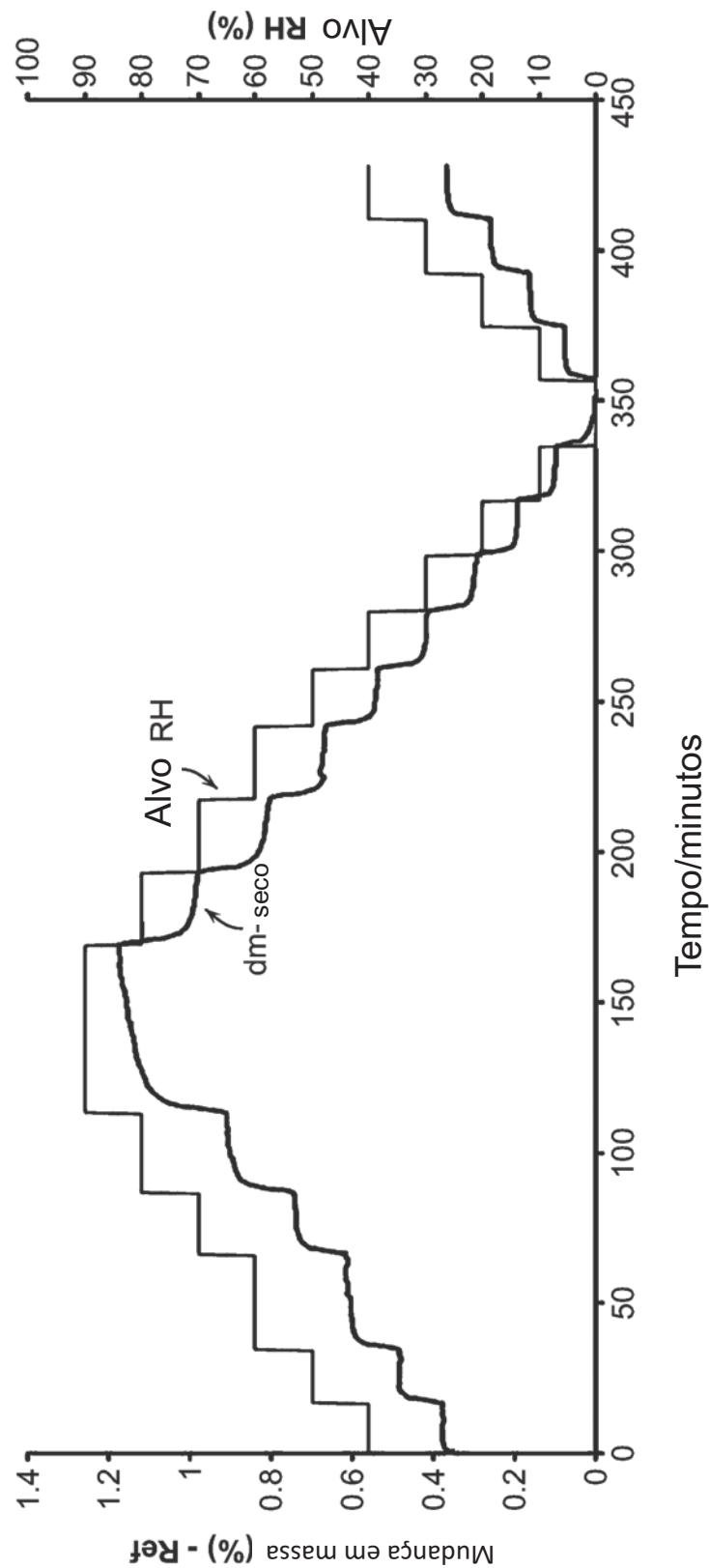


FIG. 8C

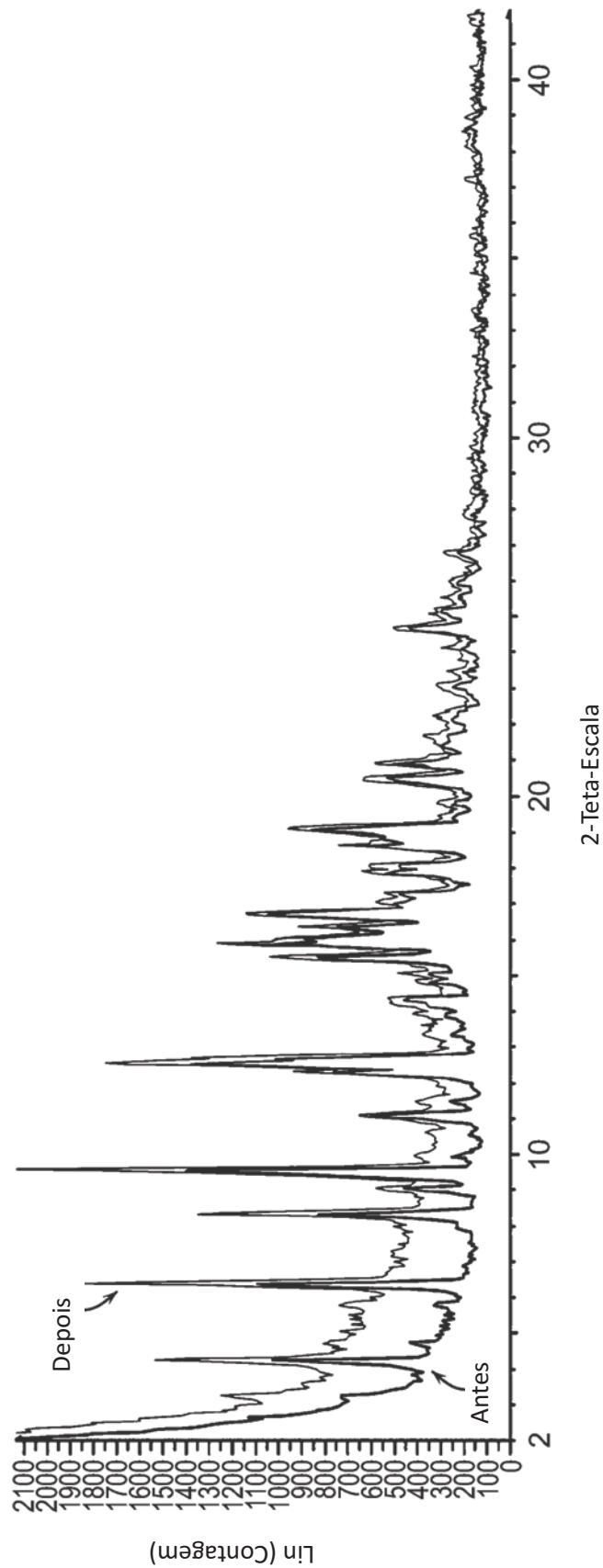


FIG. 9

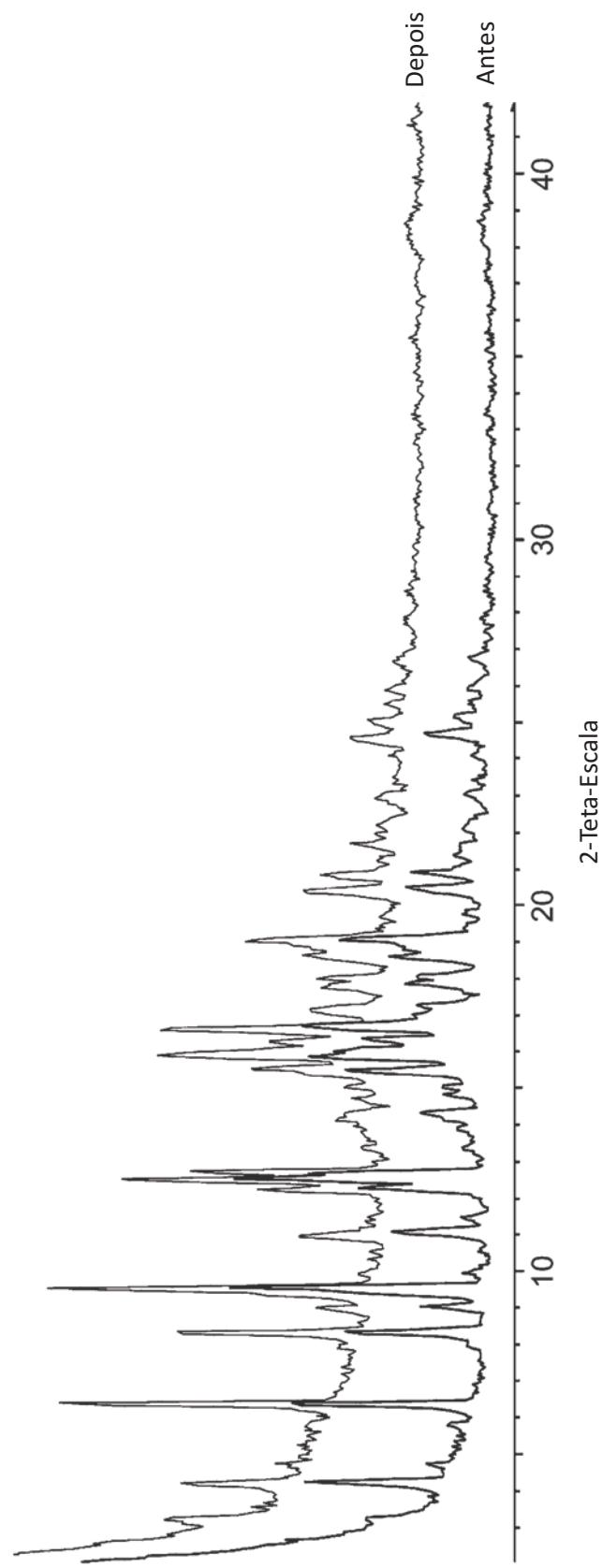
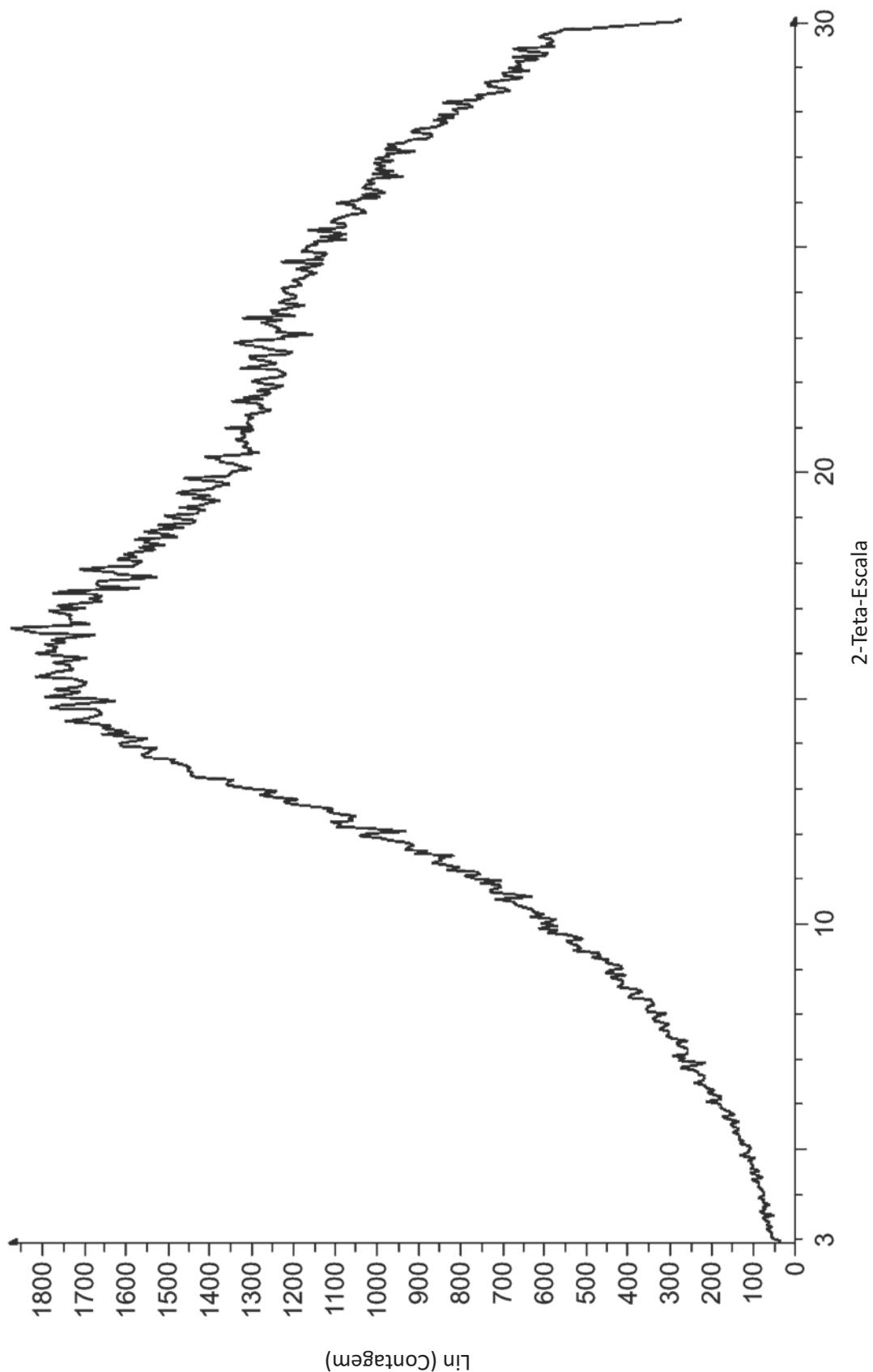
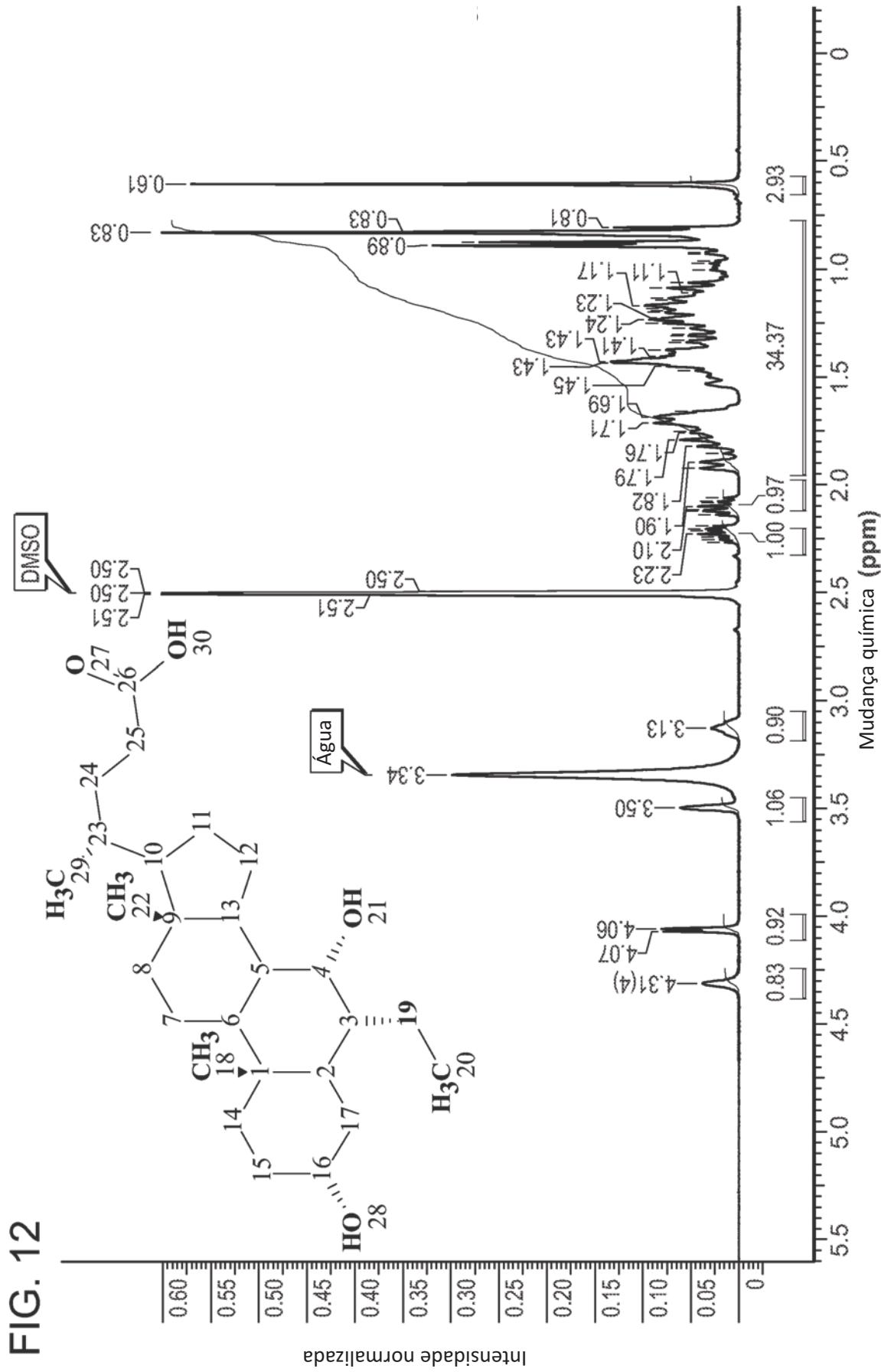
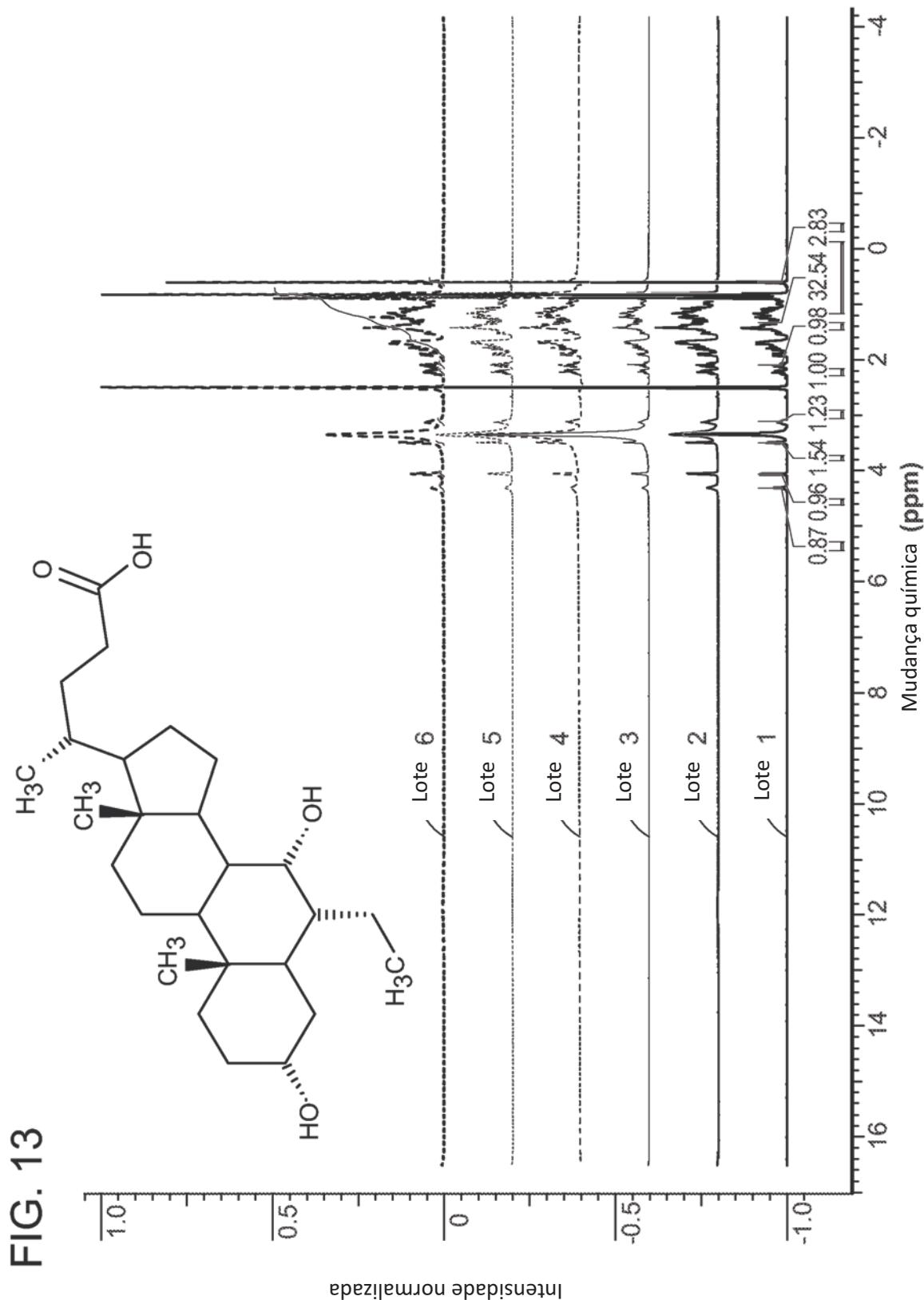


