

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-043377- -00000-0000

Fecha: 2014-02-28 16:20:28 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 56

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO: FORMULACIONES DE ÁCIDO DESOXCÓLICO Y SALES DEL MISMO

SOLICITANTE: KYTERA BIOPHARMACEUTICALS, INC.

DIRECCIÓN: 27200 West Agoura Road, Suite 200, Calabasas, California
91301

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 28 de febrero de 2014

P2014/000015



ANEXOS



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso.



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.



Declaraciones. Declaración bajo la regla 4.17 (ii) del PCT.



Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.



Arte final 12 x 12.



De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.



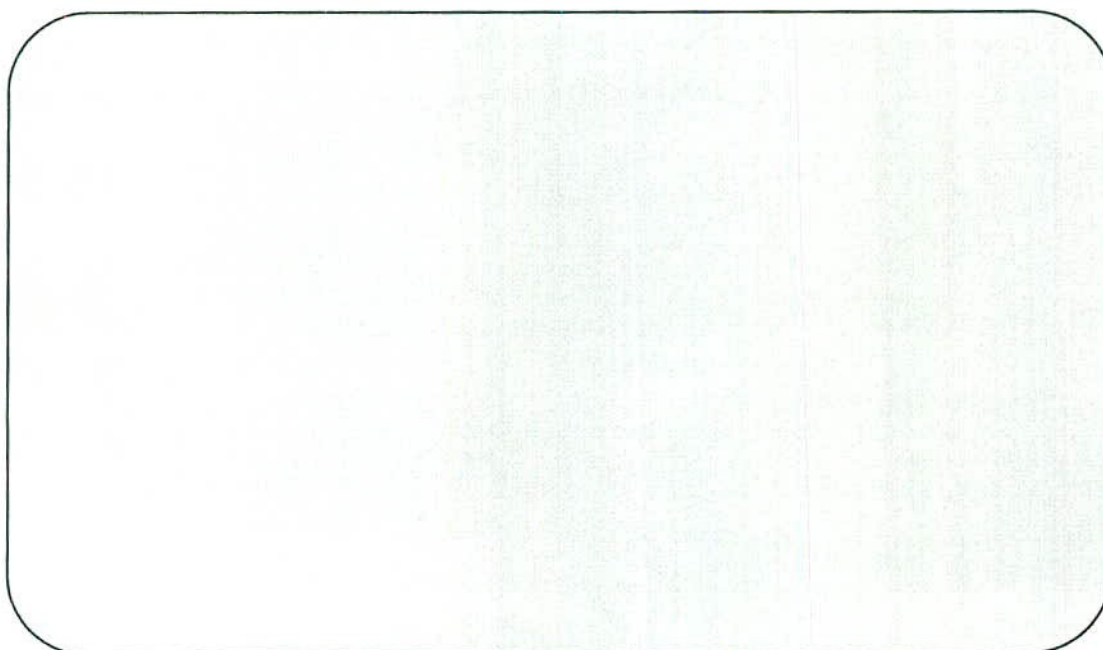
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.



Otros. Búsqueda Internacional



FIGURA CARACTERÍSTICA:



Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES

PCT/US2011/048806

Robert Emil HODGE
1607 Grissom Street,
Thousand Oaks,
California 91362
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Jeffrey Douglas WEBSTER
2716 Sapra Street,
Thousand Oaks,
California 91362
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Robert M. MORIARTY
3739 Michiana Drive,
Michiana Shores,
Indiana 46360
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0022855

Bogotá D.C., Febrero 27 de 2014 - 16:32:22

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS

NI 830.122.870

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	601308901	27/02/2014	8.517.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00
			=====	\$515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-043377- -00000-0000

Fecha: 2014-02-28 16:20:28 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 56

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

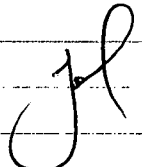
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Febrero 27 de 2014 - 16:32:25

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia: 2020		Fecha: <u>2014</u> / <u>02</u> / <u>28</u> AAAA MM DD	
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐		Recorrido: 4	
Radicador:		Planilla:	

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	14-43377	0	7
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
☒	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones: EL CD ANEXO CONTIENE UN TOTAL DE 6 ARCHIVOS: 6 EN FORMATO PDF, LOS CUALES FUERON PROCESADOS. EL CD SE ENCUENTRA EN EL FOLIO (5) 
--



No. 14-043377- -00000-0000

Fecha: 2014-02-28 16:20:28 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5/6

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTIL

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
 - ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
 - ☐ Descripción de la invención
 - ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☐ Indicación que se solicita una PCT
 - ☐ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
 - ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
 - ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
 - ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
 - ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
 - ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐



Espacio reservado para el adhesivo de radicación.

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2014/000015

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: KYTHERA
BIOPHARMACEUTICALS, INC.

Dirección: 27200 West Agoura Road, Suite
200, Calabasas, California 91301

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos
Lugar de Constitución: Estado Unidos

Teléfono: Fax:
E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. NIT

C.E. Otro

Cual

Número

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799
E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. X NIT

C.E. Otro

Cual

Número 79782747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2011/048806 Fecha Agosto 23, 2011

Publicación Internacional No. WO 2013/028177 Fecha Febrero 28, 2013

6

Título (54) FORMULACIONES DE ÁCIDO DESOXICÓLICO Y SALES DEL MISMO

Clasificación Internacional (51) A61K 9/00

Prioridad

SI

☐

NO

☒

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de
Solicitud

9

Comprobante de pago No. 14- Fecha



ANEXOS

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☒

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☐

Poderes, si fuere el caso.

☐

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☐

Declaraciones.

☒

Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☐

Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.

☐

De ser el caso, copia del contrato de acceso.

☐

De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.

☐

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.

☐

Arte final 12 x 12.

☐

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional



FIGURA CARACTERÍSTICA:



Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE FIRMA: _____
C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES

PCT/US2011/048806

Robert Emil HODGE

1607 Grissom Street,
Thousand Oaks,
California 91362
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Jeffrey Douglas WEBSTER

2716 Sapra Street,
Thousand Oaks,
California 91362
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

Robert M. MORIARTY

3739 Michiana Drive,
Michiana Shores,
Indiana 46360
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense



(51) International Patent Classification:
A61K 9/00 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2011/048806

(22) International Filing Date:
23 August 2011 (23.08.2011)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(71) Applicant (for all designated States except US):
KYTHERA BIOPHARMACEUTICALS, INC.
[US/US]; 27200 West Agoura Road, Suite 200, Calabasas,
California 91301 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **HODGE, Robert Emil** [US/US]; 1607 Grissom Street, Thousand Oaks, California 91362 (US). **WEBSTER, Jeffrey Douglas** [US/US]; 2716 Sapra Street, Thousand Oaks, California 91362 (US). **MORIARTY, Robert M.** [US/US]; 3739 Michiana Drive, Michiana Shores, Indiana 46360 (US).

(74) Agents: **SWISS, Gerald F.** et al.; Foley & Lardner LLP,
975 Page Mill Road, Palo Alto, California 94304 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

(54) Title: FORMULATIONS OF DEOXYCHOLIC ACID AND SALTS THEREOF

(57) Abstract: The present application is directed to an aqueous pharmaceutical composition comprising from about 0.4% w/v to less than about 2% w/v of a salt of deoxycholic acid, wherein the composition is maintained at a pH from about 8.1 to about 8.5 such that the composition is stabilized against precipitation. Also disclosed herein, are methods for stabilizing an aqueous pharmaceutical composition comprising from about 0.4% w/v to less than about 2% w/v of a salt of deoxycholic acid against precipitation, said method comprising maintaining pH of the solution from about 8.1 to about 8.5.



FORMULATIONS OF DEOXYCHOLIC ACID AND SALTS THEREOF

FIELD OF THE INVENTION

[0001] This invention relates to aqueous pharmaceutical formulations containing very low concentrations of a salt of deoxycholic acid (“DCA”), wherein the formulation is maintained at a pH such that precipitation of DCA is substantially inhibited. In a preferred embodiment, the pharmaceutical composition is buffered to maintain a physiologically acceptable pH such that the composition is suitable for injection.

BACKGROUND

[0002] Recently published literature reports that the aqueous solutions of DCA has fat removing properties when injected into fatty deposits *in vivo* (See, WO 2005/117900 and WO 2005/112942, US2005/0261258; US2005/0267080; US2006/127468; and US2006/0154906). DCA injected into fat tissue degrades fat cells *via* a cytolytic mechanism to provide the desired aesthetic results.

[0003] Notwithstanding the benefits of aqueous formulations of DCA, it has been found that at low concentrations of DCA (i.e., less than or about 2% w/v;) in aqueous solutions which optionally contain benzyl alcohol, forms a precipitate after storage over a period of time. Surprisingly, it has been found that the lower the concentration DCA, the higher is the rate of precipitation notwithstanding any significant change in the pH of the solution. This precipitation at very low concentrations is a problem for commercialization as a precipitate is counter-indicated for subcutaneous injections of DCA.

[0004] In each treatment regimen, the current clinical trials of aqueous formulations of DCA employ multiple injections of small amounts of the aqueous formulation into different sites defining the fat deposit to be treated.

[0005] As is apparent, aqueous formulations of DCA used in such treatments overlap with the problems arising from precipitation of the DCA. That is to say that an initially clear aqueous solution of DCA when stored for a period of time, will form a precipitate at commercially relevant concentrations of DCA notwithstanding the fact that the pH of these solutions are between about 7.50 and about 8.0 which are substantially above the pKa of deoxycholic acid.

[0006] Thus, there is a need for stabilizing the low concentration aqueous solutions of deoxycholic acid or a salt thereof against precipitation during a shelf life of at least 2 months.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0007] It has been surprisingly found that aqueous solutions of a salt of deoxycholic acid at concentrations of from about 0.4% w/v to less than about 2% w/v can be stabilized by adjusting the pH of the solution to above about 8 and preferably from a physiologically acceptable pH from about 8.1 to about 8.5. The pH is preferably maintained within this range by using buffers.

[0008] Accordingly, in one of its composition aspects, this invention is directed to aqueous formulations consisting essentially of a salt of deoxycholic acid at a concentration of from about 0.4% w/v to less than about 2% w/v and optionally a preservative effective amount of benzyl alcohol which formulations are stabilized against precipitation by adjusting the pH of the initially formed clear solution to a pH of from about 8.1 to about 8.5. In another embodiment, this invention is directed to an aqueous formulation consisting essentially of a salt of deoxycholic acid at a concentration of from about 0.5% w/v to about 1% w/v and optionally a preservative effective amount of benzyl alcohol which formulations are stabilized against precipitation by adjusting the pH of the initially formed clear solution to a pH of from about 8.1 to about 8.5.

[0009] In another embodiment, this invention is directed to an aqueous formulation consisting essentially of:

a sterile aqueous solution buffered to a pH of about 8.3;
about 0.5% w/v or about 1% w/v of a salt of deoxycholic acid;
optionally a preservative effective amount of benzyl alcohol; and
about 1% w/v of sodium chloride,

wherein the composition is stable against precipitation.

[0010] Also disclosed herein is a method for stabilizing an aqueous composition of a salt of deoxycholic acid against precipitation during storage wherein the concentration of the deoxycholic acid salt is an amount effective to lyse fat cells provided that the amount of the deoxycholic acid salt ranges from about 0.4% w/v to less than 2% w/v, which method comprises:

forming an aqueous solution of a deoxycholic acid salt at an initial pH above its pKa; adjusting the pH of the aqueous solution to a pH of from about 8.1 to about 8.5; and optionally including a sufficient amount of buffer to maintain the pH at from about 8.1 to about 8.5.

- 5 [0011] Also disclosed herein is a method to lyse a fat cell comprising administering to said cell a composition according to this invention.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

- 10 [0012] Fig. 1 illustrates (67 X enhancement) that an aqueous composition of water and 0.9 % w/v benzyl alcohol and no sodium deoxycholate contains only a trace of precipitate, which is presumed to be bioprene tubing particles.

[0013] Fig. 2 illustrates (67 X enhancement) that an aqueous composition of water, 0.5 % w/v sodium deoxycholate and 0.9 % w/v benzyl alcohol contains significant amounts of precipitate which is presumed to be deoxycholate crystals.

- 15 [0014] Fig. 3 illustrates (67 X enhancement) that an aqueous composition of water, 1 % w/v sodium deoxycholate and 0.9 % w/v benzyl alcohol contains significant amounts of precipitate, albeit less than that of 0.5 % w/v sodium deoxycholate. As before, the precipitate is presumed to be deoxycholate crystals.

- 20 [0015] Fig. 4 illustrates (67 X enhancement) that an aqueous composition of water, 2 % w/v sodium deoxycholate and 0.9 % w/v benzyl alcohol contains significant amounts of precipitate but substantially less than that observed in Figs. 2 and 3.

DETAILED DESCRIPTION

[0016] As used herein, certain terms have the following defined meanings.