FIG. 10









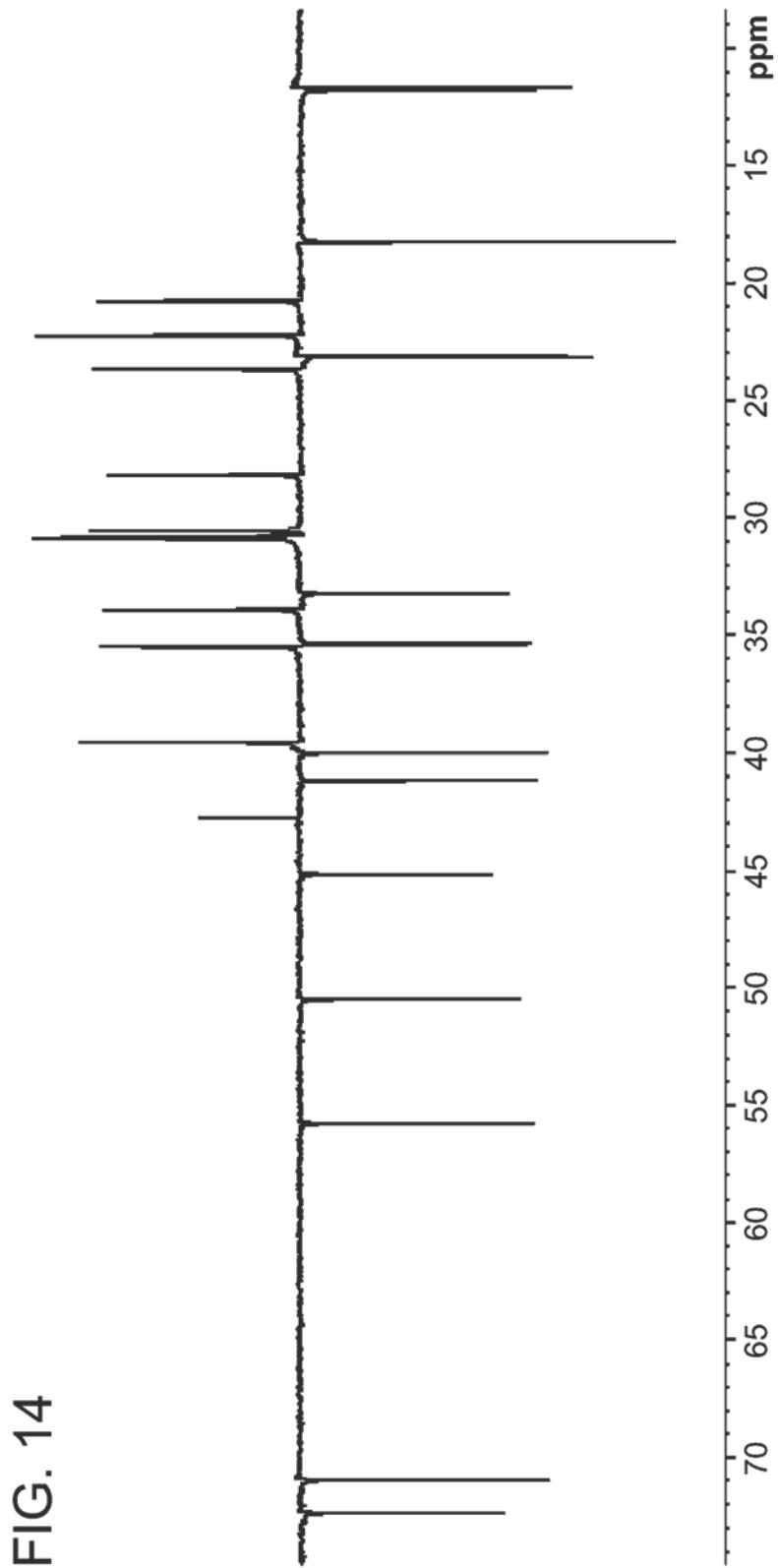


FIG. 14

FIG. 15

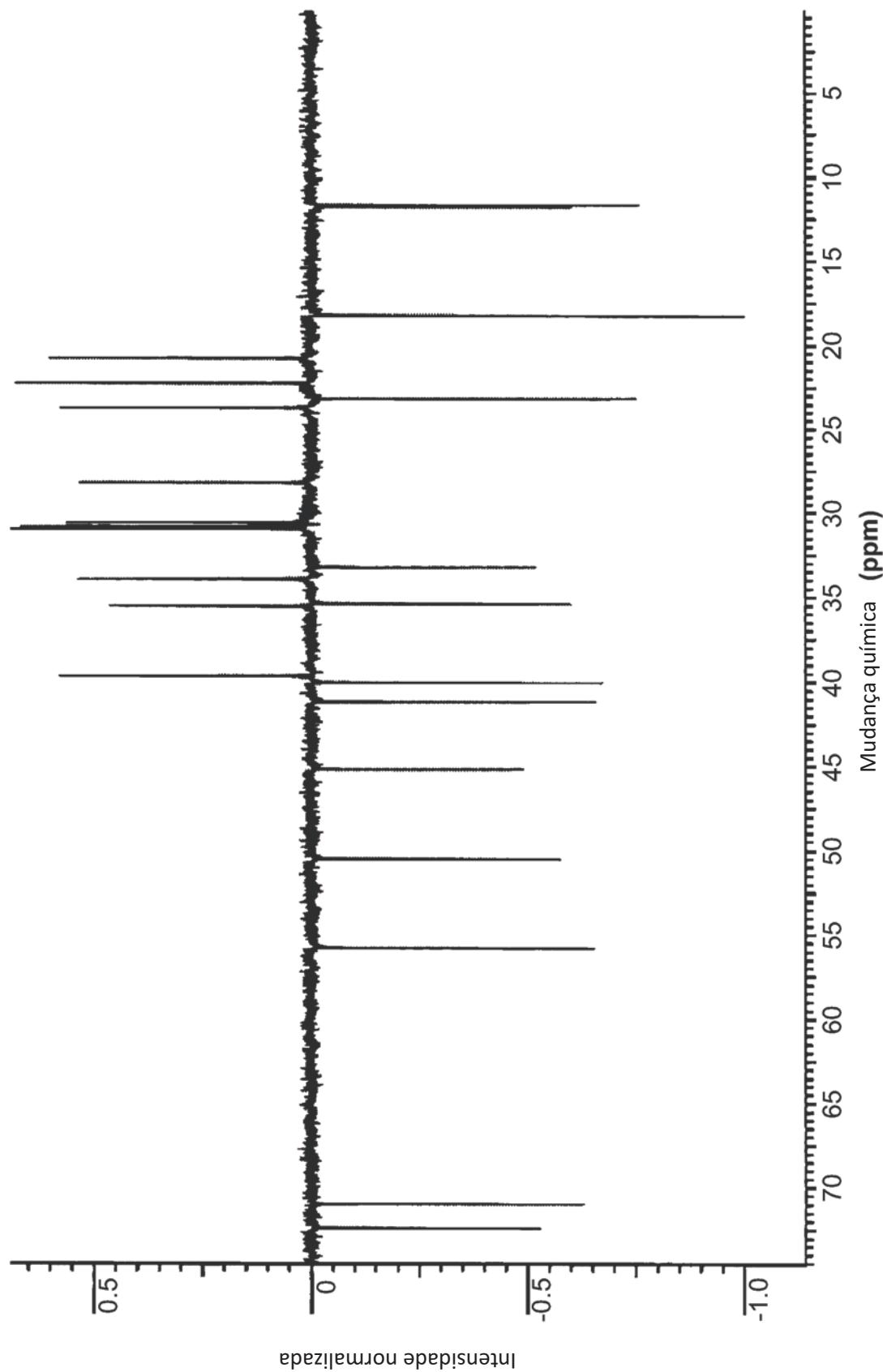
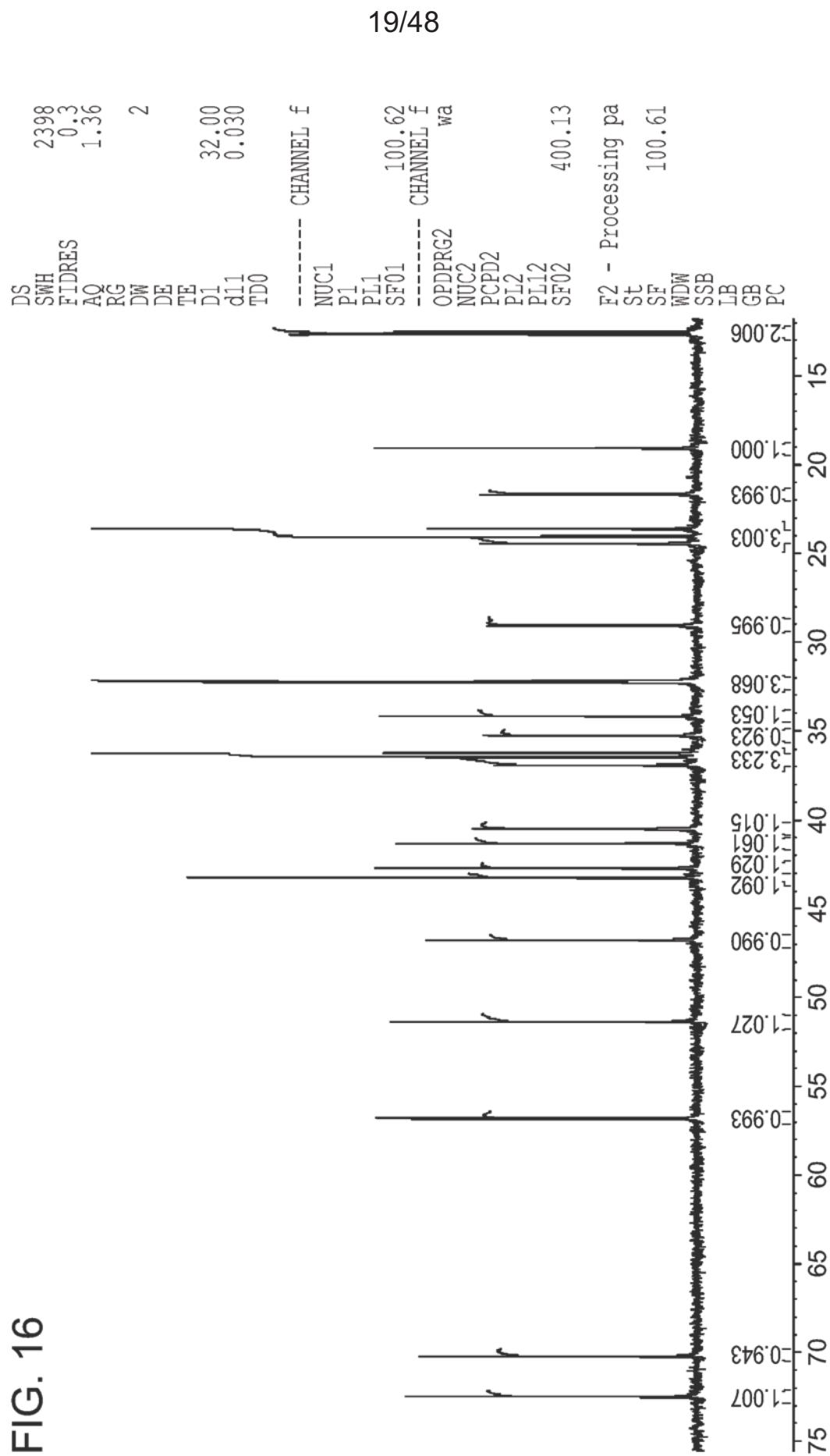


FIG. 16



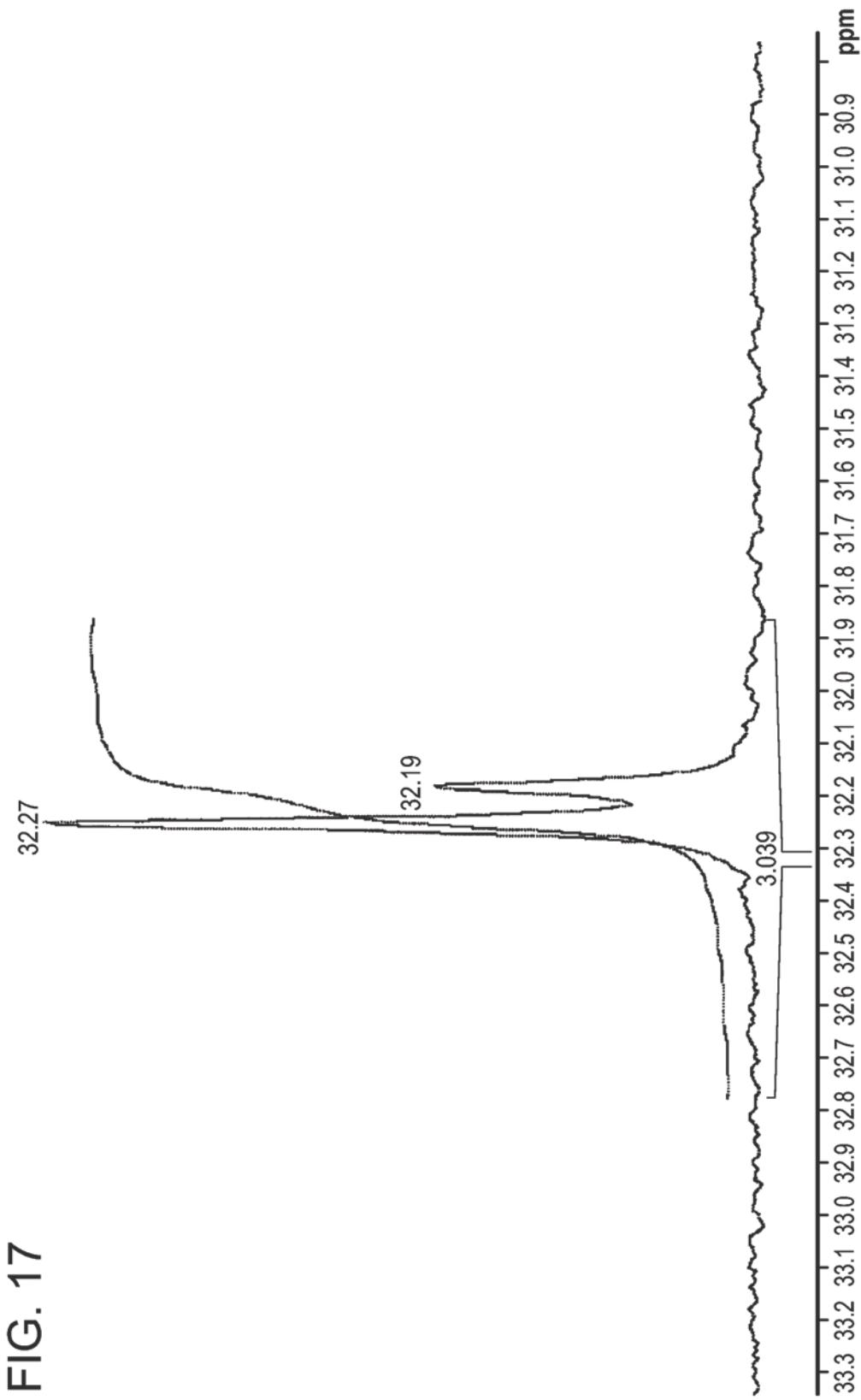


FIG. 18

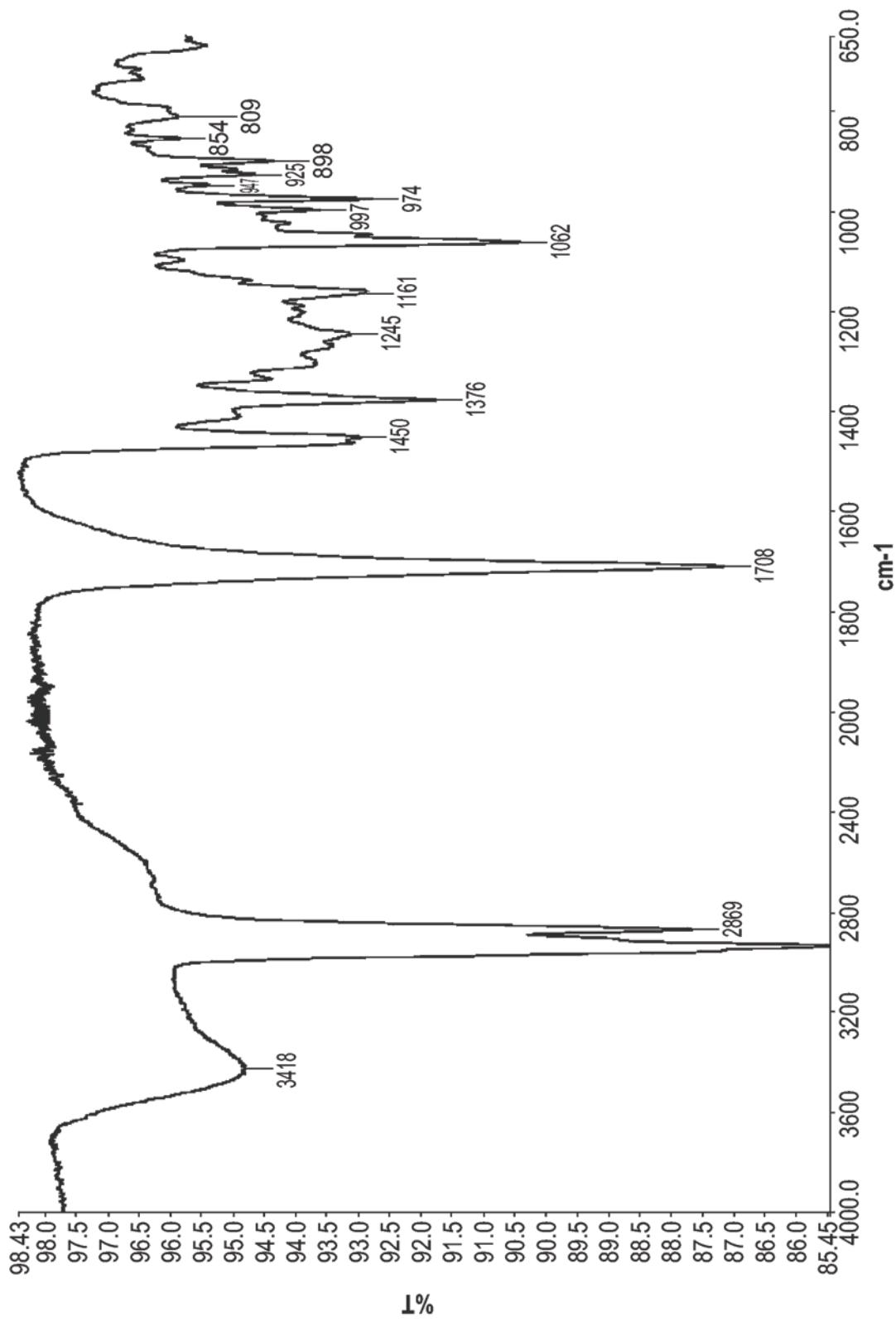


FIG. 19

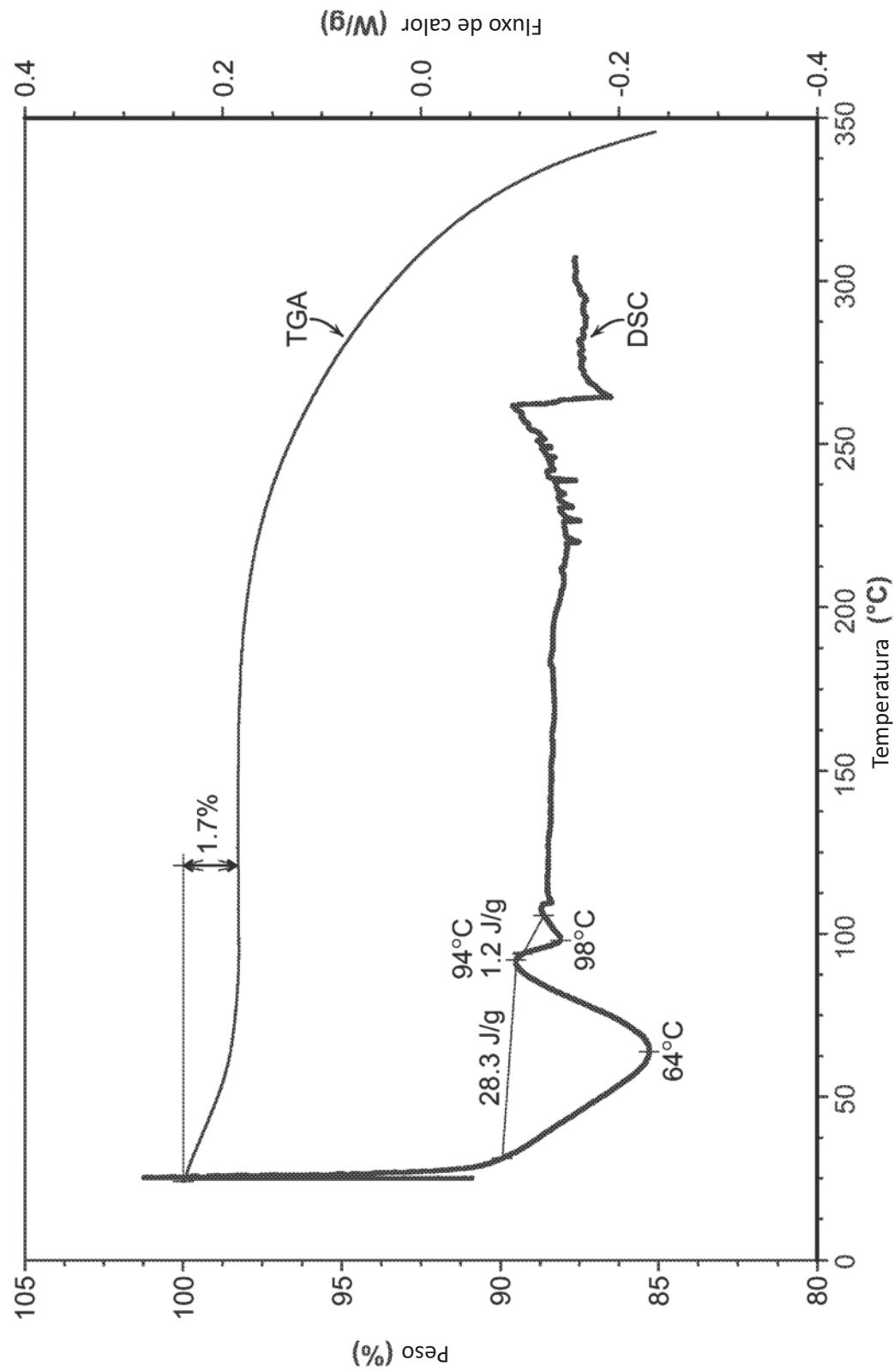


FIG. 20

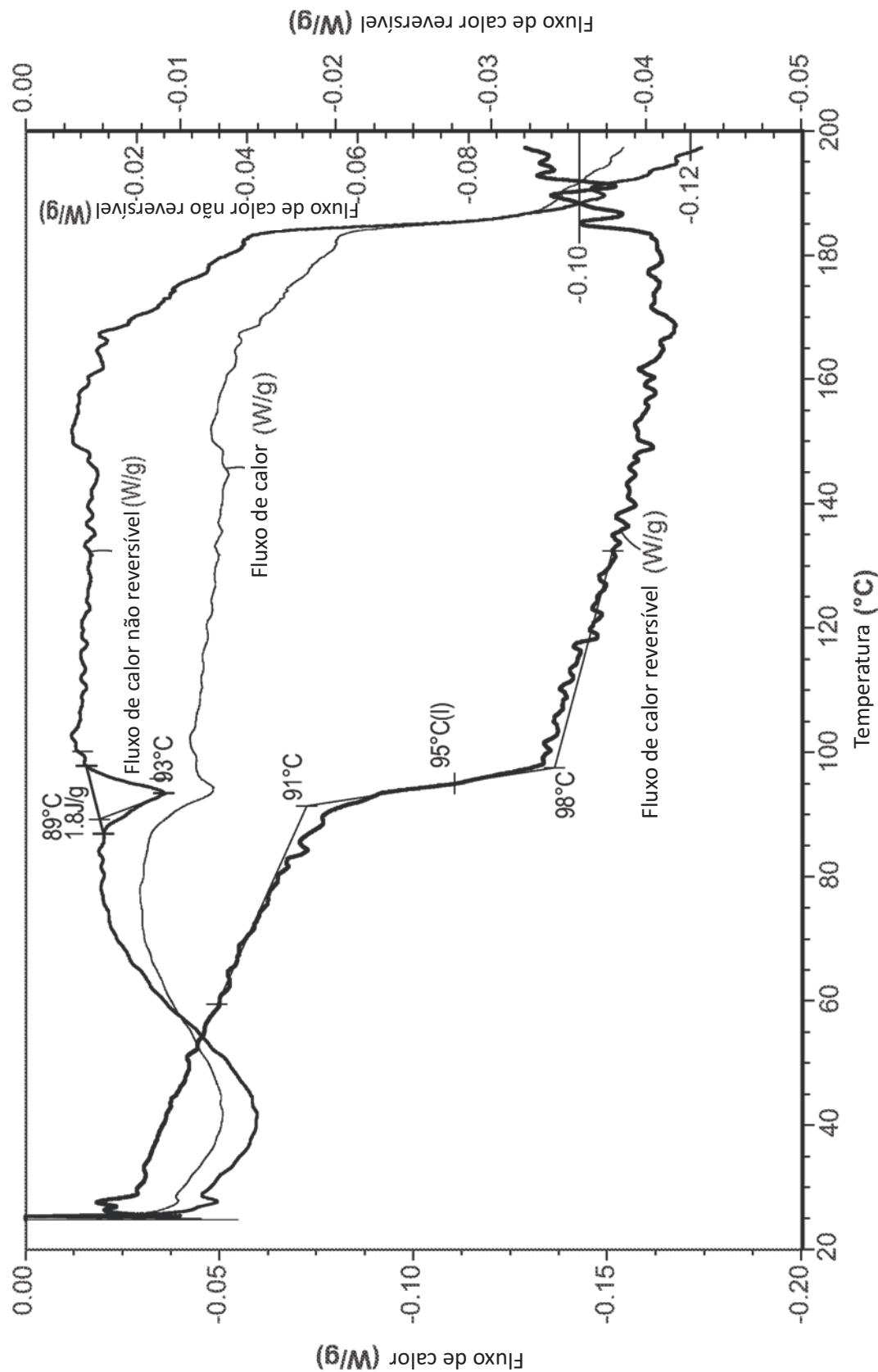
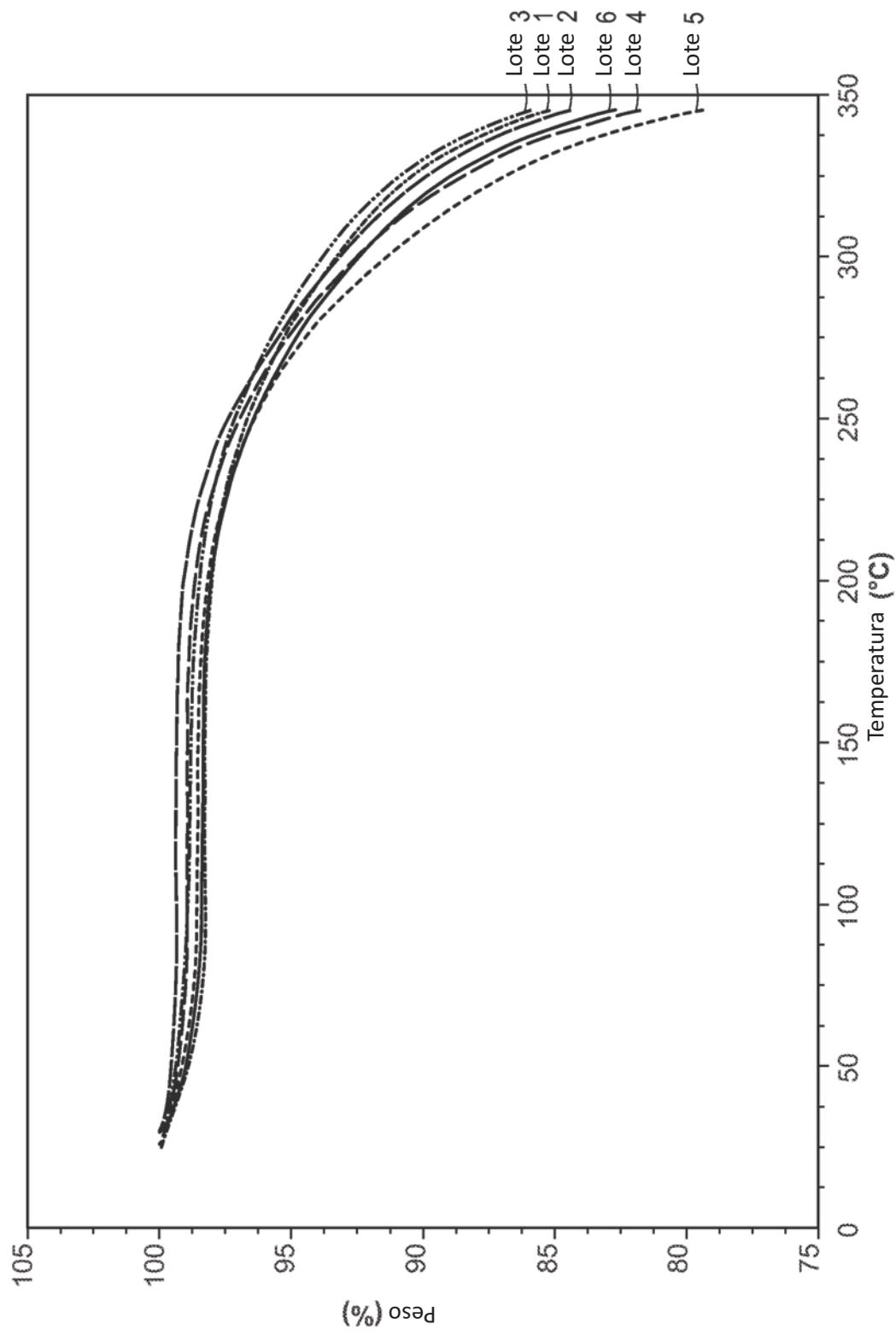
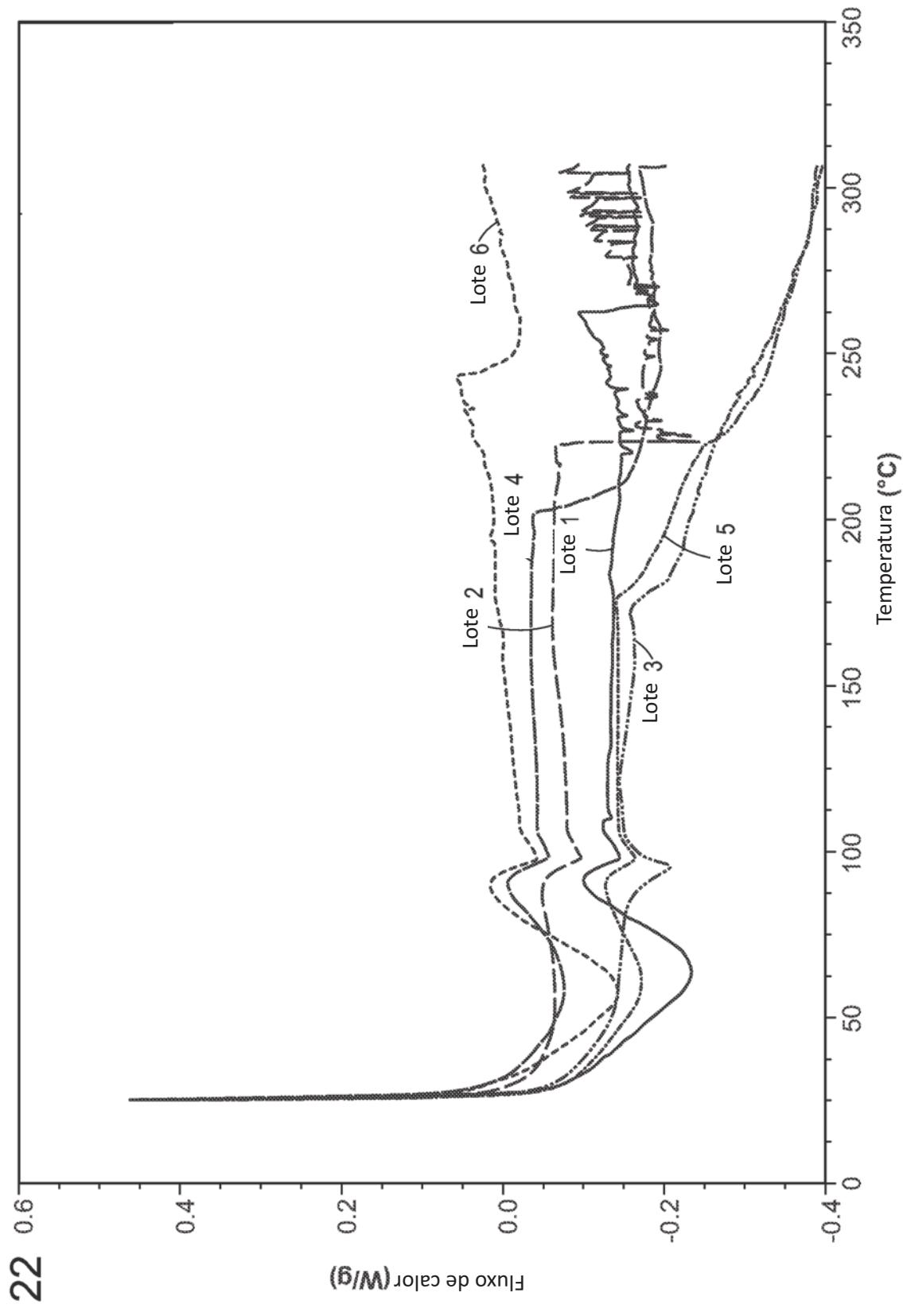