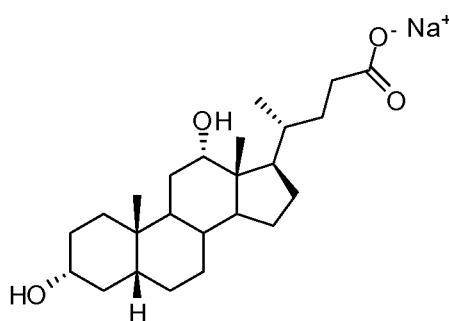
- 25 [0017] All numerical designations, e.g., pH, temperature, time, concentration, and molecular weight, including ranges, are approximations which are varied (+) or (-) by increments of 0.1. It is to be understood, although not always explicitly stated that all numerical designations are preceded by the term “about”. The term “about” also includes the exact value “X” in addition to minor increments of “X” such as “X + 0.1” or “X - 0.1.” It also is to be understood, although not always explicitly stated, that the reagents described herein are merely exemplary and that equivalents of such are known in the art.

[0018] As used herein, the term “comprising” is intended to mean that the compositions and methods include the recited elements, but do not exclude others.

[0019] “Consisting essentially of” when used to define compositions and methods, shall mean excluding any active ingredients. An “active ingredient” is a substance intended to furnish pharmacological activity or other direct effect in the diagnosis, cure, mitigation, treatment, or prevention of disease or to affect the structure or any function of the human body. Thus, for example, a composition consisting essentially of the elements as defined herein would not exclude trace contaminants from the isolation and purification method and pharmaceutically acceptable carriers, such as phosphate buffered saline, preservatives, and the like but would exclude enzymes such as phosphatases, and proteins. Non-limiting examples of such proteins are heparin, albumin, and the like

[0020] “Consisting of” shall mean excluding more than trace elements of other ingredients and substantial method steps for administering the compositions of this invention. Embodiments defined by each of these transition terms are within the scope of this invention.

[0021] As used herein, the term “salt of deoxycholic acid” or “a salt thereof” refers to pharmaceutically acceptable salts of (4R)-4-((3R,5R,10S,12S,13R,17R)-3,12-dihydroxy-10,13-dimethylhexadecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl)pentanoate having an alkali metal or an ammonium ion as the cation. Preferred are alkali metal salts, with sodium salts being more preferred.



[0022] Sodium deoxycholate or sodium (4R)-4-((3R,5R,10S,12S,13R,17R)-3,12-dihydroxy-10,13-dimethylhexadecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl)pentanoate can be prepared according to the methods disclosed in PCT/US2010/061150 titled “Methods for the Purification of Deoxycholic Acid,” filed on December 17, 2010.

[0023] As used herein, the term “aqueous pharmaceutical formulation” refers to a composition of a deoxycholic acid or a salt thereof in water suitable for administration to a patient preferably via subcutaneous injection from a syringe.

5 [0024] As used herein, the term “buffer” refers to an aqueous solution comprising a mixture of a weak acid and its conjugate base or a weak base and its conjugate acid. A buffer has the property that the pH of the solution changes very little when a small amount of acid or base is added to it. Buffer solutions are used as a means of keeping pH at a nearly constant value in a wide variety of chemical applications. Examples of suitable buffers include phosphate buffers and those known in the literature (*see*, for example, Troy, D.B., ed. (2005) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins).

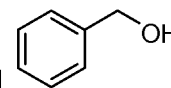
10 [0025] As used herein, the term “base” refers to various typically water-soluble compounds, molecules or ions that in solution have a pH greater than 7. Such compounds, molecules or ions are able to take up a proton from an acid or are able to give up an unshared pair of electrons to an acid. Examples of suitable bases include metal carbonates and bicarbonates, for example sodium carbonate, calcium carbonate, magnesium carbonate, zinc carbonate, sodium bicarbonate and the like; and metal hydroxides, for example sodium hydroxide, potassium hydroxide, and the like, such as those known in the literature (*see*, for example, Troy, D.B., ed. (2005) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins).

20 [0026] As used herein, the term “metal carbonates” refers to the metal salt of CO_3^{2-} . For example, sodium carbonate, calcium carbonate, magnesium carbonate, zinc carbonate, and the like.

[0027] As used herein, the term “metal bicarbonates” refers to the metal salt of HCO_3^- . For example, sodium bicarbonate, and the like.

25 [0028] As used herein, the term “metal hydroxides” refers to the metal salt of OH^- . For example, sodium hydroxide, potassium hydroxide, and the like.

[0029] As used herein, the terms “sterile water” or “water for injection” refer to a sterile, nonpyrogenic preparation of water for injection which contains no bacteriostat, antimicrobial agent or added buffer. In general, the osmolar concentration of additives totals at least 112 mOsm/liter (two-fifths of the normal osmolarity of the extracellular fluid -280 mOsm/liter).



[0030] As used herein, the term “benzyl alcohol” refers to the compound

[0031] As used herein, the term “precipitation” refers to the formation of a solid in a solution and is readily differentiated from gel formation.

5 [0032] As used herein, the term “solution” refers to a substantially homogeneous mixture comprising two or more substances dissolved in a solvent.

[0033] As used herein, the terms “substantially inhibit precipitation” and “inhibits precipitation” means to inhibit most or all visible precipitation so as to maintain homogeneity for a period of time ranging from at least 1 month to at least 1 year.

10 [0034] As used herein, the term “relative standard deviation for homogeneity” or “ H_E ” refers to the value obtained by dividing the standard deviation of the homogeneity by the absolute value of the mean. An H_E less than 10 indicates very good homogeneity.

Formulations

15 [0035] Knowledge about the chemical and physical stability of a drug composition in the desired media for delivery is valuable. In the longer term, the stability of the composition will dictate the shelf life of the marketed product. It is preferable that the active ingredient in a pharmaceutical composition be at the required concentration when administered to a patient.

20 [0036] In the discussion below, sodium deoxycholate is recited for illustrative purposes only and it is understood that other pharmaceutically acceptable salts of deoxycholic acid can be used interchangeably with the sodium salt.

25 [0037] Current clinical methods for the administration of a sodium deoxycholate to a patient to dissolve fat include the administration via subcutaneous injections of a low concentration (i.e., <2% w/v) of an aqueous solution of the salt of deoxycholic acid where the amount of the salt of deoxycholic acid is sufficient to lyse fat cells (about 0.4% w/v and higher). At such concentrations, as it has been shown that the low concentration is beneficial for the effective and safe removal of fat deposits in the body. However, it has been observed that a precipitate forms at such relatively low concentrations of sodium deoxycholate in aqueous media. This precipitation results in a limited shelf life of aqueous solutions of

sodium deoxycholate, even at cold temperatures (3-5 °C). In one embodiment, the sodium salt can be replaced by another alkali metal salt.

[0038] This instability of aqueous solutions of sodium deoxycholate can be circumvented by the preparation of an aqueous solution of sodium deoxycholate at a concentration of about 5% to about 16% w/v, and having the practitioner dilute the pharmaceutical composition of the sodium deoxycholate solution just prior to use. Whereas this dilution method is effective to allow for both storage stability and effective patient dosing, it is not ideal as a method for routine use especially if a sterile injectable solution of no more than about 2 mL is required. Moreover, current clinical plans include up to 50 injections per treatment session.

[0039] It has been found that aqueous formulations of sodium deoxycholate at concentrations ranging from about 0.4% w/v to less than about 2% w/v can be stabilized by adjusting the pH of the solution. This invention is directed to an aqueous formulation consisting essentially of a salt of deoxycholic acid at a concentration ranging from about 0.4% w/v to less than about 2% w/v and optionally a pharmaceutically acceptable excipient such as a preservative effective amount of benzyl alcohol and/or a pH adjusting buffer, wherein said formulation is maintained at a pH of about 8.1 to about 8.5.

[0040] In another embodiment, the aqueous formulation is lyophilized to provide for a stable composition which is ready to be reconstituted by addition of the appropriate amount of water. In this embodiment, this invention comprises lyophilized compositions as described above which optionally further contain a lyophilization aid.

[0041] In one embodiment, the aqueous formulation contains about 0.5% w/v of a salt of deoxycholic acid. In another embodiment, the aqueous formulation contains about 1% w/v of a salt of deoxycholic acid.

[0042] In a further embodiment, the water employed in the aqueous formulation is sterile water. In still a further embodiment, the preservative effective amount of benzyl alcohol is about 0.9% w/v benzyl alcohol and the pH of the formulation is about 8.3. In one embodiment, said salt is an alkali metal salt. In another embodiment, said salt is a sodium salt.

[0043] In one embodiment, the pharmaceutical formulations disclosed herein are suitable for injection into a human. The method of injection can be any type of injection, such as subcutaneous injection, as well as other forms of injection.

[0044] In one preferred aspect of this invention, the precipitation of the salt of deoxycholic acid in the aqueous formulation is inhibited for a period of at least about six months. In another aspect, the precipitation is inhibited for a period of at least about one year. In yet another aspect, the precipitation is inhibited for a period of at least about two years.

[0045] It is contemplated that when stored at various temperatures, for example at ambient or cold temperatures, the formulation can have an increased shelf life. In certain embodiments, the composition is stored at a temperature of from about 17 °C to about 27 °C. In some embodiments, the temperature of the formulation is increased to a temperature of about 25 °C to about 37 °C. In other embodiments, the formulation is stored at a temperature of from about 2 °C to about 8 °C.

[0046] In certain embodiments, the pH of the formulation ranges from about 8.1 to about 8.5. In one embodiment, the pH of the composition is about 8.1, or alternatively, about 8.2, or alternatively, about 8.3, or alternatively, about 8.4, or alternatively, about 8.5. In a preferred embodiment, the pH of the formulation is about 8.3.

[0047] In one embodiment, the pH is established by the use of a base. It is contemplated that any base can be used to increase the pH of the composition provided that it does not react with the sodium deoxycholate and will not cause harm to the patient. In some embodiments, the base is selected from the group consisting of metal carbonates, metal bicarbonates, metal hydroxides, or a mixture thereof. Examples of bases include, but are not limited to, a base selected from the group consisting of sodium carbonate, calcium carbonate, magnesium carbonate, zinc carbonate, sodium bicarbonate, sodium hydroxide and potassium hydroxide or a mixture thereof. In one embodiment, the base is sodium hydroxide.

[0048] In certain cases, the pH of the composition may be maintained at the desired pH during storage with the use of a buffer. Various buffers are known in the art and it is contemplated that any buffer having buffering capacity at the desired pH can be used in the formulations disclosed herein. In one embodiment, the buffer is a phosphate buffer. The amount of phosphate in the composition can be determined to provide a desired pH and salt

concentration. In one embodiment, the composition comprises about 10 mM phosphate buffer. In a preferred embodiment, the composition comprises about 10 mM dibasic sodium phosphate buffer.

[0049] In some embodiments, the composition comprises at least one excipient to aid in achieving a composition with desired properties, such as increased solubility, preservability or to provide an isotonic solution. Such excipients are known in the art. In one embodiment, the composition comprises about 1% w/v sodium chloride. In another embodiment, the composition comprises about 0.9% w/v benzyl alcohol. In some embodiments, the composition comprises about 0.9% w/v benzyl alcohol and about 1% w/v sodium chloride.

[0050] In some embodiments, the pH of the composition is established by use of a base and optionally maintained by use of a buffer.

[0051] In a preferred embodiment, this invention provides a stabilized composition comprising:

a phosphate buffer of a pH of about 8.3;
about 0.5% w/v or about 1% w/v of sodium deoxycholate;
a preservative effective amount of benzyl alcohol; and
about 1% w/v of sodium chloride,

wherein the composition is stabilized against precipitation.

[0052] In a further embodiment, the phosphate buffer is 10 mM dibasic sodium phosphate buffer.

[0053] In one embodiment, the preservative effective amount of benzyl alcohol is about 0.9% w/v.

[0054] The formulations disclosed herein comprise from about 0.4% w/v to less than about 2% w/v of a salt of deoxycholic acid in water maintained at a pH sufficient to substantially inhibit precipitation of the salt of deoxycholic acid. The amount of precipitation or homogeneity of the composition can be measured using various methods. For example, it can be measured quantitatively using light scattering by illuminating the composition with a spectrophotometer. Or alternatively, the homogeneity can be measured qualitatively by observing the visual clarity of the solution with the eye. In some embodiments, the

composition has a relative standard deviation for homogeneity of less than about 5%.

Alternatively, the composition has a relative standard deviation for homogeneity of less than about 4%, or alternatively, about 3%, or alternatively, about 2%, or alternatively, about 1%.

[0055] In another embodiment, this invention is directed to a composition consisting essentially of:

a sterile aqueous solution buffered to a pH of about 8.3;
about 0.5% w/v or 1% w/v of sodium deoxycholate;
about 0.9% w/v benzyl alcohol; and
about 1% w/v of sodium chloride,

10 wherein the composition is stable against precipitation.