FIG. 21





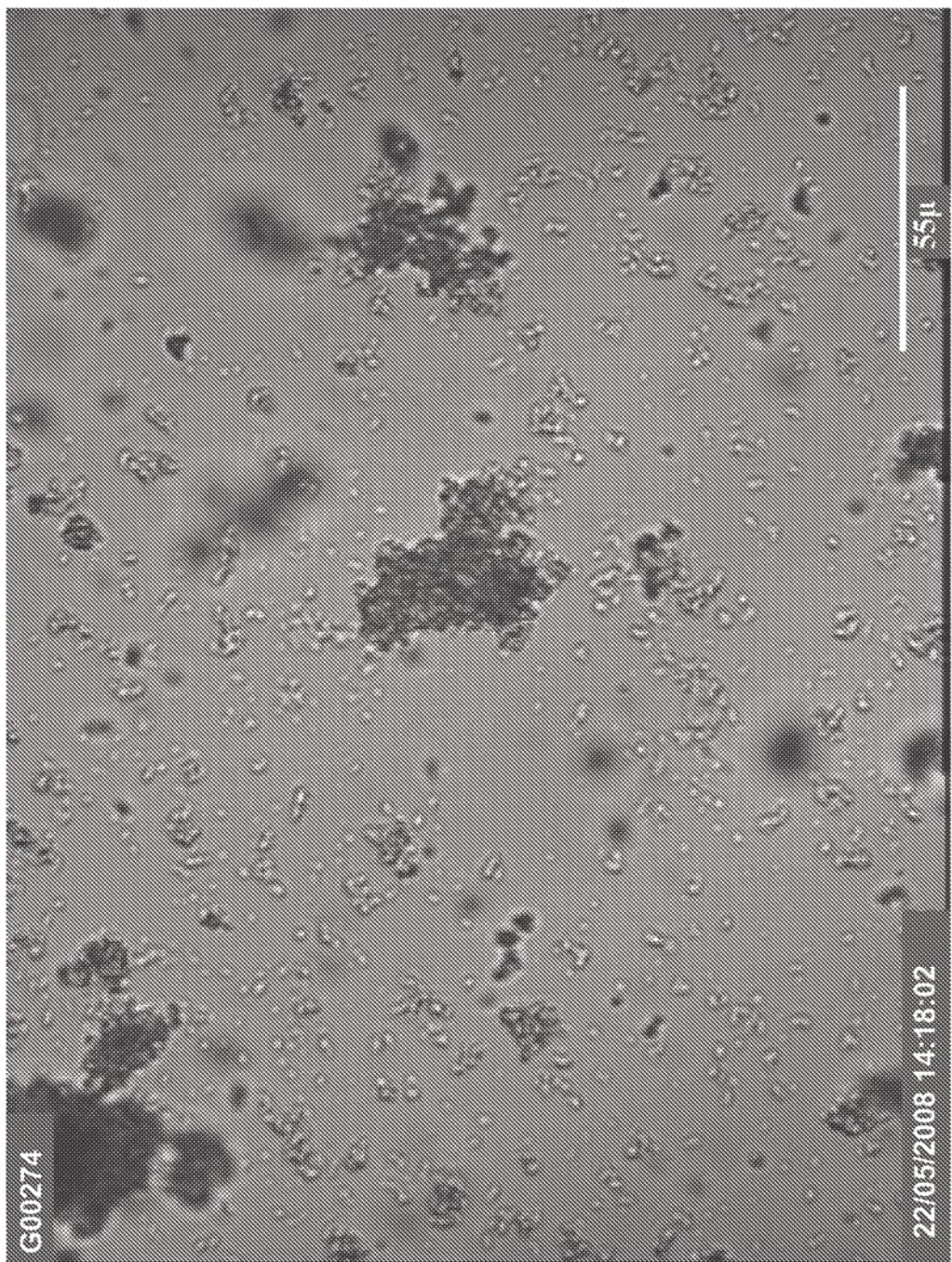


FIG. 23A

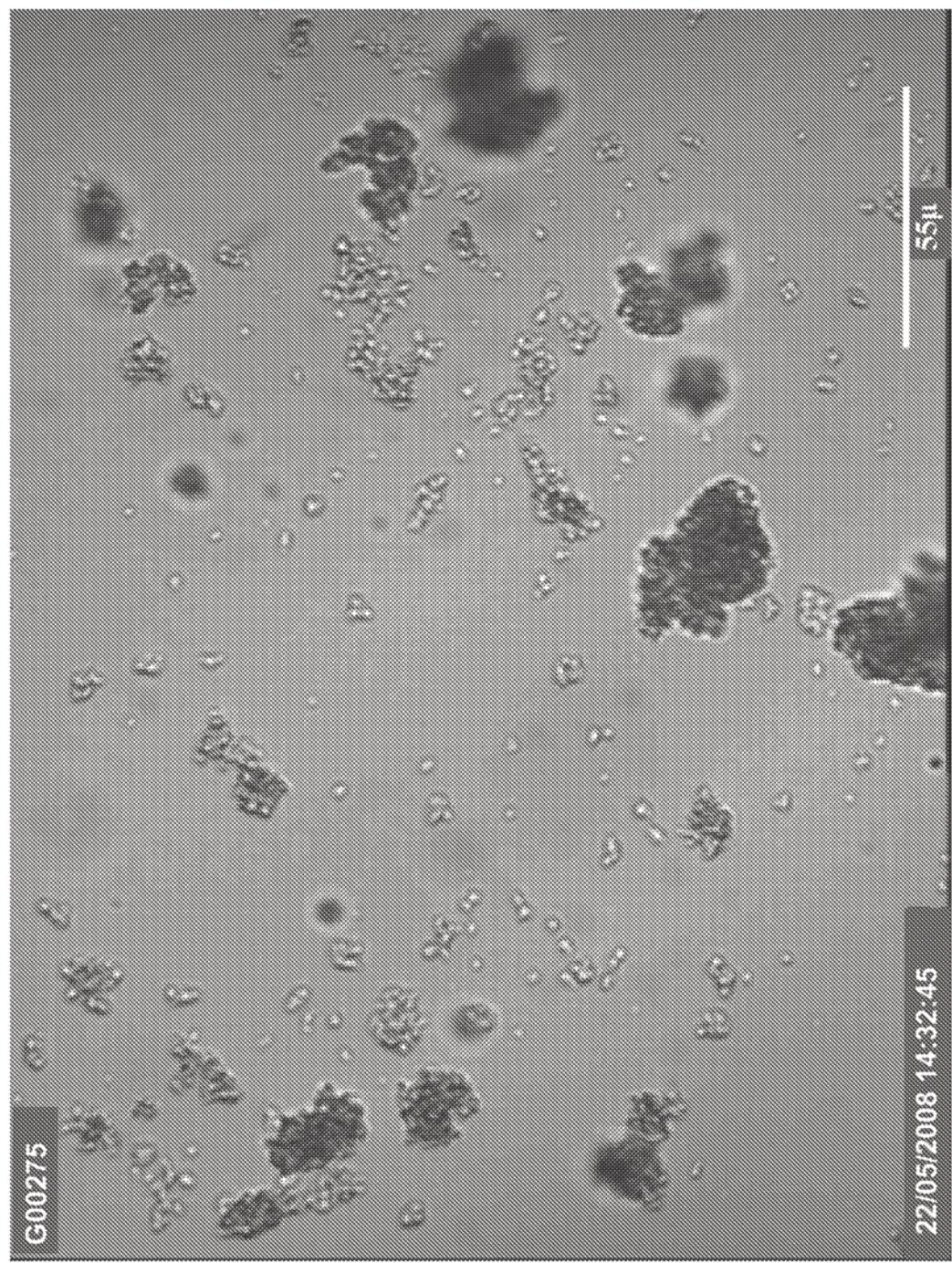


FIG. 23B

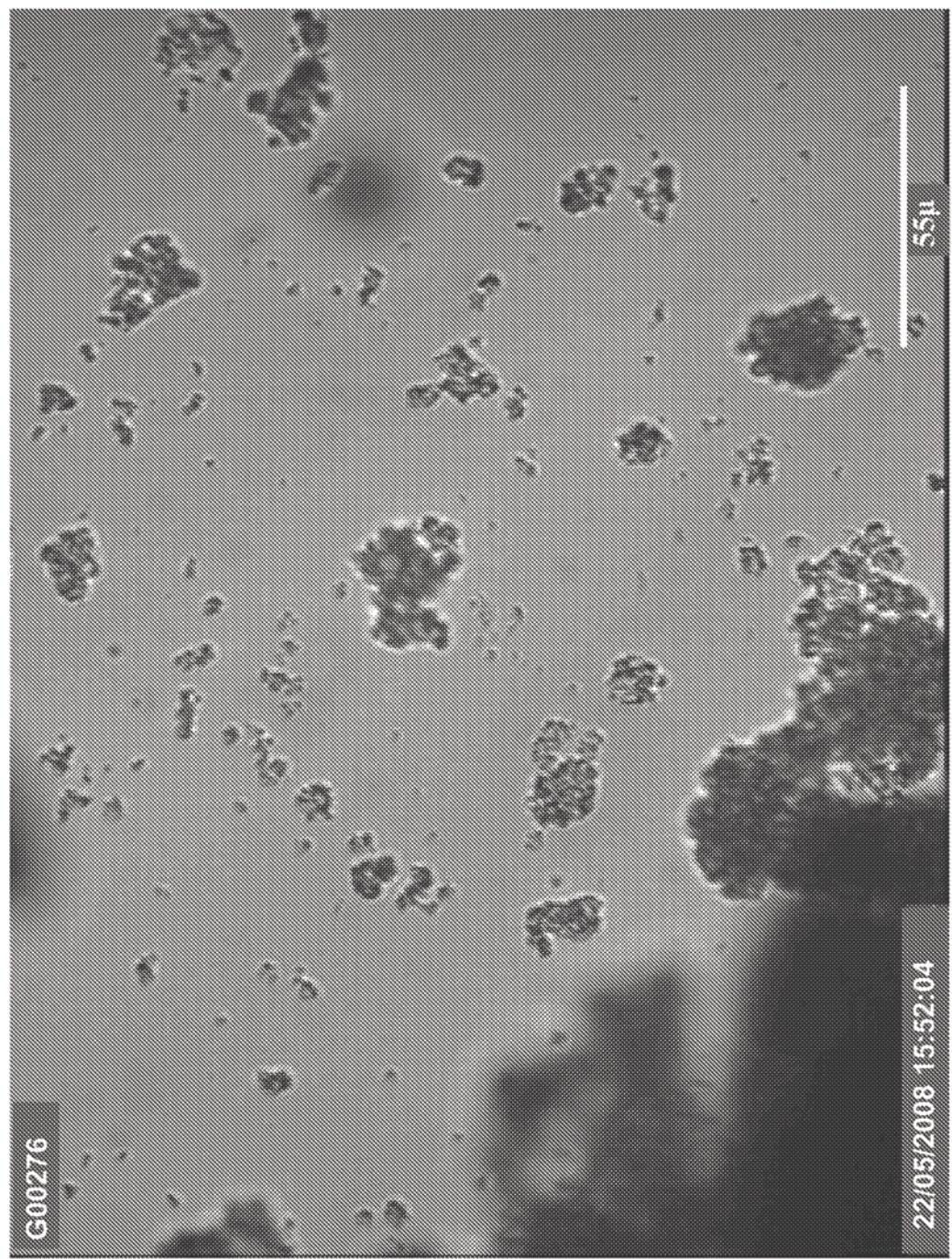


FIG. 23C

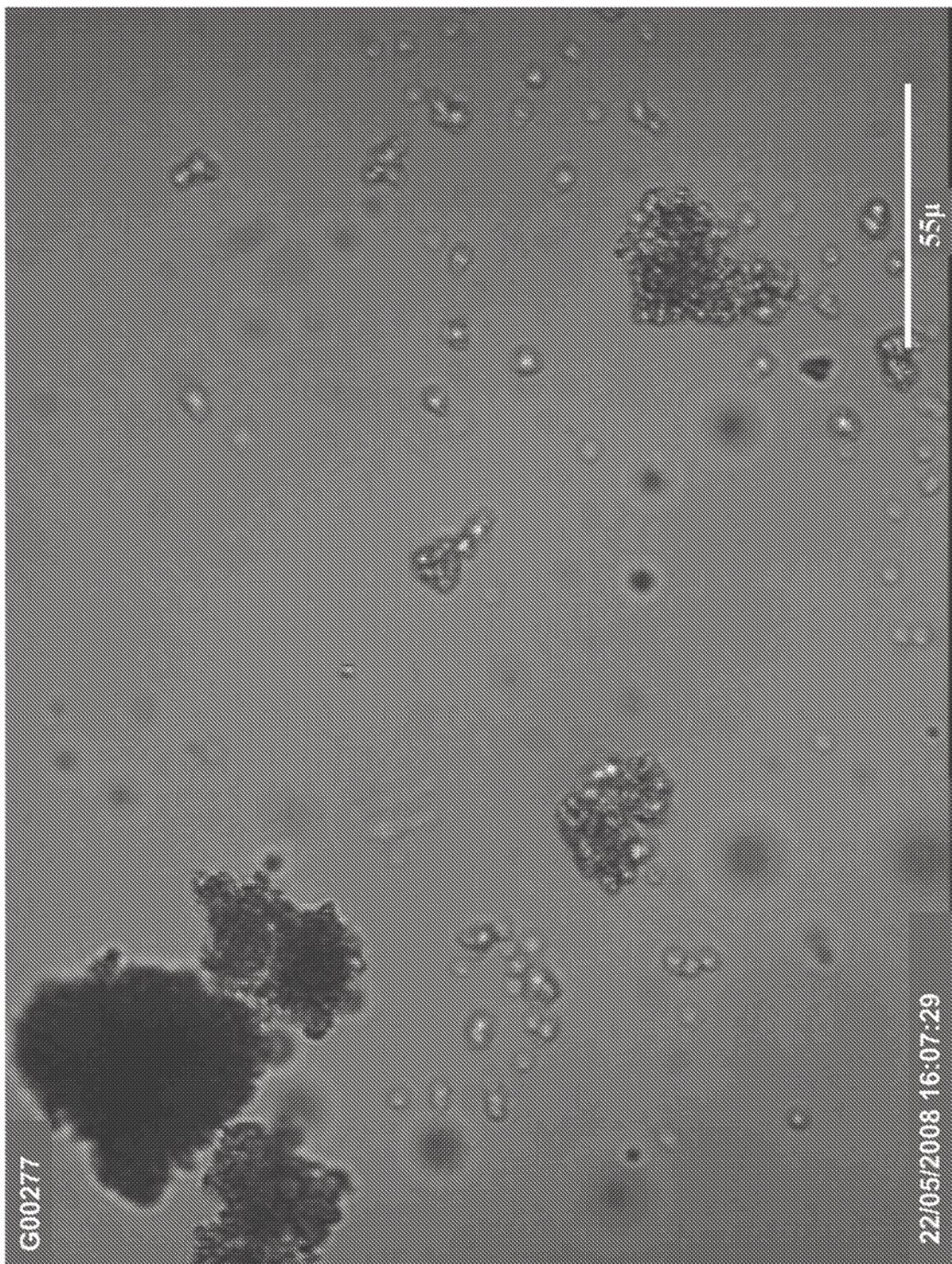


FIG. 23D

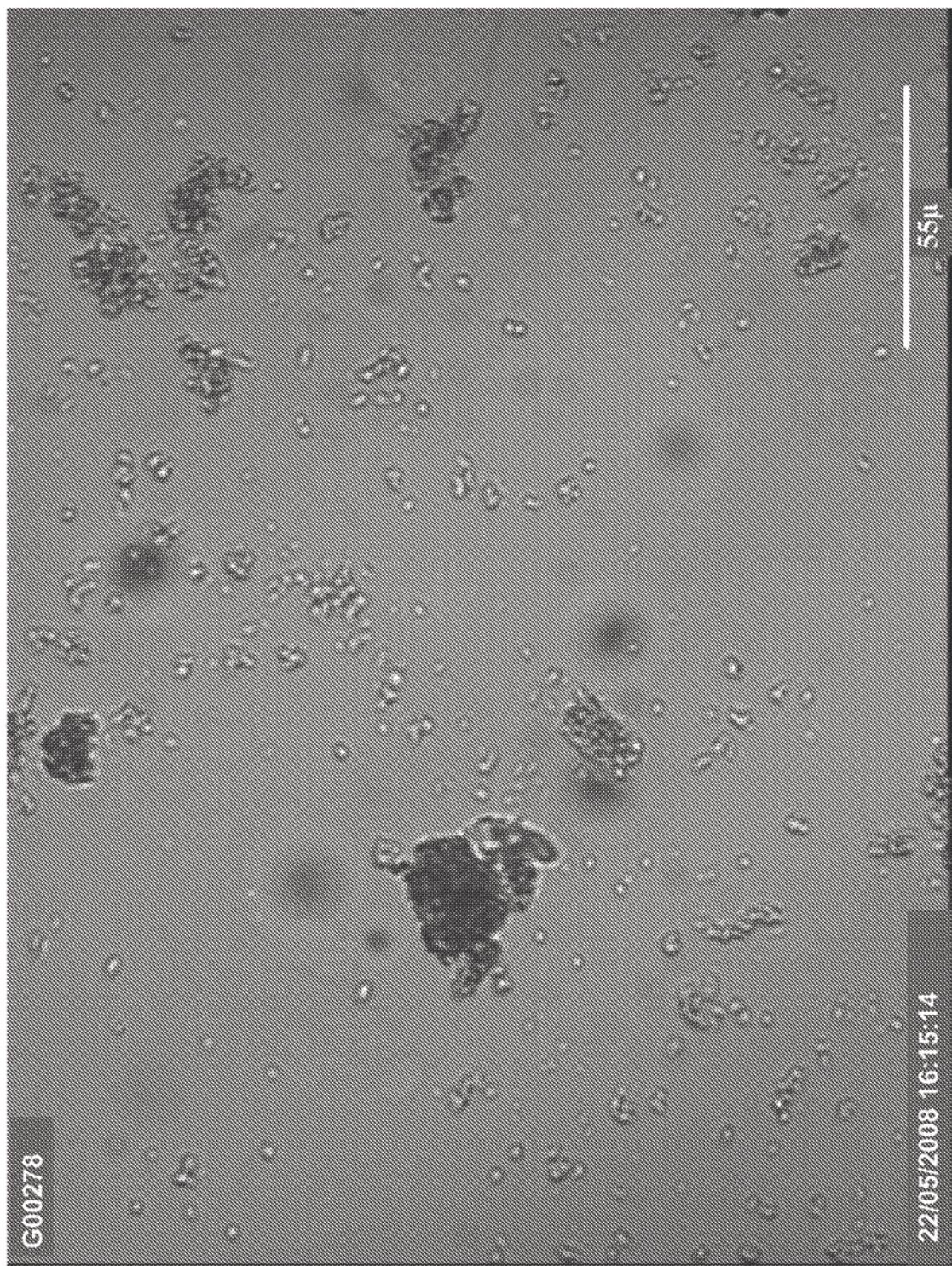


FIG. 23E

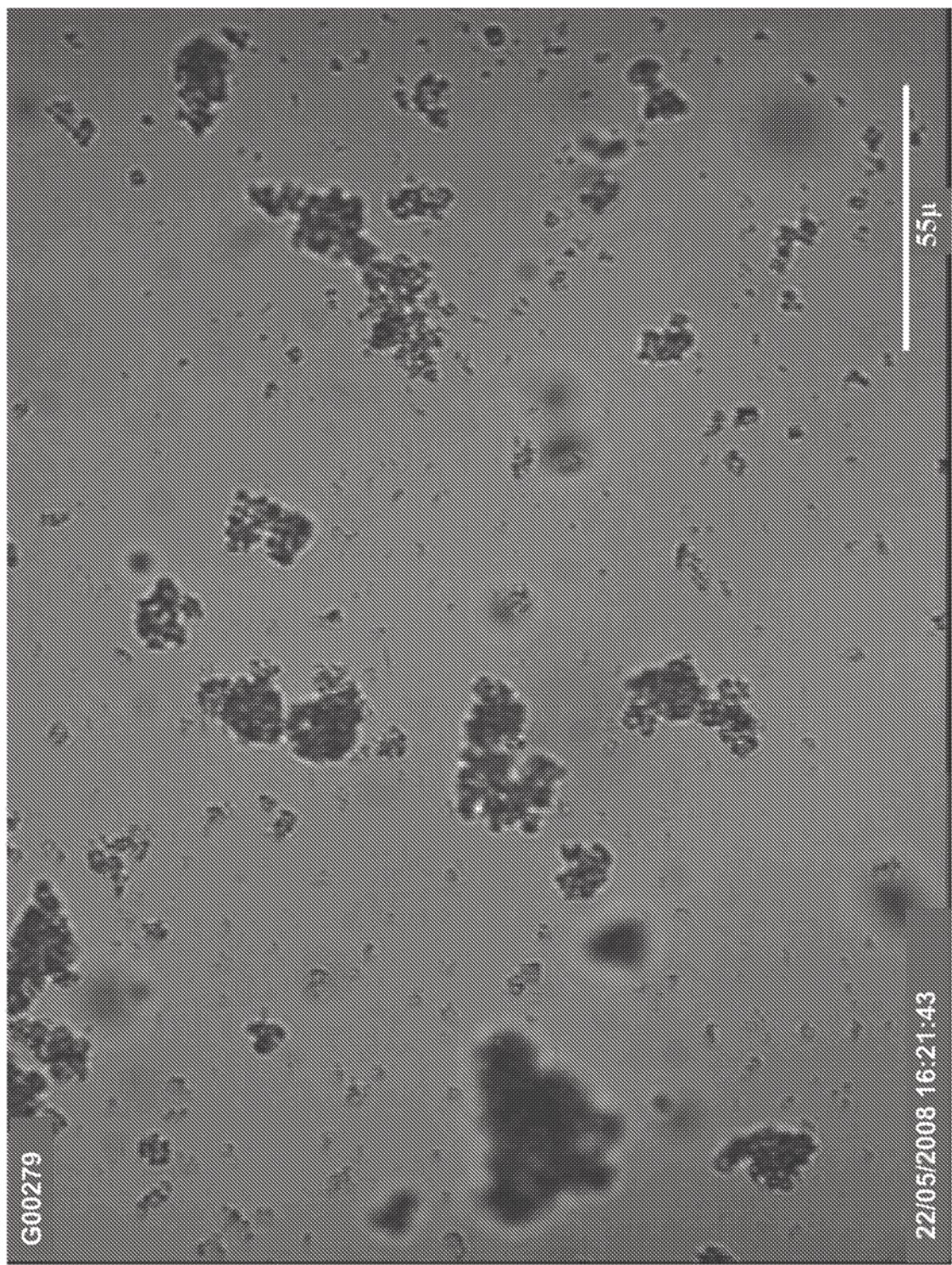


FIG. 23F

FIG. 24
Gráfico isotérmico de DVS

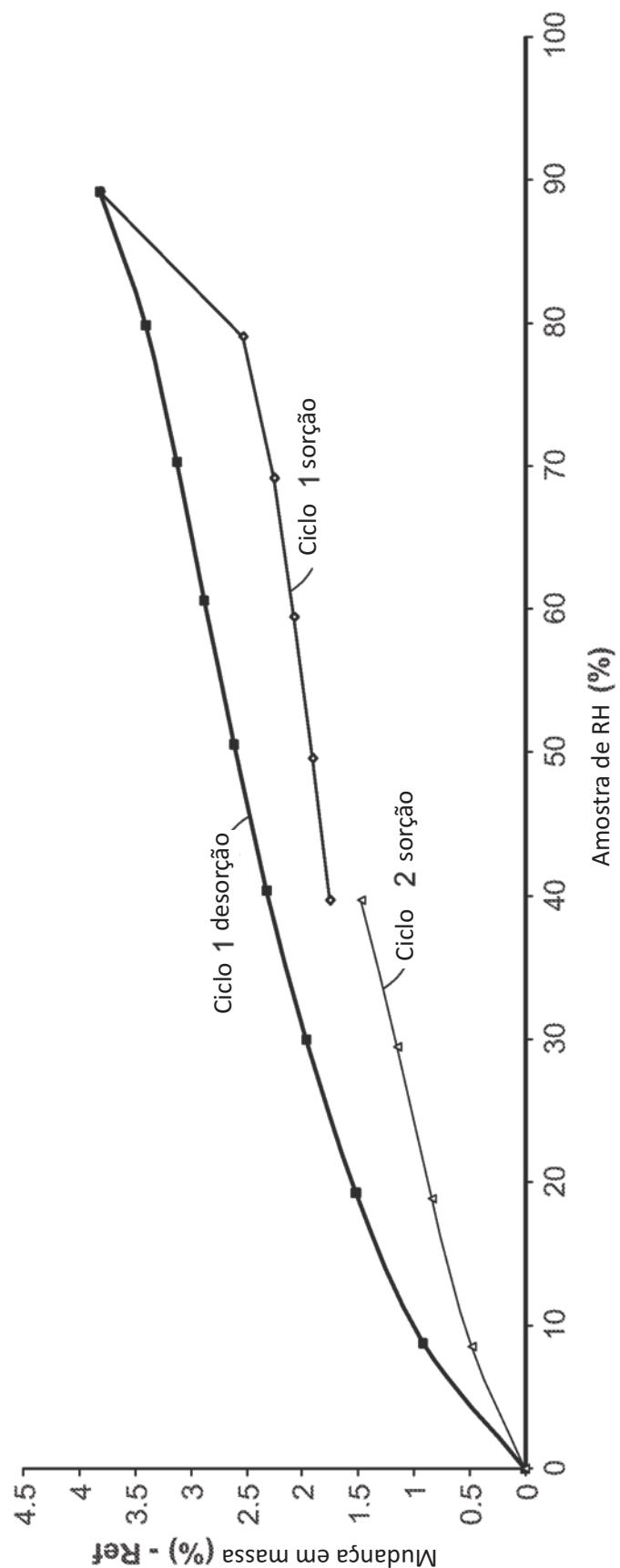


FIG. 25

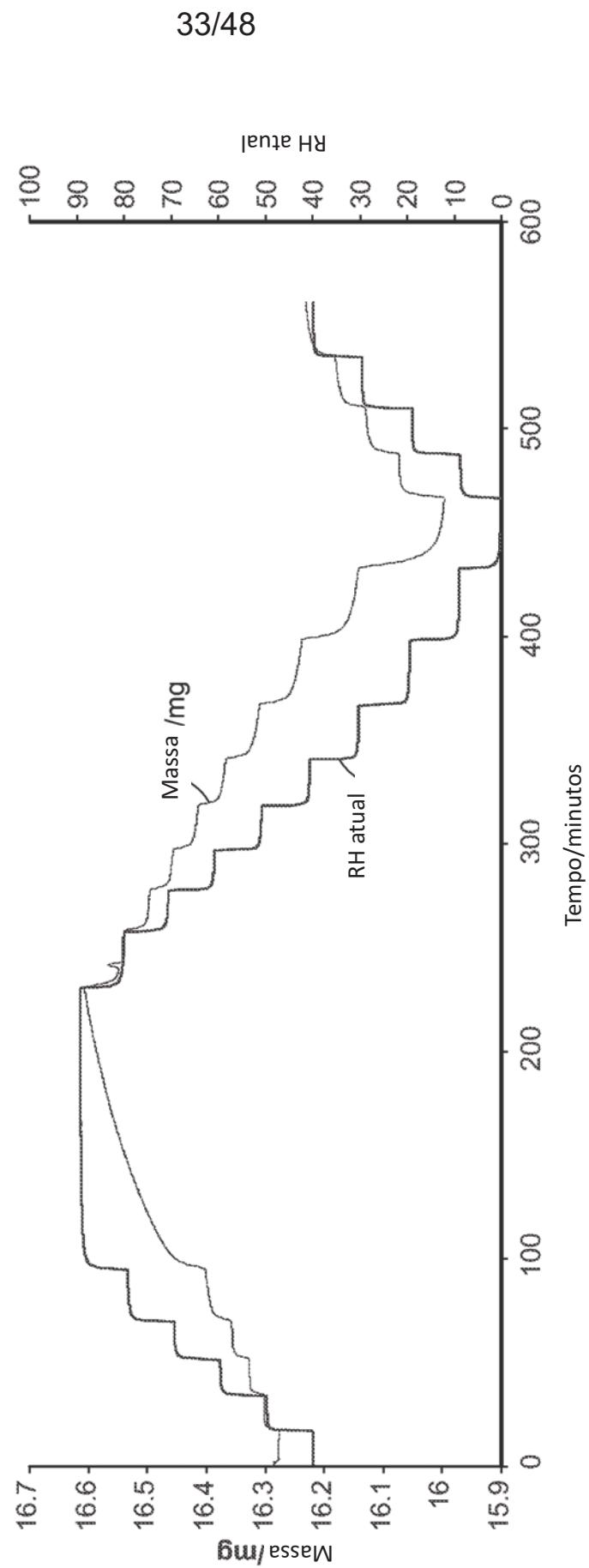