[0056] In another embodiment, this invention is directed to a composition consisting of:

an aqueous solution buffered to a pH of about 8.3;
about 0.5% w/v or about 1% w/v of sodium deoxycholate;
about 0.9% w/v benzyl alcohol; and
15 about 1% w/v of sodium chloride,

wherein the composition is stable against precipitation.

[0057] In some embodiments, the solutions herein do not include lipids, phospholipids, or phosphatidylcholine. In some embodiments, the solutions herein include up to 5% w/w, w/v, or v/v lipids, specifically phospholipids, or more specifically phosphatidylcholine. Preferably,
20 the amount of lipids used is less than that of sodium deoxycholate or another salt of deoxycholic acid .

[0058] In some embodiments, the aqueous pharmaceutical composition of the invention can further comprise a second therapeutic agent selected from the group consisting of: anti-microbial agents, vasoconstrictors, anti-thrombotic agents, anti-coagulation agents, suds-
25 depressants, anti-inflammatory agents, analgesics, dispersion agents, anti-dispersion agents, penetration enhancers, steroids, tranquilizers, muscle relaxants, and anti-diarrhea agents. In some embodiments, a solution is in a container that contains up to 500 mL of solution. Such container can be a syringe or syringe-loadable container.

[0059] In some embodiments, the formulations further comprise a molecule known to cause
30 fat to die by an orthogonal mechanism. Such molecules include neuropeptide Y (NPY)

antagonists including, but not limited to, NPY receptor antagonists, such as BIBP-3226 (Amgen), BIBO-3304 (Boehringer Ingelheim), BMS-192548 and AR-H040922 (Bristol-Myers Squibb), LY-357897 (Eli Lilly), 1229U91 and GW438014S (GlaxoSmithKline), JNJ-5207787 (Johnson & Johnson), Lu-AA-44608 (Lundbeck), MK-0557 (Merck NPY), NGD-95-1 (Neurgogen), NLX-E201 (Neurologix), CGP-71683 (Novartis), PD-160170 (Pfizer), SR-120819A, BIIE0246, and S.A.0204 (Sanofi Aventis), S-2367 (Shiongli), dihydropyridine and dihydropyridine derivatives that are NPY receptor antagonists, bicyclic compounds that are NPY receptor antagonists, carbazole NPY receptor antagonists, and tricyclic compounds that are NPY receptor antagonists (*See*, e.g., WO 2006/133160 and U.S. 6,313,128). Also contemplated are fat selective pro-apoptotic peptides such as the CKGGRAKDC peptide that homes to white fat vasculature (*See*, Kolonin M.G. *et al.*, Nat. Med., 2004, 10(6): 625-32).

[0060] Another aspect of the invention relates to mixing adipo-ablative bile acids, such as, deoxycholic acid (DCA) with agents that kill fat cells. In one aspect, this invention contemplates a means to enhance the aesthetic effects of deoxycholate injections by mixing into the deoxycholate injectate a molecule that causes fat to die by an orthogonal mechanism. Examples of such candidate molecules include, but are not limited to, neuropeptide Y (NPY) antagonists and fat selective pro-apoptotic peptides. Since fat cell killing may be required to mediate the desired effects, the effects of an agent with fat killing ability can be enhanced via the addition of a molecule with potent fat cell killing effects. Additionally, molecules that require access to the vasculature to kill (such as certain pro-apoptotic peptides that bind to proteins expressed on the luminal side of capillaries) can gain access to these proteins because deoxycholate may cause vascular leakage. Thus, such agents can be synergistic with deoxycholate potentially creating a more potent means to mediate body contouring in fewer therapeutic sessions.

[0061] Examples of NPY antagonists include, but are not limited to, NPY receptor antagonists, such as BIBP-3226 (Amgen), BIBO-3304 (Boehringer Ingelheim), BMS-192548 and AR-H040922 (Bristol-Myers Squibb), LY-357897 (Eli Lilly), 1229U91 and GW438014S (GlaxoSmithKline), JNJ-5207787 (Johnson & Johnson), Lu-AA-44608 (Lundbeck), MK-0557 (Merck NPY), NGD-95-1 (Neurgogen), NLX-E201 (Neurologix), CGP-71683 (Novartis), PD-160170 (Pfizer), SR-120819A, BIIE0246, and S.A.0204 (Sanofi Aventis), S-2367 (Shiongli), dihydropyridine and dihydropyridine derivatives that are NPY receptor antagonists, bicyclic compounds that are NPY receptor antagonists, carbazole NPY receptor

antagonists, and tricyclic compounds that are NPY receptor antagonists. *See, e.g.,* WO 2006/133160 and U.S. 6,313,128.

[0062] Exemplary fat selective pro-apoptotic peptides includes, but is not limited to, CKGGRAKDC peptide that homes to white fat vasculature. *See, Kolonin M.G. et al., Nat. Med.* June 10(6):625-32 (2004).

[0063] Sodium deoxycholate or sodium (4*R*)-4-((3*R*,5*R*,10*S*,12*S*,13*R*,17*R*)-3,12-dihydroxy-10,13-dimethylhexadecahydro-1*H*-cyclopenta[*a*]phenanthren-17-yl)pentanoate can be prepared according to the methods disclosed in PCT/US2010/061150 titled "Methods for the Purification of Deoxycholic Acid," filed on December 17, 2010. Other salts of deoxycholic acid can be prepared likewise by the skilled artisan.

Methods

[0064] Disclosed herein are methods for stabilizing an aqueous formulation of deoxycholic acid salt against precipitation during storage wherein the concentration of or a salt thereof is an amount effective to lyse fat cells provided that the amount of salt ranges from about 0.4% w/v to about less than 2% w/v, which method comprises:

forming an aqueous solution of the salt of deoxycholic acid at an initial pH above its pKa;

adjusting the pH of the aqueous solution to a pH of from about 8.1 to about 8.5; and optionally including a sufficient amount of buffer to maintain the pH at from about 8.1 to about 8.5.

[0065] In one aspect of this invention, methods disclosed herein substantially stabilize the formulation of deoxycholic acid salt against precipitation over a period of time preferably for at least about six months. In another aspect, the methods stabilize the formulation of deoxycholic acid salt against precipitation for a period of at least about one year. In yet another aspect, the methods stabilize the formulation of deoxycholic acid salt against precipitation for a period of at least about two years.

[0066] It has been found that the pH of the solution can inhibit the precipitation of deoxycholic acid or a salt thereof at concentrations of from about 0.4% w/v to less than about 2% w/v in water to allow deoxycholic acid or a salt thereof, to be maintained in solution. In one embodiment, the pH is established by the use of a base. It is contemplated that any base

can be used to increase the pH of the composition provided that it does not react with deoxycholic acid or a salt thereof. In some embodiments, the base is selected from the group consisting of metal carbonates, metal bicarbonates, and metal hydroxides, or a mixture thereof. Examples of bases include, but are not limited to, a base selected from the group consisting of sodium carbonate, calcium carbonate, magnesium carbonate, zinc carbonate, sodium bicarbonate, sodium hydroxide and potassium hydroxide or a mixture thereof. In one embodiment, the base is sodium hydroxide.

[0067] In certain embodiments, the pH ranges from about 8.1 to about 8.5. In one embodiment, the pH of the composition is about 8.1, or alternatively, about 8.2, or alternatively, about 8.3, or alternatively, about 8.4, or alternatively, about 8.5. In a preferred embodiment, the pH of the aqueous solution is about 8.3.

[0068] In certain cases, the pH of the composition may need to be maintained with the use of a buffer. Various buffers are known in the art and it is contemplated that any buffer having buffering capacity at the desired pH can be used in the formulations disclosed herein. In one embodiment, the buffer is a phosphate buffer. The amount of phosphate required to provide a desired pH and salt concentration can be calculated using methods well known in the art. In one embodiment, the composition comprises about 10 mM phosphate buffer. In another embodiment, the phosphate buffer is 10 mM dibasic sodium phosphate buffer.

[0069] In certain cases, the pH is established by use of a base and optionally maintained by use of a buffer.

[0070] In one embodiment, the methods disclosed herein provide formulations which are suitable for injection into a human. The method of injection can be any type of injection, such as subcutaneous injection, as well as other forms of injection. Therefore, in some embodiments, the aqueous solution comprises sterile water or water for injection (WFI).

[0071] In one aspect, it may be that one or more excipients are used to maintain the solubility, or increase the preservability of deoxycholic acid salt present in the formulation. In one embodiment, the method comprises adding about 1% w/v benzyl alcohol. In some embodiments, the formulation also comprises at least one excipient to aid in achieving an isotonic solution. Such excipients are known in the art. In one embodiment, the method comprises adding about 1% w/v sodium chloride. In some embodiments, the method

comprises adding both 1% w/v benzyl alcohol and 1% w/v sodium chloride. In some embodiments, the method comprises adding both 0.9% w/v benzyl alcohol and 0.9% w/v sodium chloride. Using the methods disclosed herein, an aqueous solution comprising less than about 2% w/v of deoxycholic acid salt is maintained at a pH sufficient to substantially inhibit precipitation of deoxycholic acid salt. The amount of precipitation or homogeneity of the composition can be measured using various methods. For example, it can be measured quantitatively by measuring the light scattering via illumination by a spectrophotometer. Or alternatively, the homogeneity can be measured qualitatively by simply observing the visual clarity of the solution with the eye. In some embodiments, the method provides a pharmaceutical composition having a relative standard deviation for homogeneity of less than about 5%. Alternatively, the relative standard deviation for homogeneity of less than about 4%, or alternatively, about 3%, or alternatively, about 2%, or alternatively, about 1%.

[0072] The storage temperature can assist in maintaining the solubility of deoxycholic acid salt in the formulation. In certain embodiments, the storage temperature is from about 17 °C to about 27 °C. In some embodiments, the storage temperature is about 25 °C to about 37 °C. In other embodiments, the storage temperature is from about 2 °C to about 8 °C.

[0073] It is contemplated that the concentration of the salt of deoxycholic acid in the formulation is about 0.5% w/v, or alternatively about 0.7% w/v, or alternatively about 1% w/v, or alternatively about 1.2% w/v, or alternatively about 1.4% w/v, or alternatively less than about 2% w/v. In a preferred embodiment, the salt of deoxycholic acid is sodium deoxycholate. In another preferred embodiment, the composition comprises 0.5% w/v of sodium deoxycholate. In another preferred embodiment, the composition comprises 1% w/v of sodium deoxycholate.

[0074] In one embodiment, the aqueous formulation is split into a plurality of individual solutions which are separately administered to the fat cells. For example, the aqueous formulation is split into 5, 10, 15, 20, 25 or 30 separate solutions and, in some cases, up to 50 separate solutions.

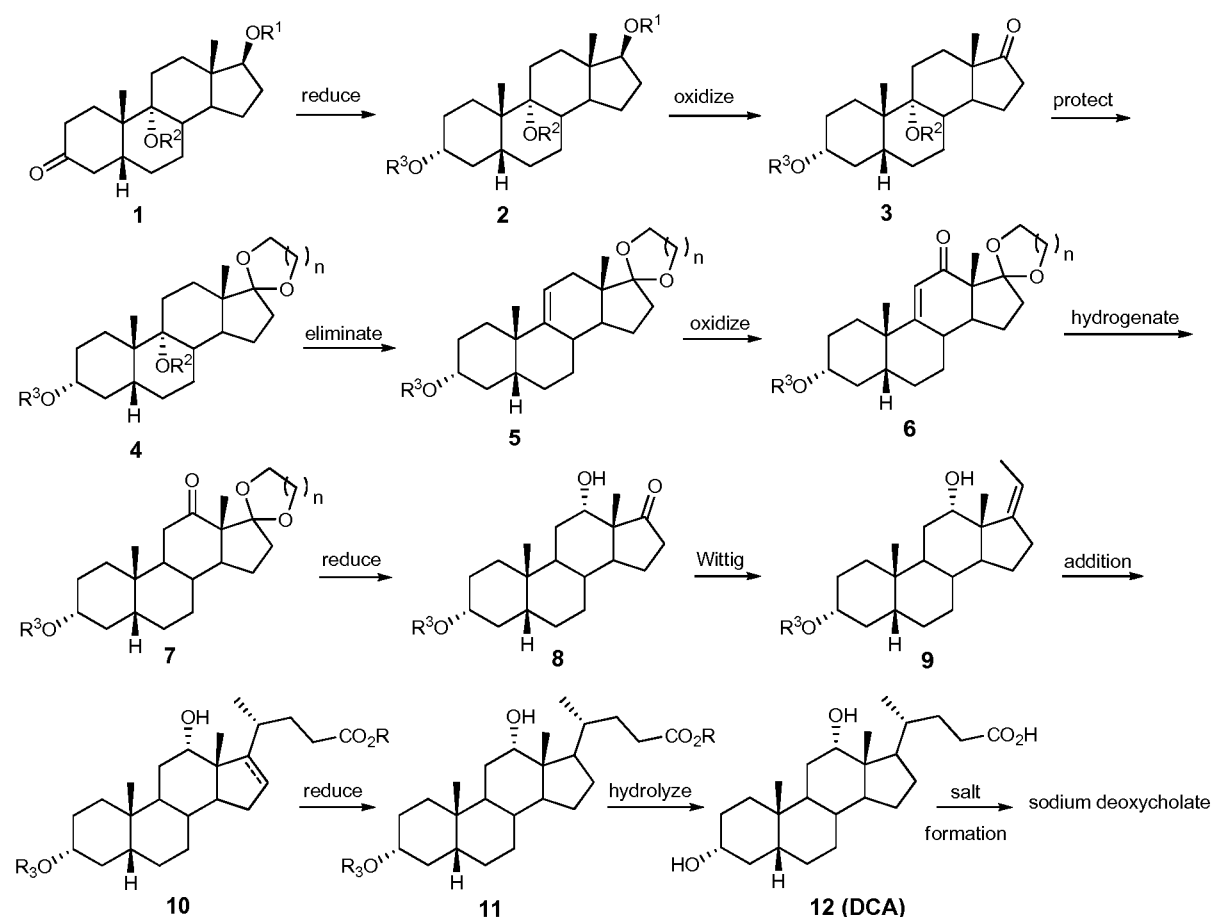
[0075] In a preferred embodiment, the salt of deoxycholic acid is sodium deoxycholate. As the methods of this invention include subcutaneous injections, there is also provided a syringe comprising a chamber, a plunger and an injection needle wherein the chamber comprises a

formulation of this invention. Preferably, the chamber is sufficient to hold at least 2 mL and preferably no more than 4 mL of the formulation.

[0076] In another embodiment, this invention provides a synthesis of DCA from protected commercially available 9- α ,17- β -dihydroxy-5- α -androstan-3-one as shown in scheme 1

5 below.

Scheme 1: Synthesis of DCA



[0077] The 9- α ,17- β hydroxyl groups of commercially available 9- α ,17- β -dihydroxy-5- α -androstan-3-one are differentially protected with hydroxyl protecting groups which can be removed under conditions where one of the hydroxyl groups is regenerated while the other hydroxyl group remains protected. Such differential protection is referred to as orthogonal protection and uses well known reagents and reaction conditions. In one example, one hydroxy group is protected as an acetyl group, whereas the other hydroxy group is protected as a benzyl group. Each group can be selectively removed under reaction conditions that retain the other hydroxyl protecting group intact.

[0078] It is contemplated that the relatively sterically protected 9- α -hydroxyl group may not need to be protected as the reactions contemplated prior to elimination of that group are likely inhibited at this position due to steric hindrance. Regardless, protection of this hydroxyl group adequately insures that the group remains intact until elimination of the hydroxyl group via dehydration is desired.

[0079] The 3-one group of orthogonally protected 9- α ,17- β -dihydroxy-5- α -androstan-3-one, compound **1**, is reduced with conventional reducing agent such as sodium borohydride to provide the 3- α -hydroxy derivative which is then protected with yet another orthogonal protecting group to provide compound **2**.

[0080] The hydroxyl protecting group at the 17-position of compound **2** is then selectively removed and the hydroxyl group so regenerated is then oxidized with a suitable oxidation reagent such as CrO₃ to provide the 17-keto derivative, compound **3**. The 17-keto group in compound **3** is protected as a ketal under standard ketalization conditions such as reaction with 1,2-dihydroxyethane or 1,3-dihydroxypropane to give compound **4** (which illustrates ketal formation with the 1,2-dihydroxyethane for illustrative purposes only).

[0081] Deprotection of the 9- α -hydroxyl as necessary is followed by dehydration of that hydroxyl group under conditions such as acid-catalyzed elimination provides the 9,10-unsaturated derivative, compound **5**. Generation of a 12-keto group is accomplished by allylic oxidation of compound **5** with oxidation reagents such as chromic acid or TBHP (tert-butyl hydroperoxide) and NaOCl to provide compound **6**. See, for example, U.S. Patent Application Serial No. 61/348,686. Alternatively, the allylic oxidation is accomplished by using about 2 to 5 equivalents of TBHP and about 0.3 to 0.5 equivalents of CuI as a catalyst. The reaction is carried out in a solvent such as acetonitrile at 40 °C for about 40-55 hours. The slow portionwise addition of TBHP results in more efficient oxidation. The product formed contains a mixture of compound **6** and the corresponding allylic alcohol. The product mixture is then oxidized with PCC to give compound **6**.

[0082] Hydrogenation of compound **6** under standard conditions such as 10% Pd/C and H₂ provides compound **7**. Reduction of the 12-keto group in compound **7** with reagents such as LiAl(OBu^t)₃H provides the 12-hydroxy derivative, compound **8**. Olefination of compound **8** under standard Wittig conditions such as using ethyltriphenylphosphonium bromide in presence of a base such as potassium *tert*-butoxide provides compound **9**. Addition of an alkyl acrylate such as methyl acrylate in presence of a Lewis acid provides compound **10**,

wherein R is an alkyl group such as methyl. Reduction of the double bond in compound **10** again proceeds under standard hydrogenation conditions such as Pd/C and H₂ to provide compound **11**. Deprotection of the 3-OR₃ followed by hydrolysis with a base such as LiOH provides DCA, compound **12**.

5 **[0083]** Compound **12** (crude DCA) was further purified with methanol wash and recrystallized from ethanol. It was diluted with 2 mol% MeOH in CH₂Cl₂ (25 vol) and heated to 35–37 °C for 1 hour. The slurry was allowed to cool to 28–30 °C and filtered. The filter cake was washed with CH₂Cl₂ (5 vol) and dried under vacuum at 40 °C to afford DCA.

10 **[0084]** DCA was dissolved in 10% DI water/ EtOH (12 vol), polish filtered over celite and washed with 10% DI water/ EtOH (3 vol). The resulting 15 volume filtrate was added to DI water (30 vol) and a thin white slurry was afforded. The slurry was held for 24 hours, filtered, washed with DI water (20 vol) and dried under vacuum at 40 °C to afford DCA.

15 **[0085]** Conversion of DCA to a pharmaceutically acceptable salt such as sodium deoxycholate proceeds via conventional conditions. Alternatively, conversion of a pharmaceutically acceptable salt of DCA such as sodium deoxycholate to DCA also proceeds via conventional conditions.

[0086] In another embodiment, this invention provides a stabilized formulation comprising:

 a buffered aqueous solution having a pH of about 8.1 to about 8.5 and further comprising about 0.5% of sodium deoxycholate and about 0.9% of benzyl alcohol,

20 wherein the formulation is stabilized against precipitation, and the sodium deoxycholate is prepared according to scheme 1.

[0087] In another embodiment, this invention provides a stabilized formulation comprising:

 a buffered aqueous solution having a pH of about 8.1 to about 8.5 and further comprising about 1% of sodium deoxycholate and about 0.9% of benzyl alcohol,

25 wherein the formulation is stabilized against precipitation, and the sodium deoxycholate is prepared according to scheme 1.

Examples

[0088] In the examples and elsewhere in the specification, abbreviations have the following meanings:

Mg	=	Milligram
mL	=	Milliliter
Mm	=	Millimeter
mM	=	Millimolar
T	=	Time
UV	=	Ultraviolet
v/v	=	Volume /Volume
w/v	=	Weight/Volume (g/mL)
w/w	=	Weight/ Weight
WFI	=	Water for Injection
mOsm	=	Milliosmole

[0089] The invention is further understood by reference to the following examples, which are intended to be purely exemplary of the invention.

Example 1

Concentration dependent precipitation from a solution of sodium deoxycholate

[0090] Solutions of sodium deoxycholate at different concentration were evaluated for precipitate formation after 1 week of storage. The results are depicted in Figs. 1-4, and demonstrate that at about 0.5% and at about 1 % (w/v) concentration of sodium deoxycholate in an aqueous solution containing only water and 0.9 % w/v benzyl alcohol, a significant amount of precipitate is formed such that it would inhibit use of the solution as a composition for subcutaneous injections. By visual inspection of Figs. 1-4, the amount of precipitation can be rated as tabulated below.

Table 1

% w/v Sodium Deoxycholate	Precipitation Rating	Comment
0	1	Precipitation substantially invisible to the naked eye
0.5	10	Significant amounts of precipitate visible to the naked eye
1.0	7	Significant amounts of precipitate visible to the naked eye but less than that for 0.5% w/v
2.0	2	Precipitation visible to the naked eye but present in substantially smaller amounts compared to the 0.5 and 1% solutions above

[0091] The precipitation rating estimates that “0” refers a clear solution and that “10” refers to a mixture exhibiting substantial precipitation readily visible to the naked eye.

[0092] Such an observation demonstrates that in the concentration ranges tested, the precipitation phenomena was substantially affected by deoxycholate concentration. To ascertain pH's effect on precipitation, the pH of the solutions were measured, as provided in Table 2, which demonstrates that the pH of the solutions were substantially the same, especially for the 1% and the 2% solutions. The inverse aqueous solubility of sodium deoxycholate, where a more dilute solution (0.5% or 1%) provides more precipitation than a more concentrated solution (2%), is a surprising observation and also evidences that the precipitation phenomena is not directly related to pH, because the pH of the solutions were substantially the same again, especially for the 1% and 2% solutions.

Table 2

% w/v Sodium Deoxycholate	Reading #	Temperature/ °C	pH
0	1	24.0	7.75
0	2	24.1	7.58
0.5	1	24.7	7.77
0.5	2	24.5	7.71
1	1	24.6	7.93
1	2	24.5	7.97
2	1	24.9	8.07
2	2	24.7	8.06

[0093] Accordingly, this invention provides that the surprising precipitation from dilute, 0.4% to less than 2% (w/v), salt of deoxycholic acid solutions are inhibited, to the extent that such solutions are useful for subcutaneous injections, by increasing the solution pH.

Example 2

Sodium deoxycholate (API) formulations with and without benzyl alcohol

1. A composition of sodium deoxycholate (0.5% and 1%) was prepared comprising sodium phosphate (10 mM), sodium chloride (75-90 mM), benzyl alcohol (0.9%), deoxycholic acid, pH 8.3.
2. An isotonic composition of sodium deoxycholate without benzyl alcohol was prepared using the free acid form, namely, deoxycholic acid, as follows.

a. Preparation of 100 mL isotonic batches at 10 mg/mL

[0094] 1.0 g of the deoxycholic acid (DCA) added to the solution only after a basic solution was made with 70 mL water, 142 mg anhydrous dibasic sodium phosphate and 267 μ L 10M NaOH. It took about 20 minutes for the API to go into solution. The pH of the solution was 11.1. The rapid addition of HCl was known to cause some precipitation, so 225 μ L of 1M HCl was slowly added to bring the solution to pH 8.3. The solution was allowed to mix for an additional 15 minutes. After bringing the volume up to 100 mL with water, the osmolality was found to be 51 mOsm. Addition of 859 mg of NaCl brought the osmolality up to 305 mOsm.

[0095] The solution so prepared could optionally be lyophilized to provide for a lyophilized product which could be reconstituted by addition of the appropriate amount of sterile water. Accordingly, this invention also provides for lyophilized products of the solutions disclosed herein.

b. Preparation of 1000 mL isotonic batches at 10 mg/mL

[0096] The results from section a (above) did not scale up perfectly when multiplied ten fold. To 900 mL of water, 1.4g anhydrous dibasic sodium phosphate, 8.6 g NaCl, and 2.7 mL 10 M NaOH were added. 10.0 g of DCA was then added and allowed to mix to clarity for 30 minutes. The pH of the solution was 10.4. 1.5 mL 1 M HCl was slowly added and allowed to mix for 5 minutes. The final pH was 8.1. An additional 20 μ L of 10M NaOH had to be added to bring the pH to 8.3. After bringing the volume up to 1000 mL with water, the osmolality was 314 mOsm.

[0097] Based on observations of the pH change during the addition of 1 M HCl, it was determined that for 1000 mL batches at 10 mg/mL API, just 1.0 mL of 1M HCl should be immediately added and then slowly titrated with small volumes of the acid. The suggested order of addition for 1000 mL of 10 mg/mL API is outlined in Table 3.

c. Preparation of 100 mL isotonic batches at 5 mg/mL

[0098] 0.50 g of deoxycholic acid (DCA) was added to the solution only after a basic solution was made with 70 mL water, 142 mg anhydrous dibasic sodium phosphate and 134 μ L 10M NaOH. It took about 20 minutes for the API to go into solution. The pH was 10.7.

The rapid addition of HCl was known to cause some precipitation, so 115 μ L of 1 M HCl was

slowly added to bring the solution to pH 8.3. The solution was allowed to mix for an additional 15 minutes. After bringing the volume up to 100 mL with water, the osmolality was found to be 39 mOsm. Addition of 859 mg of NaCl brought the osmolality up to 294 mOsm.