FIG. 26

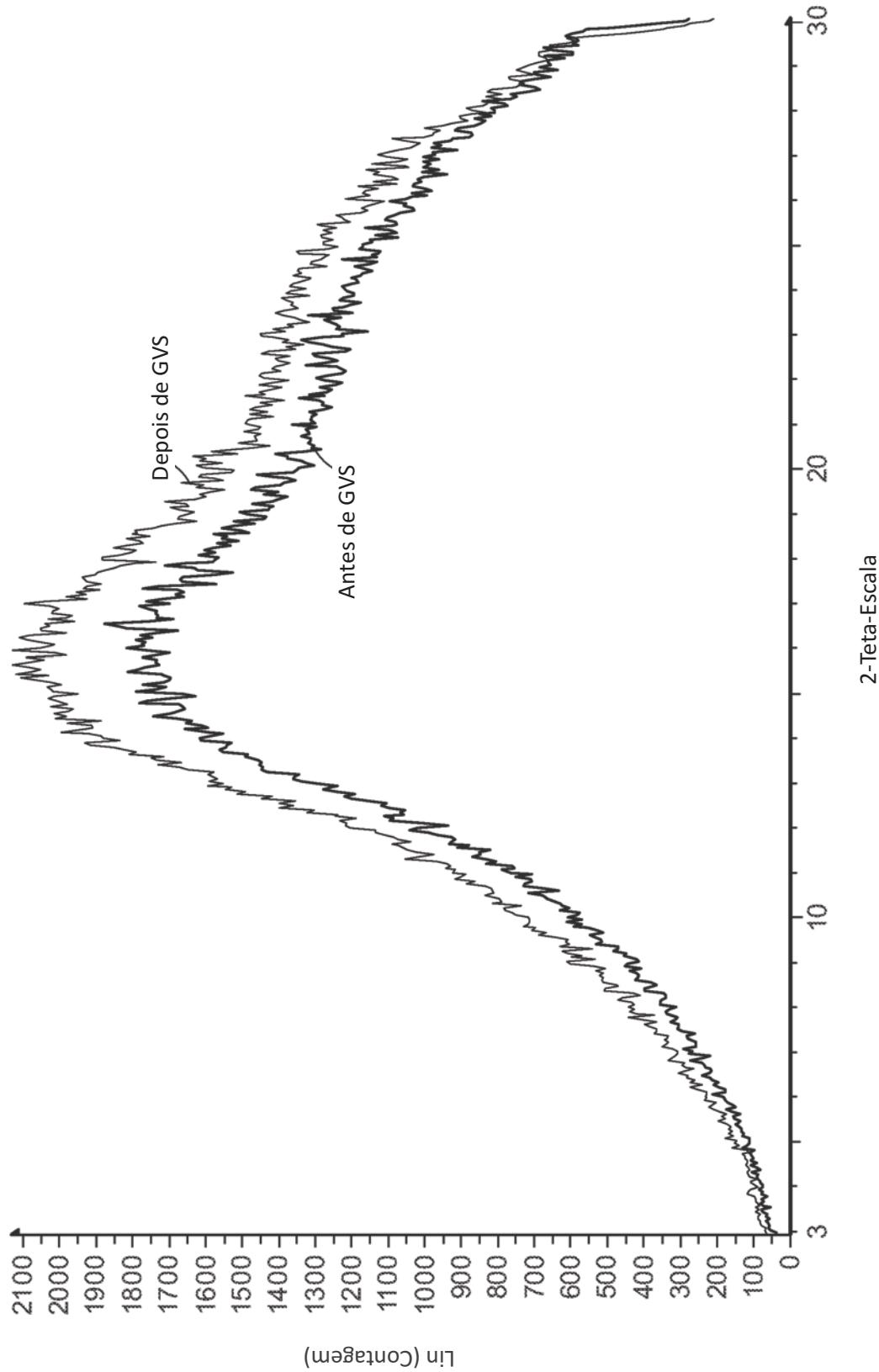


FIG. 27

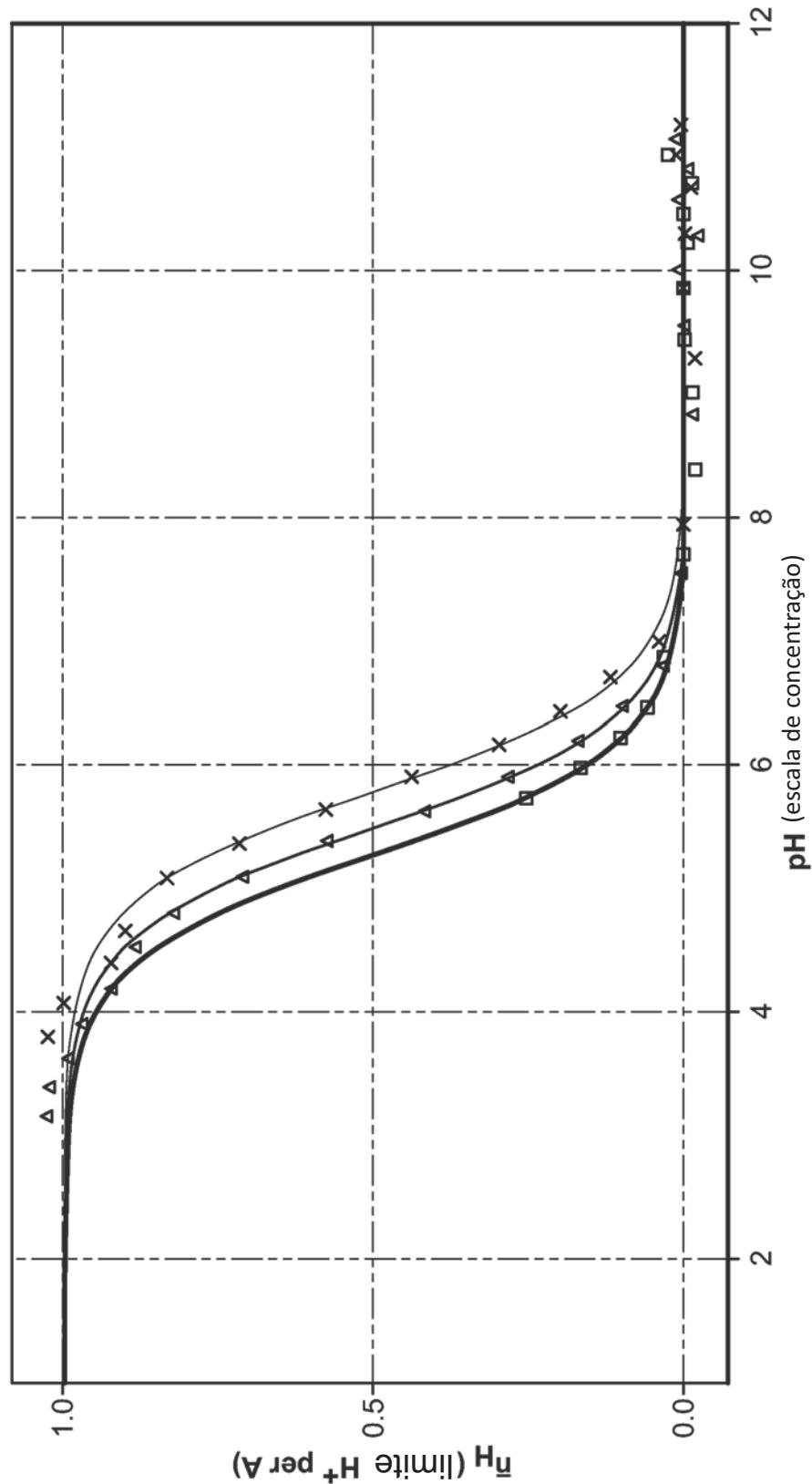


FIG. 28

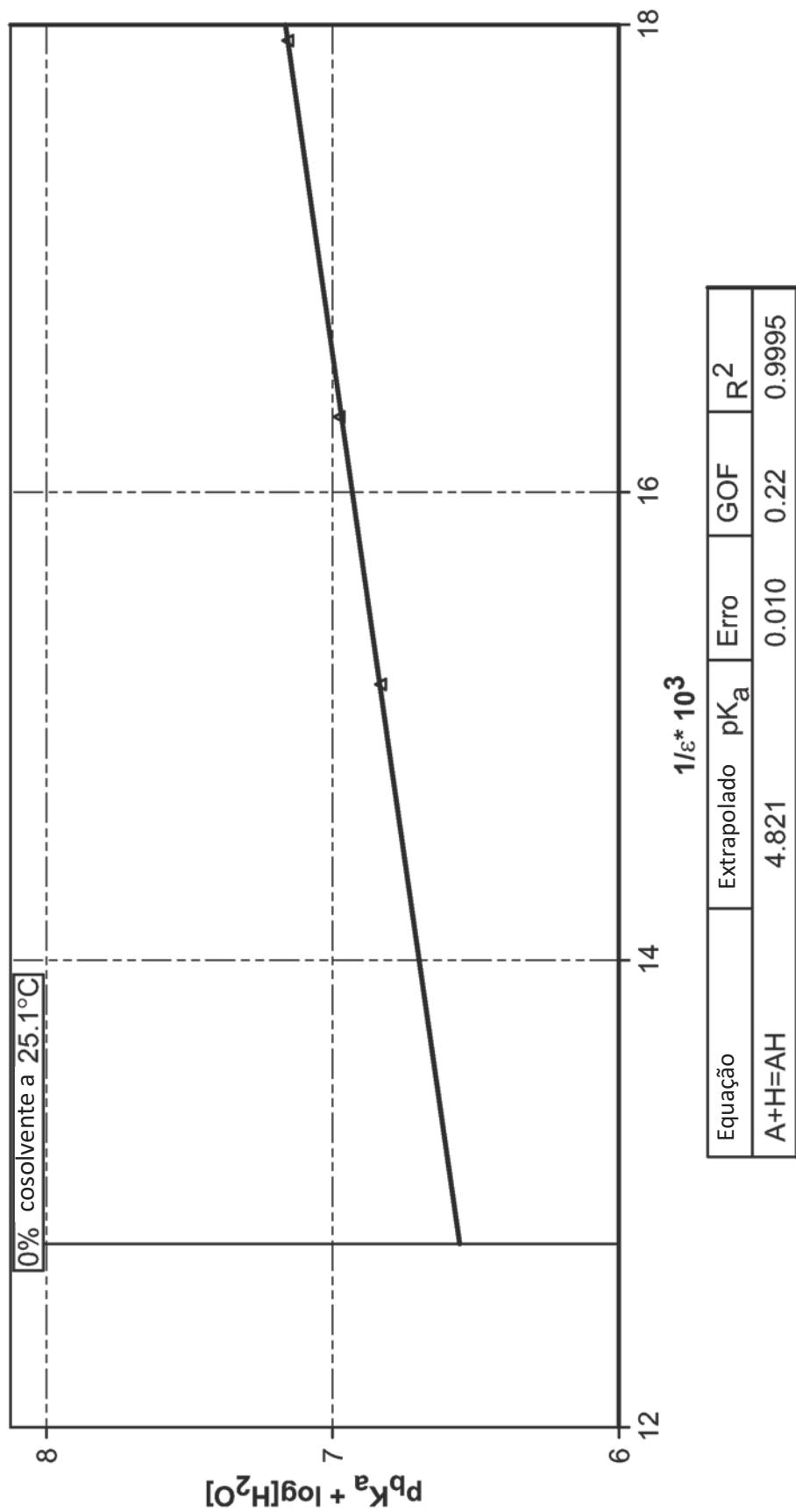


FIG. 29

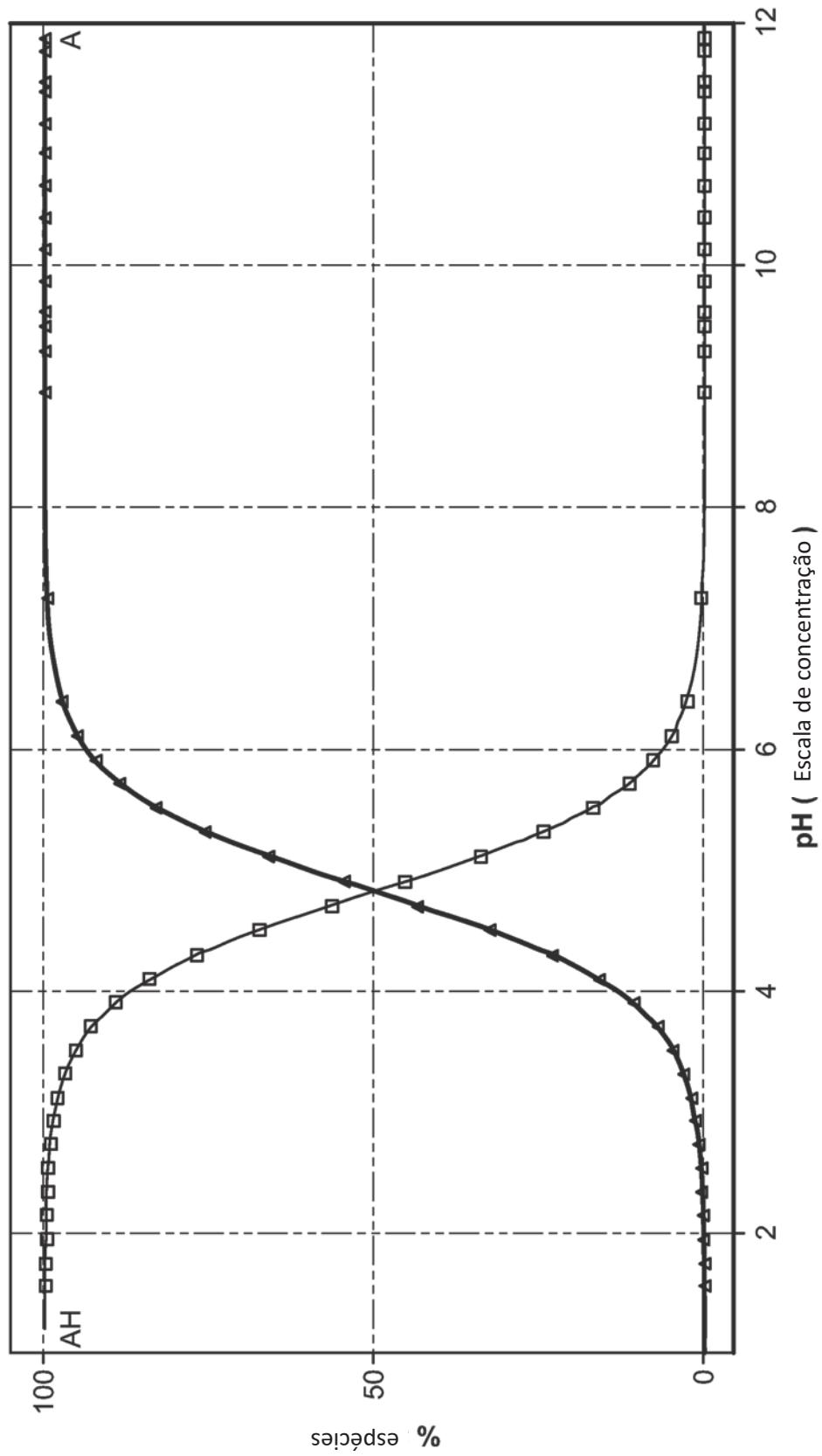


FIG. 30

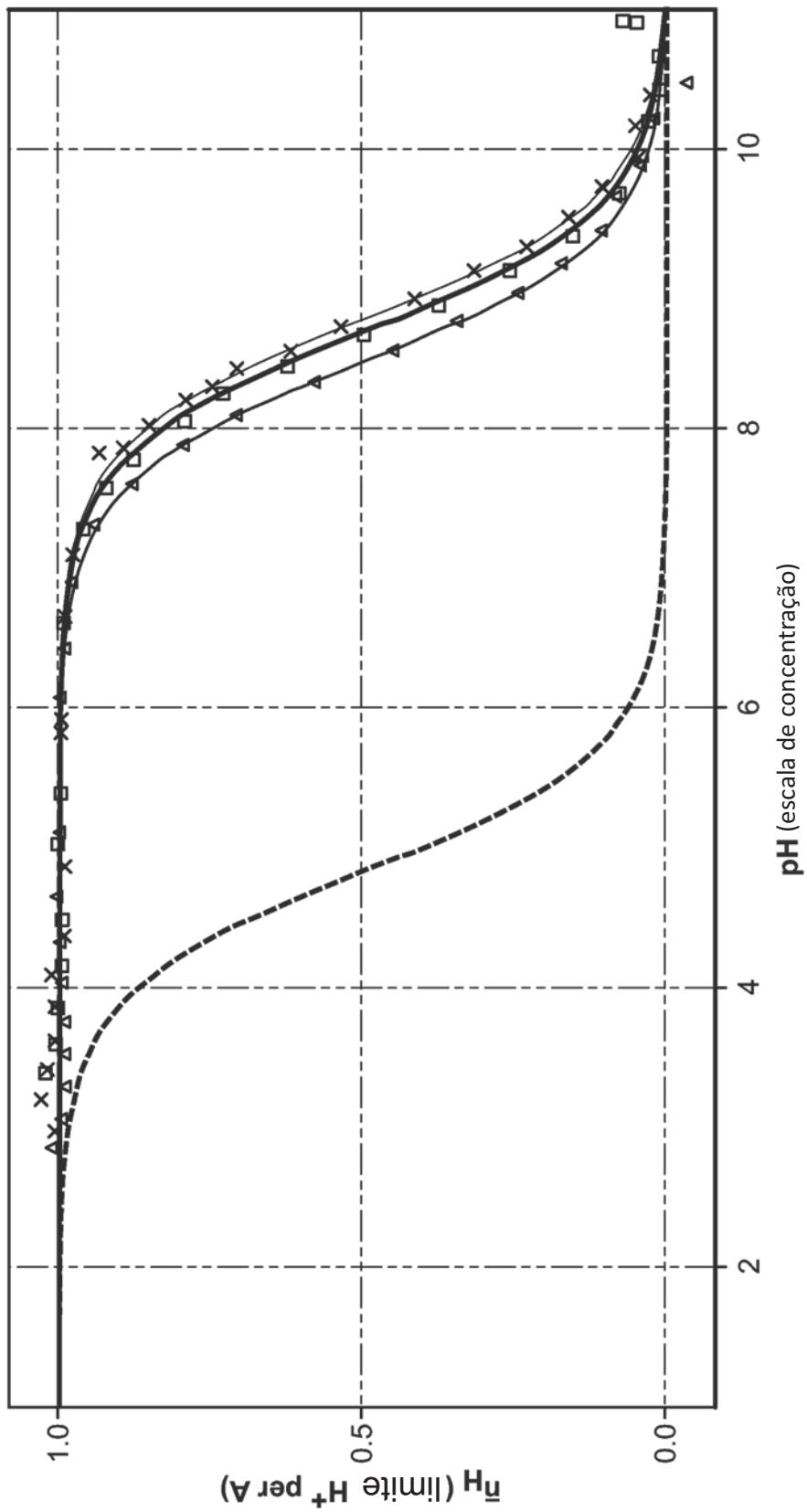


FIG. 31

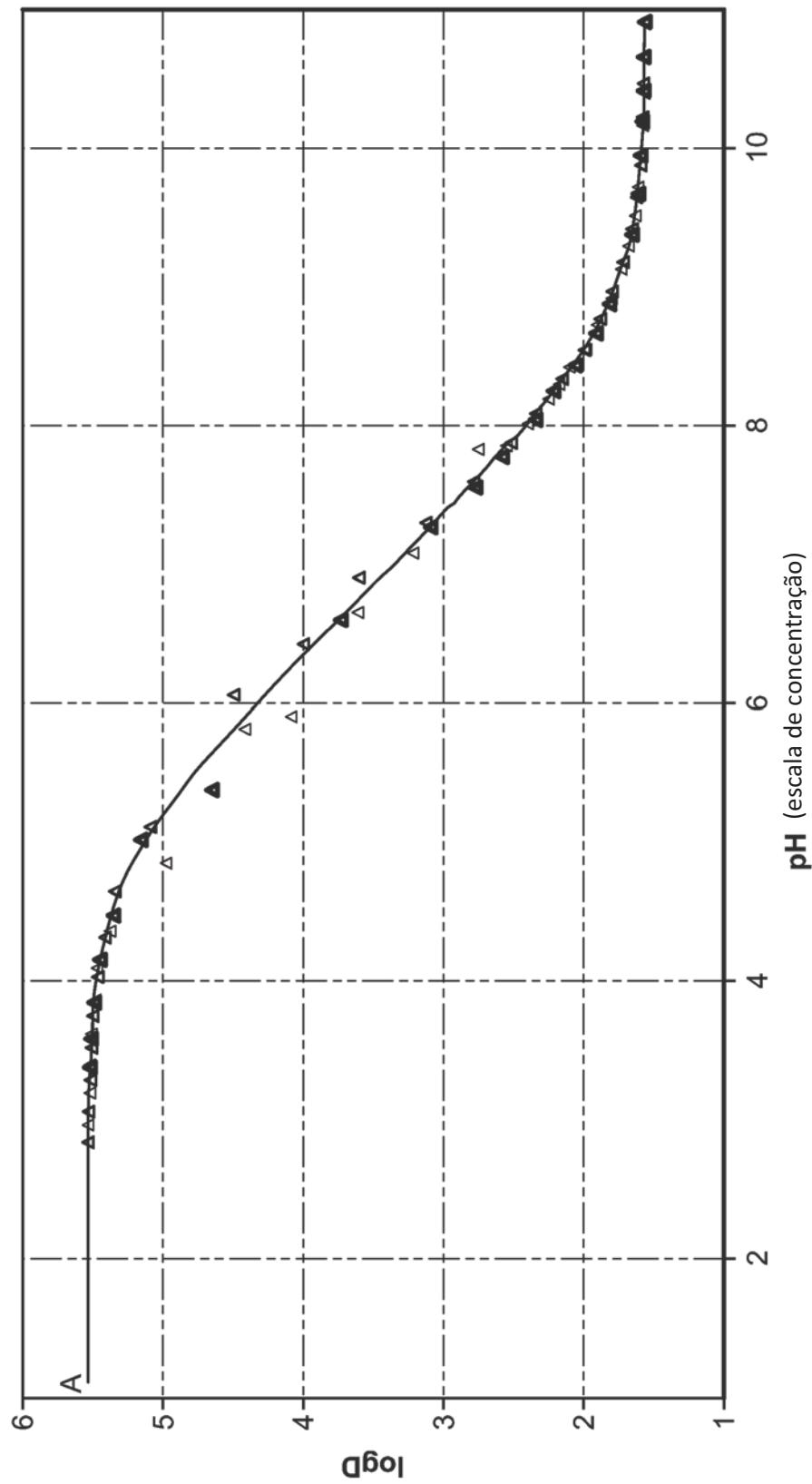


FIG. 32

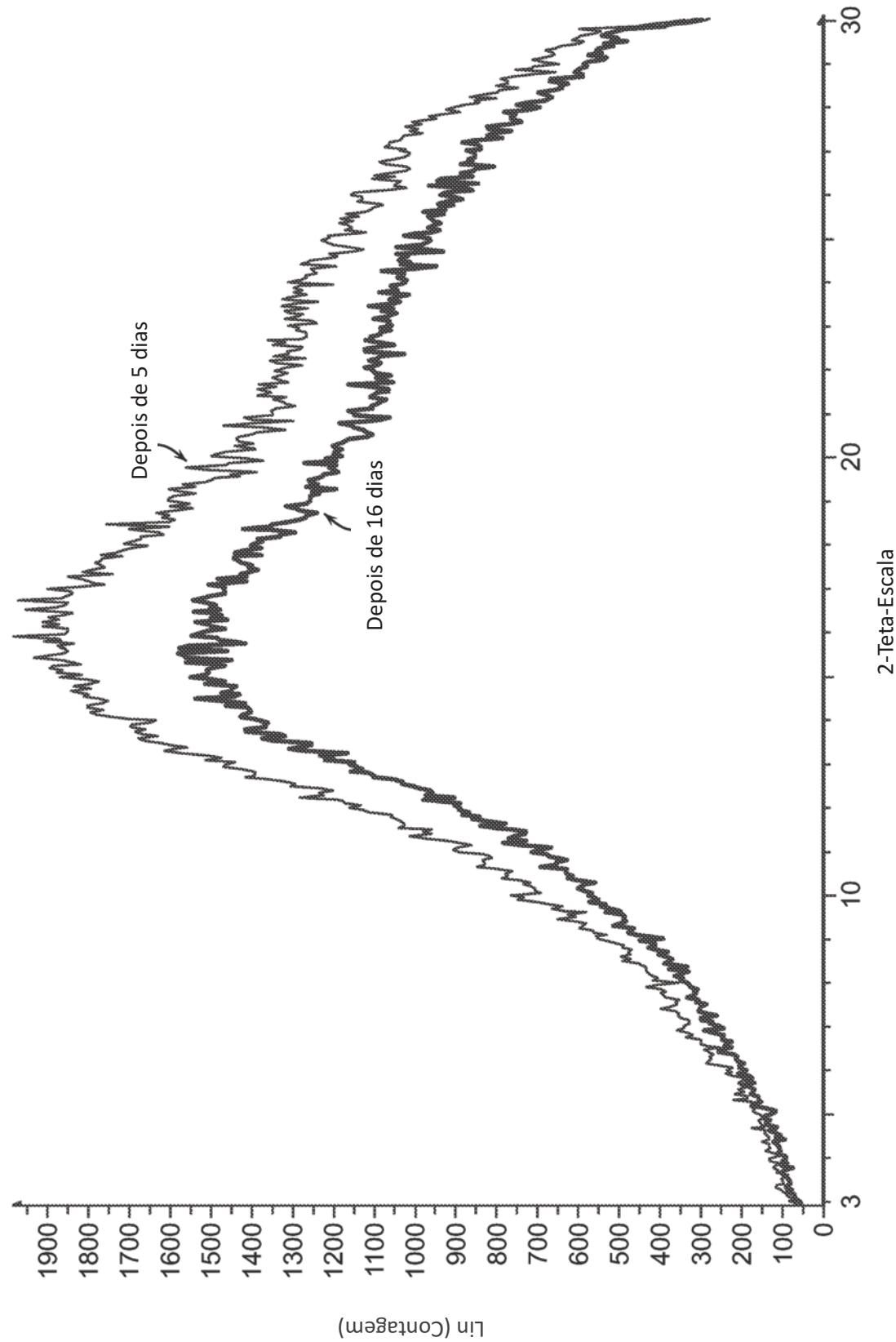


FIG. 33

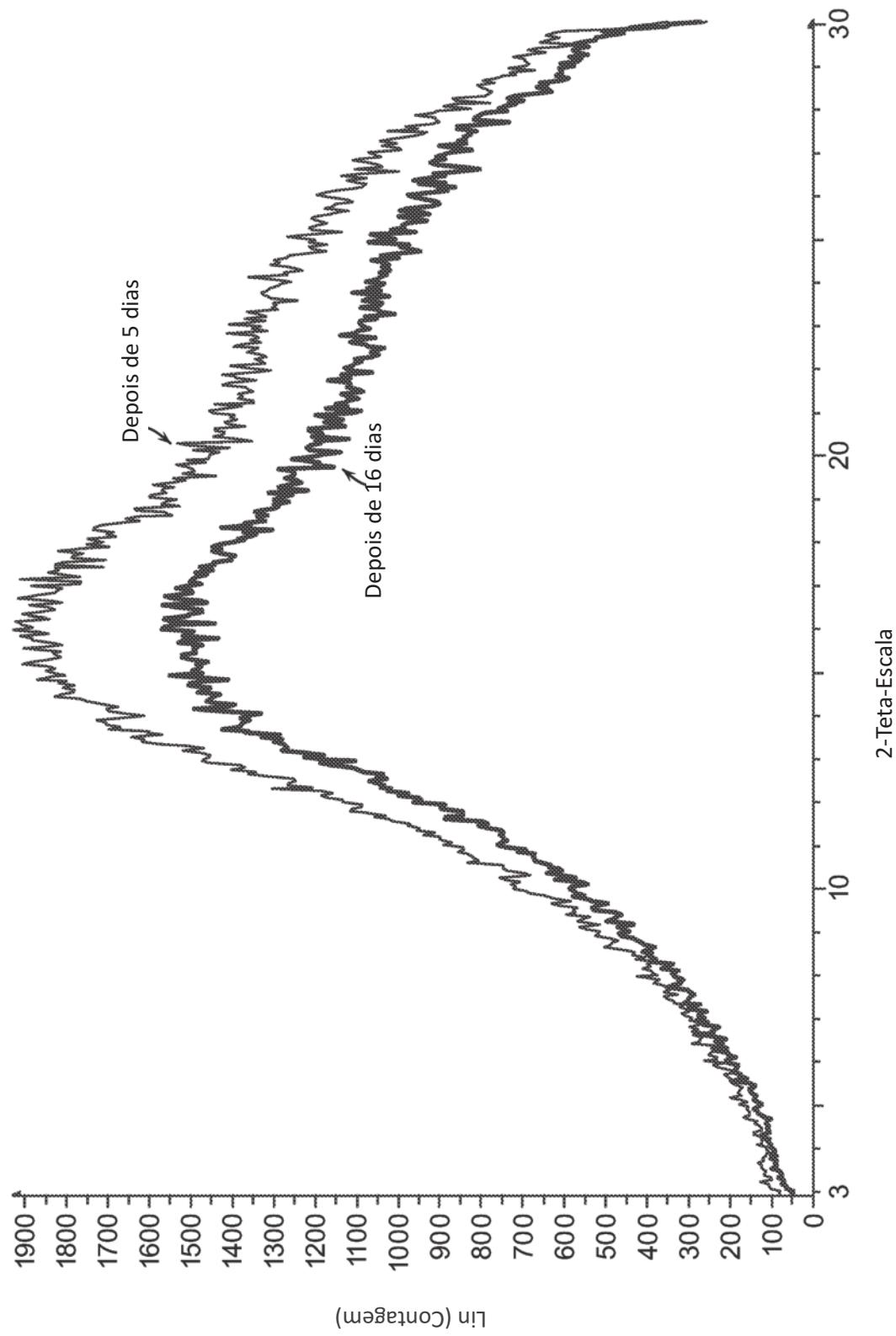
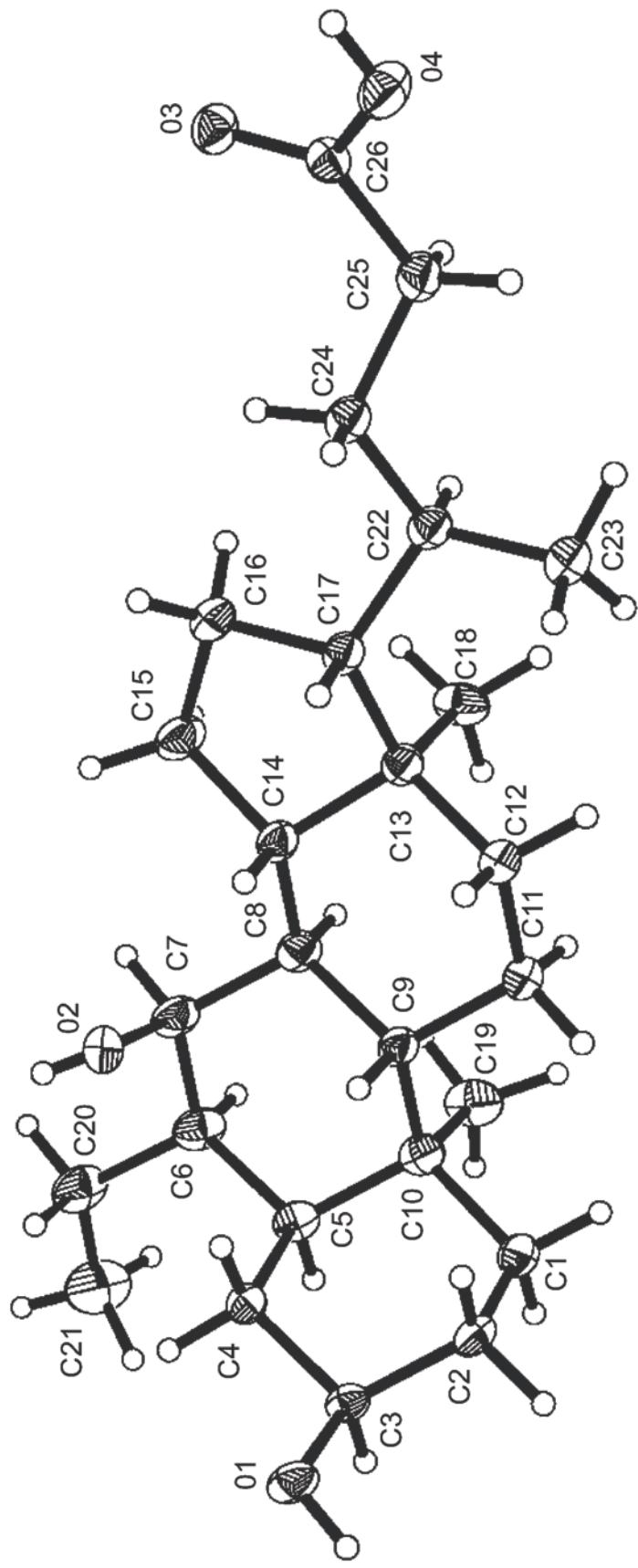