5 **d. Preparation of 1000 mL isotonic batches at 5 mg/mL**

[0099] The results from section c (above) did not scale up perfectly when multiplied ten fold. To 900 mL of water, 1.4g anhydrous dibasic sodium phosphate, 8.6 g NaCl, and 1.3 mL 10M NaOH were added. 5.0 g of DCA was then added and allowed to mix to clarity for 30 minutes. The pH was 8.6. After adding just 350 μ L 1M HCl, the pH dropped to 8.0. An additional 25 μ L of 10M NaOH had to be added to bring the pH to 8.4. After bringing the volume up to 1000 mL with water, the osmolality was 305 mOsm. Based on observations of the pH change during the addition of 1 M HCl, it was determined that for 1000 mL batches at 5 mg/mL API, that the solution should be slowly titrated with small volumes of 1M HCl. The suggested order of addition for 1000 mL of 5 mg/mL is outlined in Table 3.

15 **Table 3. Order of addition (left to right) for isotonic 1000 mL benzyl alcohol free formulation**

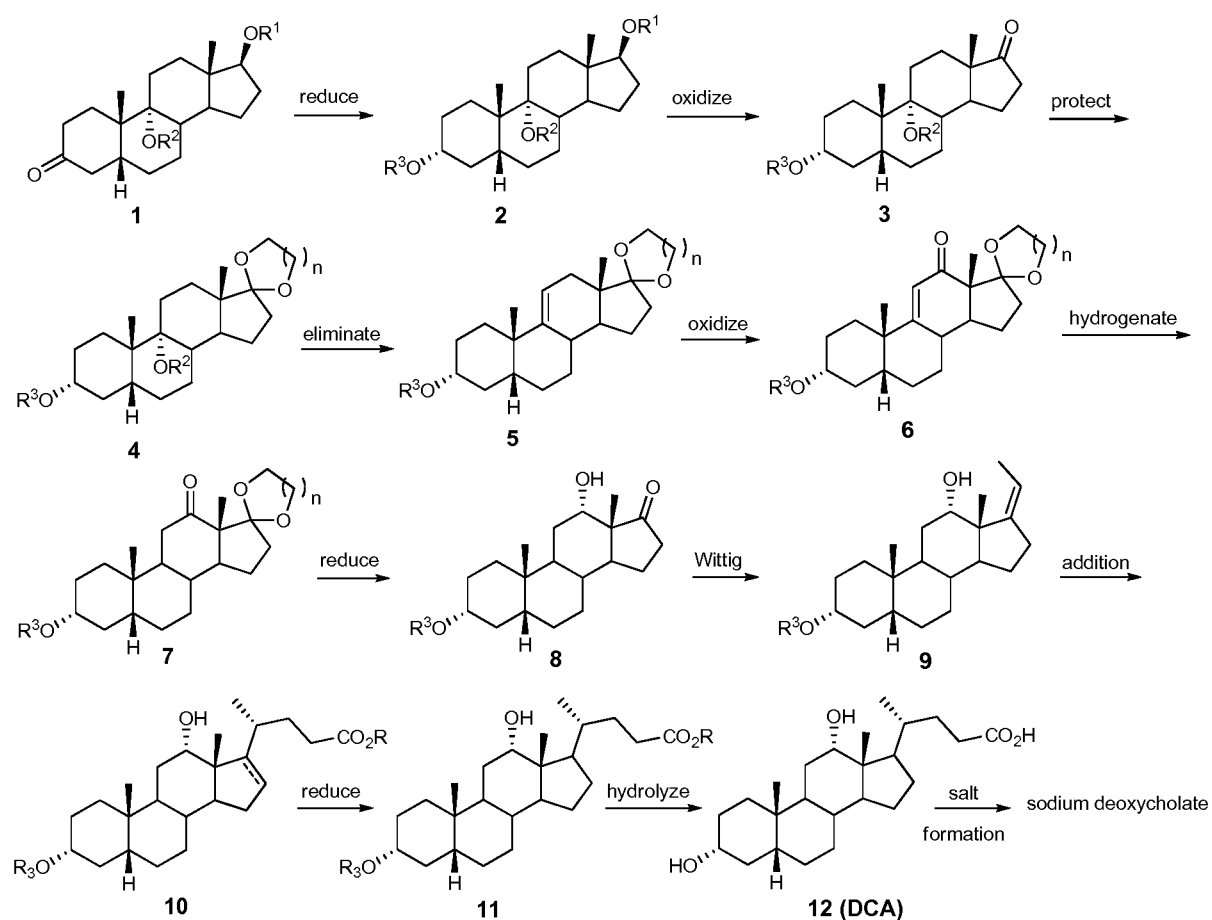
API Concentration	Dibasic Anhydrous Sodium Phosphate	10M NaOH	DCA	NaCl	1M HCl	pH
10 mg/mL	1.4 g	2.7 mL	10.0g	8.6 g	1.0 mL + incremental addition to final pH	8.3
5 mg/mL	1.4 g	1.3 mL	5.0 g	8.6 g	incremental addition to final pH	8.3

What is Claimed is:

1. A precipitation stable aqueous composition consisting essentially of from about 0.4% w/v to less than about 2% w/v of a salt of deoxycholic acid and a pharmaceutically acceptable excipient, wherein said composition is maintained at a pH of about 8.1 to about 8.5.
- 5 2. The composition of claim 1, wherein said salt of deoxycholic acid is present in an amount from about 0.5% w/v to about 1% w/v.
3. The composition of claim 1 or claim 2, wherein said salt of deoxycholic acid is present in an amount of about 0.5% w/v.
4. The composition of claim 1 or claim 2, wherein said salt of deoxycholic acid is
10 present in an amount of about 1% w/v.
5. The composition of any one of claims 1 to 4, wherein said excipient is a solvent, a buffer, a preservative, a lyophilization aid, or any combination thereof.
6. The composition of claim 5, wherein said excipient is a solvent, such as sterile water.
7. The composition of claim 5, wherein said excipient is a preservative, such as benzyl
15 alcohol.
8. The composition of claim 7, wherein said preservative is 0.9% benzyl alcohol.
9. The composition of any one of claims 1 to 8, wherein said composition has a pH of about 8.3.
10. The composition of any one of claims 1 to 9, wherein said salt is an alkali metal salt.
- 20 11. The composition of claim 10, wherein said alkali metal salt is sodium.
12. A precipitation stable aqueous composition consisting essentially of:
a sterile aqueous solution buffered to a pH of about 8.3;
about 0.5% w/v of sodium deoxycholate;
about 0.9% w/v benzyl alcohol; and
25 about 1% w/v of sodium chloride.

13. A precipitation stable aqueous composition consisting essentially of:
 an aqueous solution buffered to a pH of about 8.3;
 about 1% w/v of sodium deoxycholate;
 about 0.9% w/v benzyl alcohol; and
 about 1% w/v of sodium chloride.

14. The composition of any one of claims 1 to 13, wherein the deoxycholic acid is synthesized according to the following scheme:



15. A method of lysing a fat cell comprising administering to said cell a composition of any of claims 1 to 14.

1/4

Fig. 1



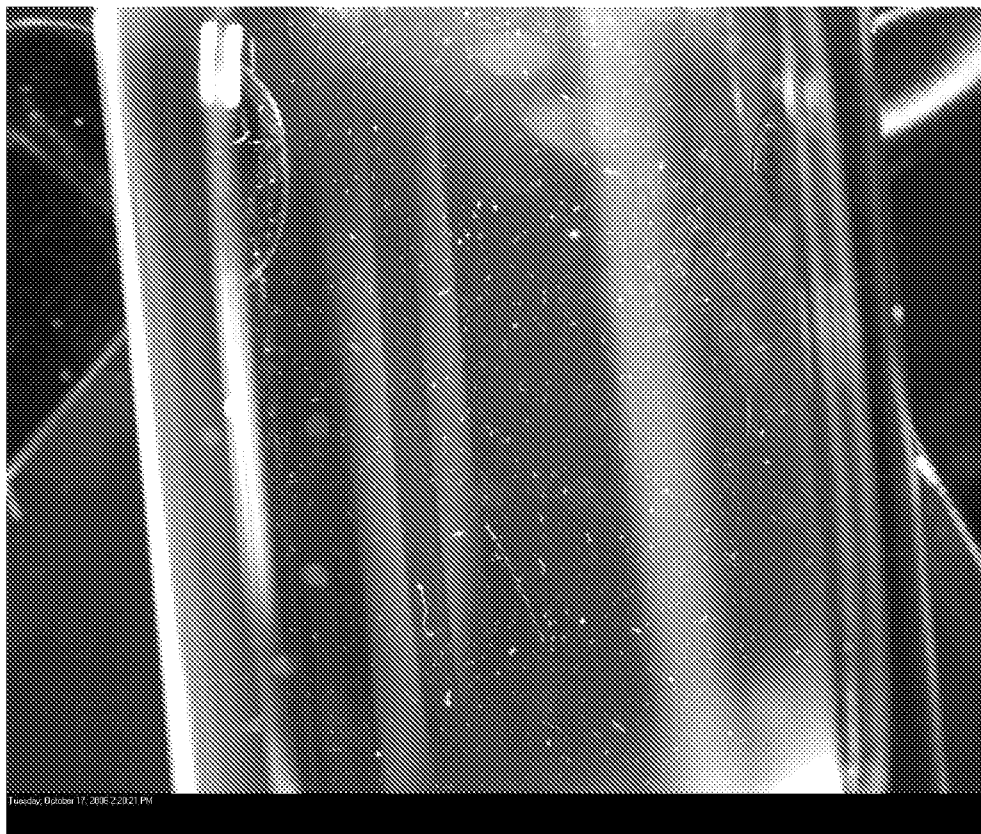
2/4

Fig. 2



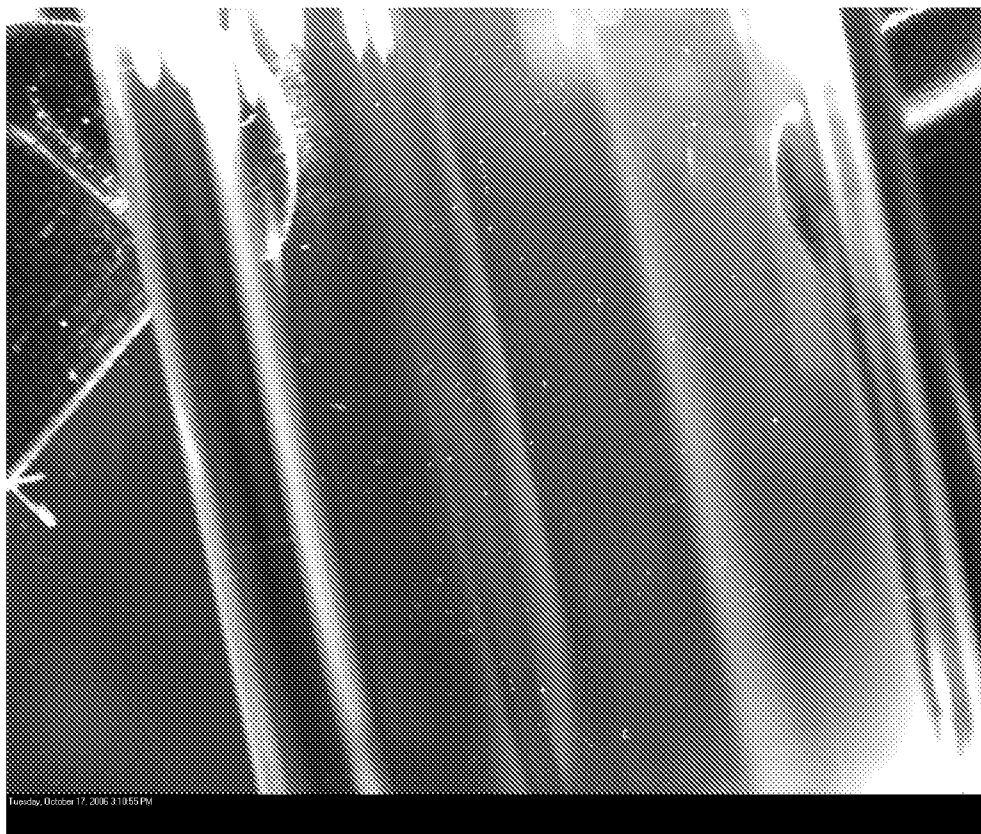
3/4

Fig. 3



4/4

Fig. 4



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2011/048806

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K9/00

ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 417 179 B1 (BURKHART CRAIG G [US] ET AL) 9 July 2002 (2002-07-09) paragraph [0017] - paragraph [0029]; examples 1,2 ----- -/--	1-6, 9-11,14



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 May 2012

Date of mailing of the international search report

01/06/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kling, Isabelle

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2011/048806

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ADAM M ROTUNDA ET AL: "Randomized double-blind clinical trial of subcutaneously injected deoxycholate versus a phosphatidylcholine-deoxycholate combination for the reduction of submental fat", DERMATOLOGIC SURGERY, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING, INC, NEW YORK, US, vol. 35, no. 5, 1 May 2009 (2009-05-01), pages 792-803, XP002661529, ISSN: 1076-0512, DOI: 10.1111/J.1524-4725.2009.01130.X [retrieved on 2009-04-06] the whole document -----	1-15
X	"Kythera Biopharmaceuticals: Evaluation of safety and efficacy of ATX-101 in the reduction of submental fat", INTERNET CITATION, 21 March 2011 (2011-03-21), pages 1-6, XP002661530, Retrieved from the Internet: URL:http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01305577 [retrieved on 2011-10-18] the whole document -----	1-15
X	FDA NEWS RELEASE: "FDA news release: FDA issues warning letters fro drugs promoted in fat elimination procedure", INTERNET CITATION, 7 April 2010 (2010-04-07), pages 1-2, XP002661531, Retrieved from the Internet: URL:http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm207453.htm [retrieved on 2011-10-18] the whole document -----	15
X	US 2005/261258 A1 (KOLODNEY MICHAEL S [US] ET AL) 24 November 2005 (2005-11-24) cited in the application claims 1-16; examples 1-4 -----	1-15
X	US 2006/127468 A1 (KOLODNEY MICHAEL S [US] ET AL) 15 June 2006 (2006-06-15) cited in the application column 67 - column 80; examples 4-8 -----	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/048806

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6417179 B1	09-07-2002	US 6417179 B1	09-07-2002
		US 6524602 B1	25-02-2003

US 2005261258 A1	24-11-2005	AT 518565 T	15-08-2011
		AT 521355 T	15-09-2011
		AU 2005245002 A1	01-12-2005
		CA 2567298 A1	01-12-2005
		CN 101018553 A	15-08-2007
		DK 1748780 T3	21-11-2011
		DK 1758590 T3	21-11-2011
		EP 1748780 A1	07-02-2007
		EP 1758590 A1	07-03-2007
		EP 2380576 A2	26-10-2011
		EP 2422789 A1	29-02-2012
		ES 2372416 T3	19-01-2012
		ES 2372499 T3	20-01-2012
		IL 179008 A	30-12-2010
		JP 2007538104 A	27-12-2007
		KR 20070024527 A	02-03-2007
		NZ 551000 A	29-10-2010
		PT 1748780 E	10-11-2011
		PT 1758590 E	15-11-2011
		SI 1748780 T1	29-02-2012
		SI 1758590 T1	30-03-2012
		US 2005261258 A1	24-11-2005
		US 2006154906 A1	13-07-2006
		US 2010048527 A1	25-02-2010
		WO 2005112942 A1	01-12-2005
		WO 2005117900 A1	15-12-2005

US 2006127468 A1	15-06-2006	US 2006127468 A1	15-06-2006
		US 2010292650 A1	18-11-2010

FORMULACIONES DE ÁCIDO DESOXCÍLICO Y SALES DEL MISMO**CAMPO DE LA INVENCION**

Esta invención se refiere a formulaciones
5 farmacéuticas acuosas que contienen concentraciones muy bajas
de una sal de ácido desoxicólico (por sus siglas en inglés,
"DCA"), en donde la formulación se mantiene a un pH de manera
que la precipitación del DCA es sustancialmente inhibida. En
una modalidad preferida, la composición farmacéutica es
10 amortiguada para mantener un pH fisiológicamente aceptable de
manera que la composición es adecuada para inyección.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La literatura recientemente publicada reporta que
15 las soluciones acuosas de DCA tienen propiedades que eliminan
la grasa cuando se inyectan en depósitos grasos *in vivo*
(Véase, documentos WO 2005/117900 y WO 2005/112942,
US2005/0261258; US2005/0267080; US2006/127468; y
US2006/0154906). El DCA inyectado en tejido graso degrada las
20 células grasas vía un mecanismo citolítico para proporcionar
los resultados estéticos deseados.

No obstante los beneficios de formulaciones acuosas
de DCA, se ha encontrado que a bajas concentraciones de DCA
(es decir, menos de o aproximadamente 2% en p/v), en
25 soluciones acuosas las cuales opcionalmente contienen alcohol

bencílico, se forma un precipitado después del almacenamiento durante un periodo de tiempo. De manera sorprendente, se ha encontrado que a inferior la concentración de DCA, superior es la velocidad de precipitación no obstante cualquier cambio
5 significante en el pH de la solución. Esta precipitación a concentraciones muy bajas es un problema para comercialización ya que un precipitado está contraindicado para inyecciones subcutáneas de DCA.

En cada régimen de tratamiento, los ensayos
10 clínicos actuales de formulaciones acuosas de DCA emplean inyecciones múltiples de cantidades pequeñas de la formulación acuosa en diferentes sitios que definen el depósito de grasa a ser tratado.

Como es aparente, las formulaciones acuosas de DCA
15 usadas en tales tratamientos se traslapan con los problemas que se originan a partir de la precipitación del DCA. Es decir, que una solución acuosa inicialmente clara de DCA cuando se almacena por un periodo de tiempo, formará un precipitado a concentraciones comercialmente relevantes de
20 DCA no obstante el hecho de que el pH de estas soluciones está entre aproximadamente 7.50 y aproximadamente 8.0 los cuales están sustancialmente arriba del pKa de ácido desoxicólico.

De este modo, existe una necesidad para estabilizar
25 las soluciones acuosas de baja concentración de ácido

desoxicólico o una sal del mismo contra la precipitación durante una vida de anaquel de al menos 2 meses.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

5 Se ha encontrado de manera sorprendente que las soluciones acuosas de una sal de ácido desoxicólico a concentraciones desde aproximadamente 0.4% en p/v a menos de aproximadamente 2% en p/v pueden ser estabilizadas ajustando el pH de la solución hasta arriba de aproximadamente 8 y
10 preferiblemente de un pH fisiológicamente aceptable desde aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5. El pH es preferiblemente mantenido dentro de este intervalo usando amortiguadores.

 Por consiguiente, en uno de sus aspectos de
15 composición, esta invención se dirige a formulaciones acuosas que consisten esencialmente de una sal de ácido desoxicólico a una concentración desde aproximadamente 0.4% en p/v a menos de aproximadamente 2% en p/v y opcionalmente una cantidad efectiva preservativa de alcohol bencílico en la cual las
20 formulaciones son estabilizadas contra la precipitación ajustando el pH de la solución clara inicialmente formada a un pH desde aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5. En otra modalidad, esta invención se dirige a una formulación acuosa que consiste esencialmente de una sal de ácido
25 desoxicólico a una concentración desde aproximadamente 0.5%

en p/v hasta aproximadamente 1% en p/v y opcionalmente una cantidad efectiva preservativa de alcohol bencílico en la cual las formulaciones son estabilizadas contra la precipitación ajustando el pH de la solución clara
5 inicialmente formada a un pH desde aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5.

En otra modalidad, esta invención se dirige a una formulación acuosa que consiste esencialmente de:

una solución acuosa estéril amortiguada a un pH de
10 aproximadamente 8.3;

aproximadamente 0.5% en p/v o aproximadamente 1% en p/v de una sal de ácido desoxicólico;

opcionalmente una cantidad efectiva preservativa de alcohol bencílico; y

15 aproximadamente 1% en p/v de cloruro de sodio,
en donde la composición es estable contra la precipitación.

También descrito en la presente está un método para estabilizar una composición acuosa de una sal de ácido
20 desoxicólico contra la precipitación durante el almacenamiento en donde la concentración de la sal de ácido desoxicólico es una cantidad efectiva para someter a lisis células grasas siempre que la cantidad de la sal de ácido desoxicólico varíe desde aproximadamente 0.4% en p/v a menos
25 de 2% en p/v, en el cual el método comprende:

formar una solución acuosa de una sal de ácido desoxicólico a un pH inicial arriba de su pKa;

ajustar el pH de la solución acuosa a un pH desde aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5; y

5 opcionalmente incluir una cantidad suficiente de buffer para mantener el pH a desde aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5.

También descrito en la presente está un método para someter a lisis una célula grasa que comprende administrar a
10 tal célula una composición de conformidad con esta invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 ilustra (mejoramiento 67 X) que una composición acuosa de agua y 0.9 % en p/v de alcohol
15 bencílico y sin desoxicolato de sodio contiene solamente un rastro de precipitado, el cual se presume es partículas de tubos de biopreno.

La Figura 2 ilustra (mejoramiento 67 X) que una composición acuosa de agua, 0.5 % en p/v de desoxicolato de
20 sodio y 0.9 % en p/v de alcohol bencílico contiene cantidades significantes de precipitado el cual se presume son cristales de desoxicolato.

La Figura 3 ilustra (mejoramiento 67 X) que una composición acuosa de agua, 1 % en p/v de desoxicolato de
25 sodio y 0.9 % en p/v de alcohol bencílico contiene cantidades

significantes de precipitado, aunque menos que aquella de 0.5 % en p/v de desoxicolato de sodio. Como anteriormente, el precipitado se presume es cristales de desoxicolato.

La Figura 4 ilustra (mejoramiento 67 X) que una
5 composición acuosa de agua, 2 % en p/v de desoxicolato de sodio y 0.9 % en p/v de alcohol bencílico contiene cantidades significantes de precipitado pero sustancialmente menos que aquellas observadas en las Figuras 2 y 3.

10

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Como se usa en la presente, ciertos términos tienen los siguientes significados definidos.

Todas las designaciones numéricas, por ejemplo, pH, temperatura, tiempo, concentración, y peso molecular, que
15 incluyen intervalos, son aproximaciones las cuales son variadas (+) o (-) por incrementos de 0.1. Se entiende, aunque no siempre se declara explícitamente que todas las designaciones numéricas son precedidas por el término "aproximadamente". El término "aproximadamente" también
20 incluye el valor exacto "X" en adición a incrementos menores de "X" tal como "X + 0.1" o "X - 0.1". También se entiende, aunque no siempre se declara explícitamente, que los reactivos descritos en la presente son meramente ejemplares y que equivalentes de tales se conocen en la técnica.

25

Como se usa en la presente, el término "que

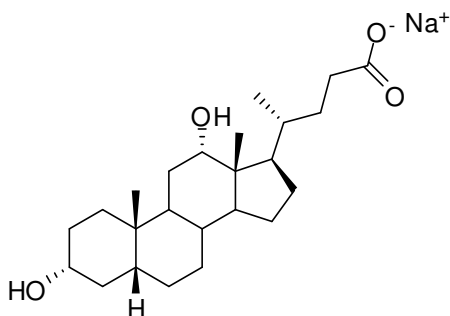
comprende" se entiende por significar que las composiciones y métodos incluyen los elementos mencionados, pero no excluye otros.

"Que consiste esencialmente de" cuando se usa para
5 definir composiciones y métodos, debe significar excluir cualquiera de los ingredientes activos. Un "ingrediente activo" es una sustancia propuesta para proporcionar actividad farmacológica u otro efecto directo en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento, o prevención de
10 enfermedad o para afectar la estructura o cualquier función del cuerpo humano. De este modo, por ejemplo, una composición que consiste esencialmente de los elementos como se define en la presente podría no excluir rastros de contaminantes a partir del método de aislamiento y purificación y portadores
15 farmacéuticamente aceptables, tales como salina amortiguada de fosfato, preservativos, y similares pero podría excluir enzimas tales como fosfatasas, y proteínas. Ejemplos no limitantes de tales proteínas son heparina, albúmina y similares.

20 "Consiste de" debe significar excluir más de microelementos de otros ingredientes y etapas de método sustancial para administrar las composiciones de esta invención. Modalidades definidas por cada uno de estos términos de transición están dentro del alcance de esta
25 invención.

Como se usa en la presente, el término “sal de ácido desoxicólico” o “una sal del mismo” se refiere a sales farmacéuticamente aceptables de (4R)-4-((3R,5R,10S,12S,13R,17R)-3,12-dihidroxi-10,13-dimetilhexadecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantren-17-il)pentanoato que tienen un metal alcali o un ión amonio como el catión. Sales de metal alcali preferidas son preferidas, con sales de sodio siendo más preferidas.

10



15

Desoxicolato de sodio o (4R)-4-((3R,5R,10S,12S,13R,17R)-3,12-dihidroxi-10,13-dimetilhexadecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantren-17-il)pentanoato de sodio pueden ser preparados de conformidad con los métodos descritos en el documento PCT/US2010/061150 titulado “Methods for the Purification of Deoxycholic Acid,” presentado el 17 de Diciembre de 2010.

Como se usa en la presente, el término “formulación farmacéutica acuosa” se refiere a una composición de un ácido desoxicólico o una sal del mismo en agua adecuada para administración a un paciente preferiblemente vía inyección

25

subcutánea de una jeringa.