FIG. 34



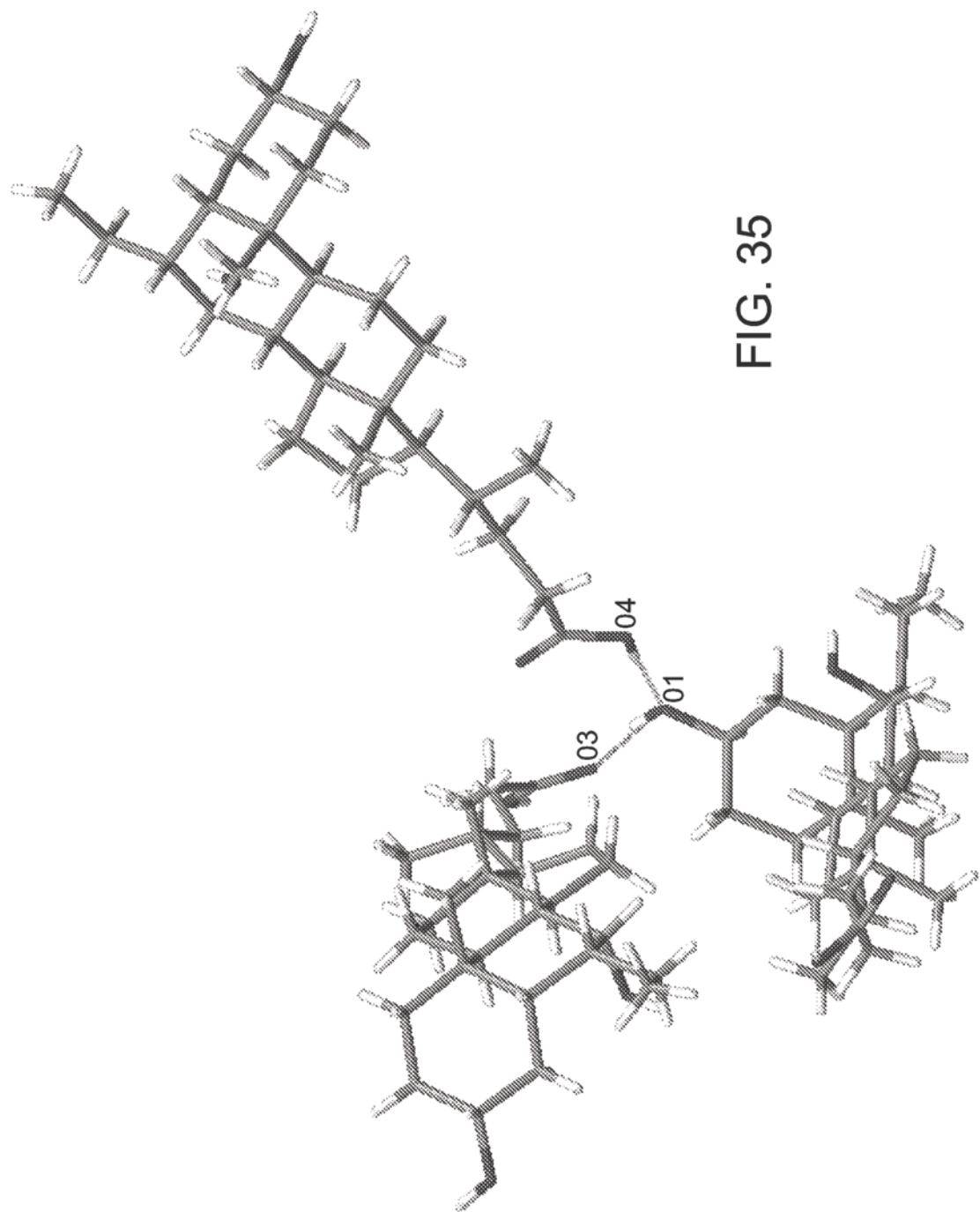


FIG. 36

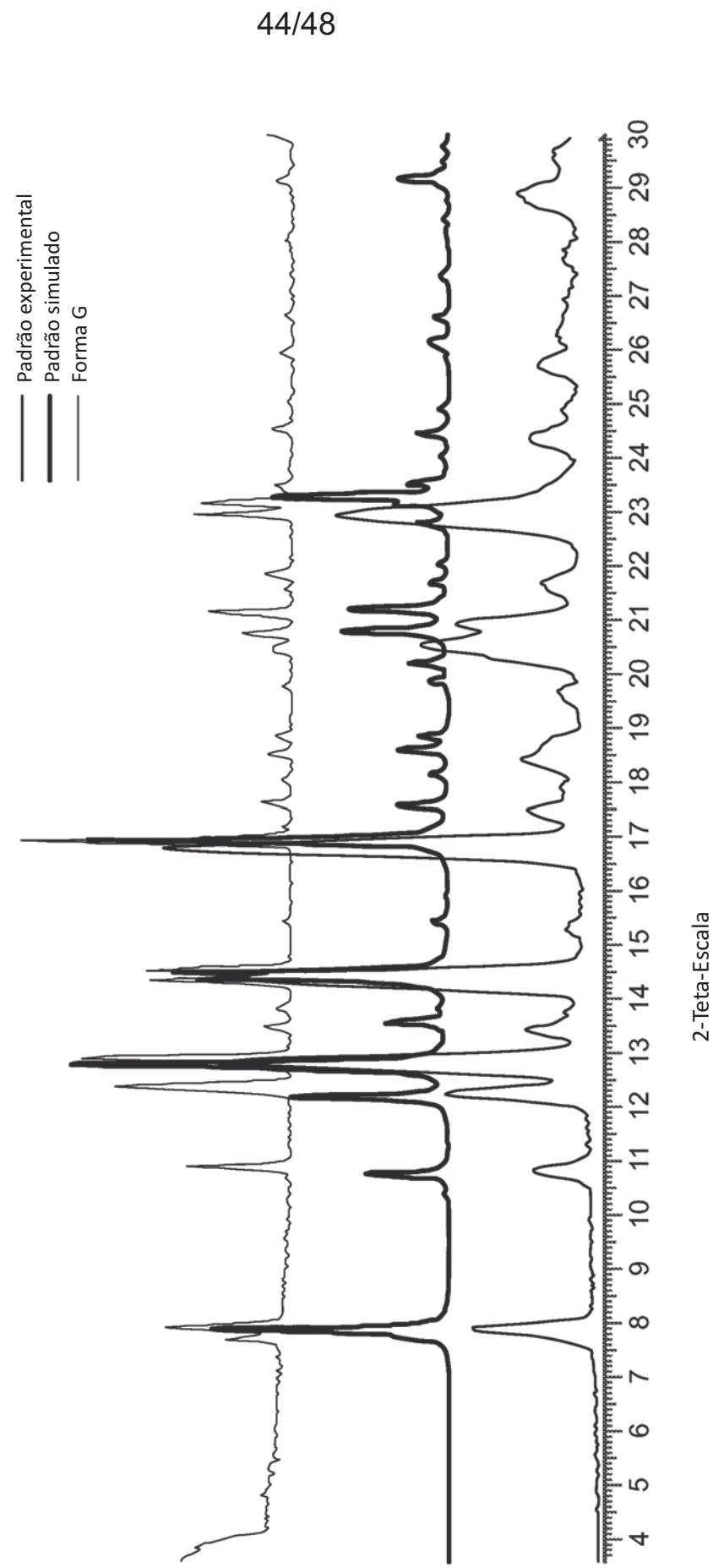
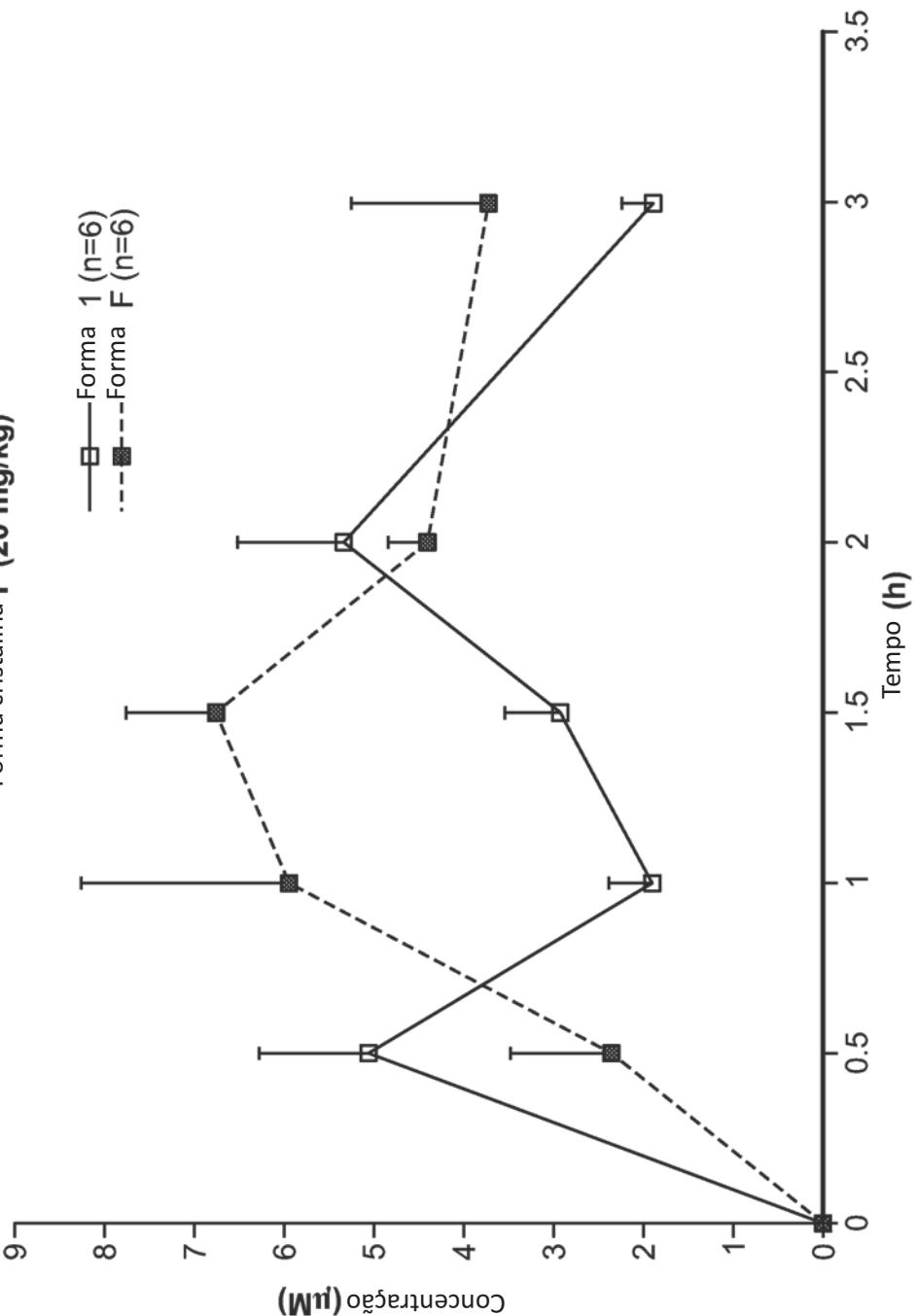


FIG. 37

Forma 1 principal de ácido obeticólico não cristalino vs
Forma cristalina F (20 mg/kg)



Conjugado tauro principal da Forma 1 de ácido obeticólico não cristalino

vs. Forma cristalina F (20 mg/kg)

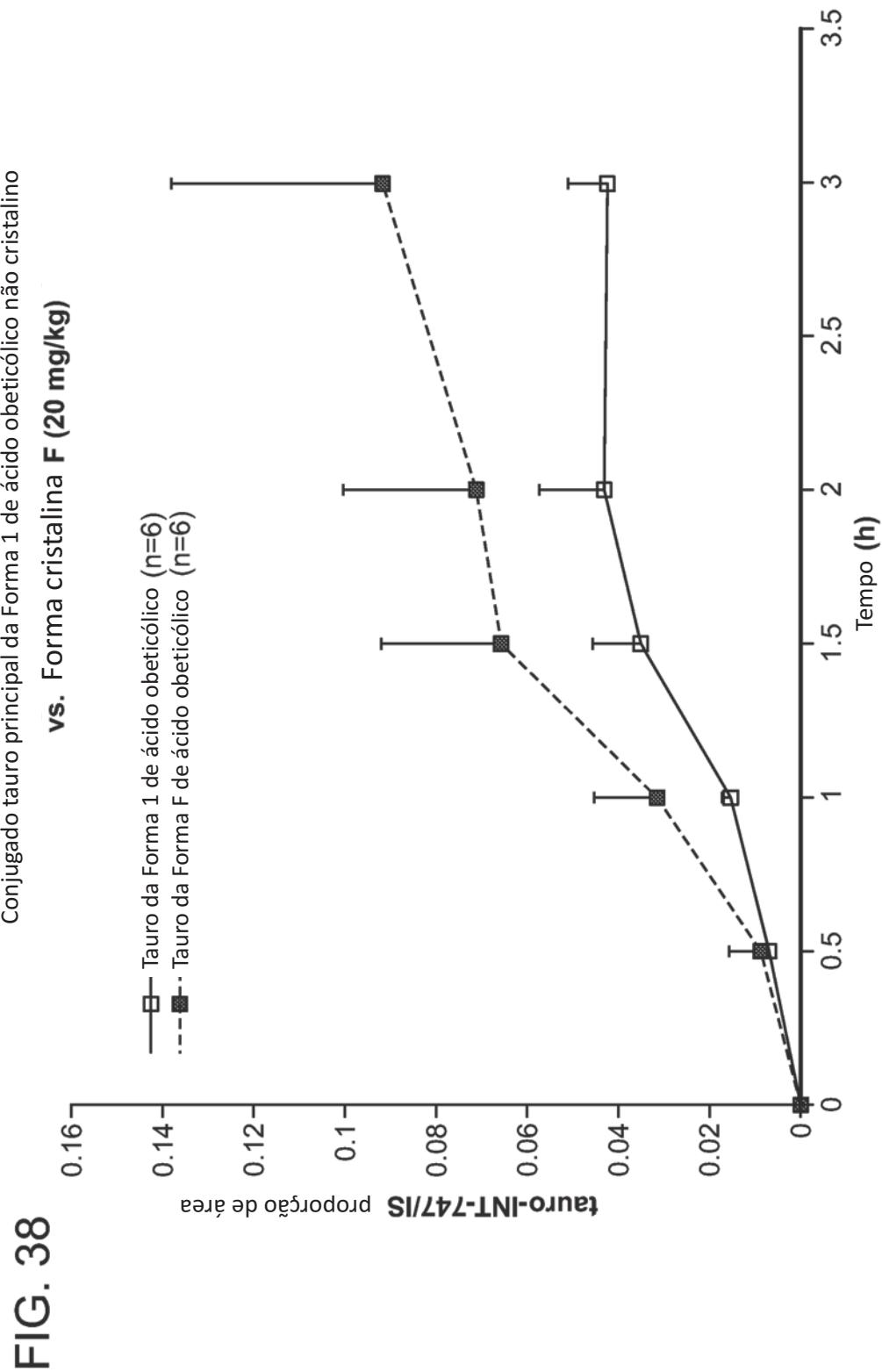


FIG. 39

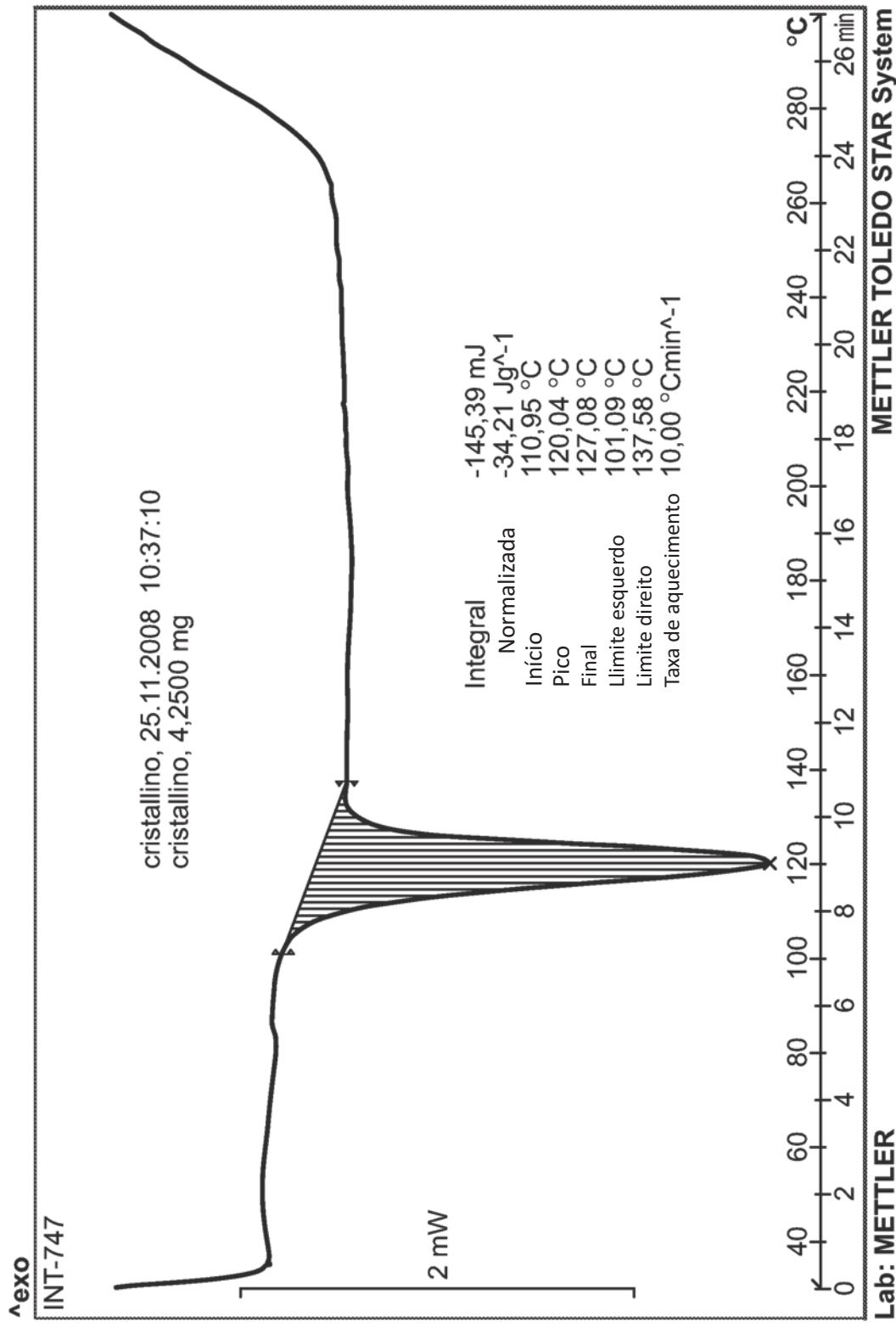


FIG. 40