Como se usa en la presente, el término “amortiguador” se refiere a una solución acuosa que comprende una mezcla de un ácido débil y su base conjugada o una base débil y su ácido conjugado. Un amortiguador tiene la propiedad de que el pH de la solución cambia muy poco cuando una pequeña cantidad de ácido o base se agrega a este. Soluciones amortiguadoras son usadas como un medio para mantener el pH a un valor casi constante en una amplia variedad de aplicaciones químicas. Ejemplos de amortiguadores adecuados incluyen amortiguadores de fosfato y aquellos conocidos en la literatura (véase, por ejemplo, Troy, D.B., ed. (2005) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins).

Como se usa en la presente, el término “base” se refiere a varios compuestos, moléculas o iones típicamente solubles en agua que en solución tienen un pH mayor de 7. Tales compuestos, moléculas o iones son capaces de tomar un protón de un ácido o son capaces de dar un par no compartido de electrones a un ácido. Ejemplos de bases adecuadas incluyen carbonatos y bicarbonatos de metal, por ejemplo carbonato de sodio, carbonato de calcio, carbonato de magnesio, carbonato de zinc, bicarbonato de sodio y similares; e hidróxidos de metal, por ejemplo hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, y similares, tales como aquellos

conocidos en la literatura (véase, por ejemplo, Troy, D.B., ed. (2005) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins).

Como se usa en la presente, el término “carbonatos
5 de metal” se refiere a la sal de metal de CO_3^{2-} . Por ejemplo, carbonato de sodio, carbonato de calcio, carbonato de magnesio, carbonato de zinc, y similares.

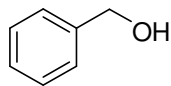
Como se usa en la presente, el término “bicarbonato
de metal” se refiere a la sal de metal de HCO_3^- . Por ejemplo,
10 bicarbonato de sodio, y similares.

Como se usa en la presente, el término “hidróxidos
de metal” se refiere a la sal de metal de ^-OH . Por ejemplo, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, y similares.

Como se usa en la presente, los términos “agua
15 estéril” o “agua para inyección” se refiere a una preparación no pirogénica, estéril de agua para inyección la cual no contiene bacteriostat, agente antimicrobiano o amortiguador agregado. En general, la concentración osmolar de aditivos
totales al menos 112 mOsm/litro (dos quintas partes de la
20 osmolaridad normal del fluido extracelular -280 mOsm/litro).

Como se usa en la presente, el término “alcohol

bencílico” se refiere al compuesto



Como se usa en la presente, el término
25 “precipitación” se refiere a la formación de un sólido en una

solución y es fácilmente diferenciado de la formación de gel.

Como se usa en la presente, el término "solución" se refiere a una mezcla sustancialmente homogénea que comprende dos o más sustancias disueltas en un solvente.

5 Como se usa en la presente, los términos "sustancialmente inhibe la precipitación" e "inhibe la precipitación" significa inhibir la mayoría o toda la precipitación visible para así mantener la homogeneidad por un periodo de tiempo que varía desde al menos 1 mes hasta al
10 menos 1 año.

 Como se usa en la presente, el término "desviación estándar relativa por homogeneidad" o " H_E " se refiere al valor obtenido dividiendo la desviación estándar de la homogeneidad por el valor absoluto de la media. Un H_E menor
15 de 10 indica muy buena homogeneidad.

Formulaciones

 Conocer acerca de la estabilidad química y física de una composición de fármaco en el medio deseado para
20 suministro es valioso. En el largo plazo, la estabilidad de la composición dictará la vida de anaquel del producto comercializado. Es preferible que el ingrediente activo en una composición farmacéutica esté a la concentración requerida cuando se administra a un paciente.

25 En la discusión abajo, el desoxicolato de sodio es

mencionado para propósitos ilustrativos solamente y se entiende que otras sales farmacéuticamente aceptables de ácido desoxicólico pueden ser usadas intercambiabilmente con la sal de sodio.

5 Los métodos clínicos actuales para la administración de un desoxicolato de sodio a un paciente para disolver la grasa incluyen la administración vía inyecciones subcutáneas de una baja concentración (es decir, <2% en p/v) de una solución acuosa de la sal de ácido desoxicólico donde
10 la cantidad de la sal de ácido desoxicólico es suficiente para someter a lisis células grasas (aproximadamente 0.4% en p/v y superior). A tales concentraciones, ya se ha mostrado que la baja concentración es benéfica para la remoción efectiva y segura de depósitos de grasa en el cuerpo. Sin
15 embargo, se ha observado que un precipitado forma tales concentraciones relativamente bajas de desoxicolato de sodio en medio acuoso. Esta precipitación resulta en una vida de anaquel limitada de soluciones acuosas de desoxicolato de sodio, aún a temperaturas frías (3-5 °C). En una modalidad,
20 la sal de sodio puede ser reemplazada por otra sal de metal alcali.

 Esta inestabilidad de soluciones acuosas de desoxicolato de sodio pueden ser eludidas por la preparación de una solución acuosa de desoxicolato de sodio a una
25 concentración de aproximadamente 5% hasta aproximadamente 16%

en p/v, y habiendo el practicante diluido la composición farmacéutica de la solución de desoxicolato de sodio solo antes del uso. Mientras este método de dilución es efectivo para permitir tanto estabilidad de almacenamiento como dosificación efectiva del paciente, no es ideal como un método para uso de rutina especialmente si una solución inyectable estéril de no más de aproximadamente 2 mL se requiere. Sin embargo, planes clínicos actuales incluyen hasta 50 inyecciones por sesión de tratamiento.

Se ha encontrado que formulaciones acuosas de desoxicolato de sodio a concentraciones que varían desde aproximadamente 0.4% en p/v a menos de aproximadamente 2% en p/v pueden ser estabilizadas ajustando el pH de la solución. Esta invención se dirige a una formulación acuosa que consiste esencialmente de una sal de ácido desoxicólico a una concentración que varían desde aproximadamente 0.4% en p/v a menos de aproximadamente 2% en p/v y opcionalmente un excipiente farmacéuticamente aceptable tal como una cantidad efectiva preservativa de alcohol bencílico y/o un amortiguador que ajusta el pH, en donde tal formulación se mantiene a un pH de aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5.

En otra modalidad, la formulación acuosa es liofilizada para proporcionar una composición estable la cual es fácil para ser reconstituida por adición de la cantidad

apropiada de agua. En esta modalidad, esta invención comprende composiciones liofilizadas como se describe anteriormente las cuales opcionalmente además contienen un auxiliar de liofilización.

5 En una modalidad, la formulación acuosa contiene aproximadamente 0.5% en p/v de una sal de ácido desoxicólico. En otra modalidad, la formulación acuosa contiene aproximadamente 1% en p/v de una sal de ácido desoxicólico.

 En una modalidad adicional, el agua empleada en la
10 formulación acuosa es agua estéril. En todavía una modalidad adicional, la cantidad efectiva preservativa de alcohol bencílico es aproximadamente 0.9% en p/v de alcohol bencílico y el pH de la formulación es aproximadamente 8.3. En una modalidad, tal sal es una sal de metal álcali. En otra
15 modalidad, tal sal es una sal de sodio.

 En una modalidad, las formulaciones farmacéuticas descritas en la presente son adecuadas para inyección en un humano. El método de inyección puede ser cualquier tipo de inyección, tal como inyección subcutánea, así como también
20 otras formas de inyección.

 En un aspecto preferido de esta invención, la precipitación de la sal de ácido desoxicólico en la formulación acuosa es inhibida por un periodo de al menos aproximadamente seis meses. En otro aspecto, la precipitación
25 es inhibida por un periodo de al menos aproximadamente un

año. En aún otro aspecto, la precipitación es inhibida por un periodo de al menos aproximadamente dos años.

Se contempla que cuando se almacenan a varias temperaturas, por ejemplo a temperaturas ambientes o frías, la formulación puede tener una vida de anaquel incrementada. En ciertas modalidades, la composición se almacena a una temperatura desde aproximadamente 17 °C hasta aproximadamente 27 °C. En algunas modalidades, la temperatura de la formulación se incrementa a una temperatura de aproximadamente 25 °C hasta aproximadamente 37 °C. En otras modalidades, la formulación se almacena a una temperatura desde aproximadamente 2 °C hasta aproximadamente 8 °C.

En ciertas modalidades, el pH de la formulación varía desde aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5. En una modalidad, el pH de la composición es aproximadamente 8.1, o alternativamente, aproximadamente 8.2, o alternativamente, aproximadamente 8.3, o alternativamente, aproximadamente 8.4, o alternativamente, aproximadamente 8.5. En una modalidad preferida, el pH de la formulación es aproximadamente 8.3.

En una modalidad, el pH se establece por el uso de una base. Se contempla que cualquier base puede ser usada para incrementar el pH de la composición siempre que no reaccione con el desoxicolato de sodio y no causará peligro al paciente. En algunas modalidades, la base se selecciona a

partir del grupo que consiste de carbonatos de metal, bicarbonato de metal, hidróxidos de metal, o una mezcla de los mismos. Ejemplos de bases incluyen, pero no se limitan a, una base seleccionada a partir del grupo que consiste de
5 carbonato de sodio, carbonato de calcio, carbonato de magnesio, carbonato de zinc, bicarbonato de sodio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio o una mezcla de los mismos. En una modalidad, la base es hidróxido de sodio.

En ciertos casos, el pH de la composición puede ser
10 mantenido al pH deseado durante el almacenamiento con el uso de un amortiguador. Se conocen varios amortiguadores en la técnica y se contempla que cualquier amortiguador que tiene capacidad amortiguadora al pH deseado puede ser usado en las formulaciones descritas en la presente. En una modalidad, el
15 amortiguador es un amortiguador de fosfato. La cantidad de fosfato en la composición puede ser determinada para proporcionar un pH deseado y concentración de sal. En una modalidad, la composición comprende aproximadamente 10 mM de amortiguador de fosfato. En una modalidad preferida, la
20 composición comprende aproximadamente 10 mM de amortiguador de fosfato de sodio dibásico.

En algunas modalidades, la composición comprende al menos un excipiente para ayudar a lograr una composición con propiedades deseadas, tal solubilidad, preservabilidad
25 incrementada o para proporcionar una solución isotónica.

Tales excipientes se conocen en la técnica. En una modalidad, la composición comprende aproximadamente 1% en p/v de cloruro de sodio. En otra modalidad, la composición comprende aproximadamente 0.9% en p/v de alcohol bencílico. En algunas
5 modalidades, la composición comprende aproximadamente 0.9% en p/v de alcohol bencílico y aproximadamente 1% en p/v de cloruro de sodio.

En algunas modalidades, el pH de la composición se establece por el uso de una base y opcionalmente mantenido
10 por el uso de un amortiguador.

En una modalidad preferida, esta invención proporciona una composición estabilizada que comprende:

un amortiguador de fosfato de un pH de aproximadamente 8.3;

15 aproximadamente 0.5% en p/v o aproximadamente 1% en p/v de desoxicolato de sodio;

una cantidad efectiva preservativa de alcohol bencílico; y

aproximadamente 1% en p/v de cloruro de sodio,

20 en donde la composición es estabilizada contra la precipitación.

En una modalidad adicional, el amortiguador de fosfato es 10 mM de amortiguador de fosfato de sodio dibásico.

25 En una modalidad, la cantidad efectiva preservativa

de alcohol bencílico es aproximadamente 0.9% en p/v.

Las formulaciones descritas en la presente comprenden desde aproximadamente 0.4% en p/v a menos de aproximadamente 2% en p/v de una sal de ácido desoxicólico en
5 agua mantenida a un pH suficiente para inhibir sustancialmente la precipitación de la sal de ácido desoxicólico. La cantidad de precipitación u homogeneidad de la composición puede ser medida usando varios métodos. Por ejemplo, puede ser medida cuantitativamente usando dispersión
10 de luz iluminando la composición con un espectrofotómetro o alternativamente, la homogeneidad puede ser medida cualitativamente observando la claridad visual de la solución a simple vista. En algunas modalidades, la composición tiene una desviación estándar relativa para homogeneidad de menos
15 de aproximadamente 5%. Alternativamente, la composición tiene una desviación estándar relativa para homogeneidad de menos de aproximadamente 4%, o alternativamente, aproximadamente 3%, o alternativamente, aproximadamente 2%, o alternativamente, aproximadamente 1%.

20 En otra modalidad, esta invención se dirige a una composición que consiste esencialmente de:

una solución acuosa estéril amortiguada a un pH de aproximadamente 8.3;

aproximadamente 0.5% en p/v o 1% en p/v de
25 desoxicolato de sodio;

aproximadamente 0.9% en p/v de alcohol bencílico; y
aproximadamente 1% en p/v de cloruro de sodio,
en donde la composición es estable contra la
precipitación.

5 En otra modalidad, esta invención se dirige a una
composición que consiste de:

una solución acuosa amortiguada a un pH de
aproximadamente 8.3;

aproximadamente 0.5% en p/v o aproximadamente 1% en
10 p/v de desoxicolato de sodio;

aproximadamente 0.9% en p/v de alcohol bencílico; y
aproximadamente 1% en p/v de cloruro de sodio,
en donde la composición es estable contra la
precipitación.

15 En algunas modalidades, las soluciones acuosas aquí
no incluyen lípidos, fosfolípidos, o fosfatidilcolina. En
algunas modalidades, las soluciones aquí incluyen hasta 5%
en p/p, p/v, o v/v de lípidos, específicamente fosfolípidos,
o más específicamente fosfatidilcolina. Preferiblemente, la
20 cantidad de lípidos usados es menos que aquella de
desoxicolato de sodio u otra sal de ácido desoxicólico.

En algunas modalidades, la composición farmacéutica
acuosa de la invención puede comprender además un segundo
agente terapéutico seleccionado del grupo que consiste de:
25 agentes anti-microbianos, vasoconstrictores, agentes anti-

trombóticos, agentes anti-coagulación, depresores de espumas, agentes anti-inflamatorios, analgésicos, agentes de dispersión, agentes anti-dispersión, intensificadores de la penetración, esteroides, tranquilizadores, relajantes musculares, y agentes anti-diarrea. En algunas modalidades, una solución está en un contenedor que contiene hasta 500 mL de solución. Tal contenedor puede ser una jeringa o un contenedor cargable con jeringa.

En algunas modalidades, las formulaciones además comprenden una molécula conocida por provocar que la grasa muera por un mecanismo ortogonal. Tales moléculas incluyen antagonistas del neuropéptido Y (NPY) que incluyen, pero no se limitan a, antagonistas del receptor NPY, tales como BIBP-3226 (Amgen), BIBO-3304 (Boehringer Ingelheim), BMS-192548 y AR-H040922 (Bristol-Myers Squibb), LY-357897 (Eli Lilly), 1229U91 y GW438014S (GlaxoSmithKline), JNJ-5207787 (Johnson & Johnson), Lu-AA-44608 (Lundbeck), MK-0557 (Merck NPY), NGD-95-1 (Neurgogen), NLX-E201 (Neurologix), CGP-71683 (Novartis), PD-160170 (Pfizer), SR-120819A, BIIE0246, y S.A.0204 (Sanofi Aventis), S-2367 (Shiongli), dihidropiridina y derivados de dihidropiridina que son antagonistas del receptor NPY, compuestos bicíclicos que son antagonistas del receptor NPY, antagonistas del receptor NPY carbazol, y compuestos tricíclicos que son antagonistas del receptor NPY (Véase, por ejemplo, documentos WO 2006/133160 y U.S.

6,313,128). También contemplados están péptidos pro-apoptóticos selectivos de la grasa tales como el péptido CKGGRAKDC que reside para vasculatura de grasa blanca (Véase, Kolonin M.G. *et al.*, *Nat. Med.*, 2004, 10(6): 625-32).

5 Otro aspecto de la invención se refiere a la mezcla de ácidos biliares adipo-ablativos, tales como, ácido desoxicólico (DCA) con agentes que eliminan células grasas. En un aspecto, esta invención contempla un medio para mejorar los efectos estéticos de inyecciones de desoxicolato
10 mezclando en el inyectado de desoxicolato una molécula que causa que la grasa muera por un mecanismo ortogonal. Ejemplos de tales moléculas candidatas incluyen, pero no se limitan a, antagonistas del neuropéptido Y (NPY) y péptidos pro-apoptóticos selectivos de la grasa. Puesto que la eliminación
15 de células grasas puede ser requerida para mediar los efectos deseados, los efectos de un agente con capacidad para eliminar la grasa pueden ser mejorados vía la adición de una molécula con efectos de eliminación de células grasas potentes. Adicionalmente, las moléculas que requieren acceso
20 a la vasculatura para eliminación (tal como ciertos péptidos proapoptóticos que se unen a proteínas expresadas en el lado luminal de capilares) pueden ganar acceso a estas proteínas debido a que el desoxicolato puede causar la fuga vascular. De este modo, tales agentes pueden ser sinérgicos con
25 desoxicolato creando potencialmente un medio más potente para

mediar el contorno corporal en algunas sesiones terapéuticas.

Ejemplos de antagonistas de NPY incluyen, pero no se limitan a, antagonistas del receptor NPY, tales como BIBP-3226 (Amgen), BIBO-3304 (Boehringer Ingelheim), BMS-192548 y
 5 AR-H040922 (Bristol-Myers Squibb), LY-357897 (Eli Lilly), 1229U91 y GW438014S (GlaxoSmithKline), JNJ-5207787 (Johnson & Johnson), Lu-AA-44608 (Lundbeck), MK-0557 (Merck NPY), NGD-95-1 (Neurgogen), NLX-E201 (Neurologix), CGP-71683 (Novartis), PD-160170 (Pfizer), SR-120819A, BIIE0246, y
 10 S.A.0204 (Sanofi Aventis), S-2367 (Shiongli), dihidropiridina y derivados de dihidropiridina que son antagonistas del receptor NPY, compuestos bicíclicos que son antagonistas del receptor NPY, antagonistas del receptor NPY, antagonistas del receptor NPY carbazol, y compuestos tricíclicos que son
 15 antagonistas del receptor NPY. Véase, por ejemplo, documentos WO 2006/133160 y U.S. 6,313,128.

Péptidos pro-apoptóticos selectivos de la grasa ejemplares, incluyen pero no se limitan a, péptido CKGGRAKDC que reside a la vasculatura de grasa blanca. Véase, Kolonin
 20 M.G. et al., Nat. Med. Junio 10(6):625-32 (2004).

El desoxicolato de sodio o (4R)-4-((3R,5R,10S,12S,13R,17R)-3,12-dihidroxi-10,13-dimetilhexadecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantren-17-il)pentanoato de sodio pueden ser preparados de conformidad
 25 con los métodos descritos en el documento PCT/US2010/061150

titulado "Methods for the Purification of Deoxycholic Acid," presentado el 17 de Diciembre de 2010. Otras sales de ácido desoxicólico pueden ser preparadas del mismo modo por el experto en la técnica.

5

Métodos

descritos en la presente están métodos para estabilizar una formulación acuosa de sal de ácido desoxicólico contra la precipitación durante el
10 almacenamiento en donde la concentración de o una sal del mismo es una cantidad efectiva para someter a lisis células grasas siempre que la cantidad de sal varíe desde aproximadamente 0.4% en p/v hasta aproximadamente menos de 2% en p/v, en el cual el método comprende:

15 formar una solución acuosa de la sal de ácido desoxicólico a un pH inicial arriba de su pKa;

ajustar el pH de la solución acuosa a un pH desde aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5; y

opcionalmente incluir una cantidad suficiente de
20 buffer para mantener el pH a desde aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5.

En un aspecto de esta invención, los métodos descritos en la presente sustancialmente estabilizan la formación de la sal de ácido desoxicólico contra la
25 precipitación durante un periodo de tiempo preferiblemente

por al menos aproximadamente seis meses. En otro aspecto, los métodos estabilizan la formación de la sal de ácido desoxicólico contra la precipitación por un periodo de al menos aproximadamente un año. En aún otro aspecto, los
5 métodos estabilizan la formación de la sal de ácido desoxicólico contra la precipitación por un periodo de al menos aproximadamente dos años.

Se ha encontrado que el pH de la solución puede inhibir la precipitación de ácido desoxicólico o una sal del mismo a concentraciones desde aproximadamente 0.4% en p/v a
10 menos de aproximadamente 2% en p/v en agua para permitir al ácido desoxicólico o una sal del mismo, ser mantenidas en solución. En una modalidad, el pH se establece por el uso de una base. Se contempla que cualquier base puede ser usada
15 para incrementar el pH de la composición siempre que no reaccione con ácido desoxicólico o una sal del mismo. En algunas modalidades, la base se selecciona a partir del grupo que consiste de carbonatos de metal, bicarbonato de metal, y hidróxidos de metal, o una mezcla de los mismos. Ejemplos de
20 bases incluyen, pero no se limitan a, una base seleccionada a partir del grupo que consiste de carbonato de sodio, carbonato de calcio, carbonato de magnesio, carbonato de zinc, bicarbonato de sodio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio o una mezcla de los mismos. En una modalidad, la base
25 es hidróxido de sodio.

En ciertas modalidades, el pH varía desde aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5. En una modalidad, el pH de la composición es aproximadamente 8.1, o alternativamente, aproximadamente 8.2, o alternativamente, aproximadamente 8.3, o alternativamente, aproximadamente 8.4, o alternativamente, aproximadamente 8.5. En una modalidad preferida, el pH de la solución acuosa es aproximadamente 8.3.

En ciertos casos, el pH de la composición puede necesitar ser mantenido con el uso de un amortiguador. Varios amortiguadores se conocen en la técnica y se contempla que cualquier amortiguador que tiene capacidad amortiguadora al pH deseado puede ser usado en las formulaciones descritas en la presente. En una modalidad, el amortiguador es un amortiguador de fosfato. La cantidad de fosfato requerida para proporcionar un pH y concentración de sal deseada puede ser calculada usando métodos bien conocidos en la técnica. En una modalidad, la composición comprende aproximadamente 10 mM de amortiguador de fosfato. En otra modalidad, el amortiguador de fosfato es 10 mM de amortiguador de fosfato de sodio dibásico.

En ciertos casos, el pH se establece por el uso de una base y opcionalmente mantenido por el uso de un amortiguador.

En una modalidad, los métodos descritos en la

presente proporcionan formulaciones las cuales son adecuadas para inyección en un humano. El método de inyección puede ser cualquier tipo de inyección, tal como inyección subcutánea, así como también otras formas de inyección. Por lo tanto, en algunas modalidades, la solución acuosa comprende agua estéril o agua para inyección (WFI).

En un aspecto, puede ser que uno o más excipientes sean usados para mantener la solubilidad, o incrementar la preservabilidad de la sal de ácido desoxicólico presente en la formulación. En una modalidad, el método comprende agregar aproximadamente 1% en p/v de alcohol bencílico. En algunas modalidades, la formulación también comprende al menos un excipiente ayudar a lograr una solución isotónica. Tales excipientes se conocen en la técnica. En una modalidad, el método comprende agregar aproximadamente 1% en p/v de cloruro de sodio. En algunas modalidades, el método comprende agregar tanto 1% en p/v de alcohol bencílico como 1% en p/v de cloruro de sodio. En algunas modalidades, el método comprende agregar tanto 0.9% en p/v de alcohol bencílico como 0.9% en p/v de cloruro de sodio. Usando los métodos descritos en la presente, una solución acuosa que comprende menos de aproximadamente 2% en p/v de sal de ácido desoxicólico se mantiene a un pH suficiente para inhibir sustancialmente la precipitación de la sal de ácido desoxicólico. La cantidad de precipitación u homogeneidad de la composición puede ser

medida usando varios métodos. Por ejemplo, puede ser medida cuantitativamente midiendo la dispersión de luz vía iluminación por un espectrofotómetro o alternativamente, la homogeneidad puede ser medida cualitativamente observando
5 simplemente la claridad visual de la solución a simple vista. En algunas modalidades, el método proporciona una composición farmacéutica que tiene una desviación estándar relativa para homogeneidad de menos de aproximadamente 5%. Alternativamente, la desviación estándar relativa para
10 homogeneidad de menos de aproximadamente 4%, o alternativamente, aproximadamente 3%, o alternativamente, aproximadamente 2%, o alternativamente, aproximadamente 1%.

La temperatura de almacenamiento puede ayudar a mantener la solubilidad de la sal de ácido desoxicólico en la
15 formulación. En ciertas modalidades, la temperatura de almacenamiento es desde aproximadamente 17 °C hasta aproximadamente 27 °C. En algunas modalidades, la temperatura de almacenamiento es aproximadamente 25 °C hasta aproximadamente 37 °C. En otras modalidades, la temperatura
20 de almacenamiento es desde aproximadamente 2 °C hasta aproximadamente 8 °C.

Se contempla que la concentración de la sal de ácido desoxicólico en la formulación es aproximadamente 0.5% en p/v, o alternativamente aproximadamente 0.7% en p/v, o
25 alternativamente aproximadamente 1% en p/v, o

alternativamente aproximadamente 1.2% en p/v, o
alternativamente aproximadamente 1.4% en p/v, o
alternativamente menos de aproximadamente 2% en p/v. En una
modalidad preferida, la sal de ácido desoxicólico es
5 desoxicolato de sodio. En otra modalidad preferida, la
composición comprende 0.5% en p/v de desoxicolato de sodio.
En otra modalidad preferida, la composición comprende 1% en
p/v of desoxicolato de sodio.

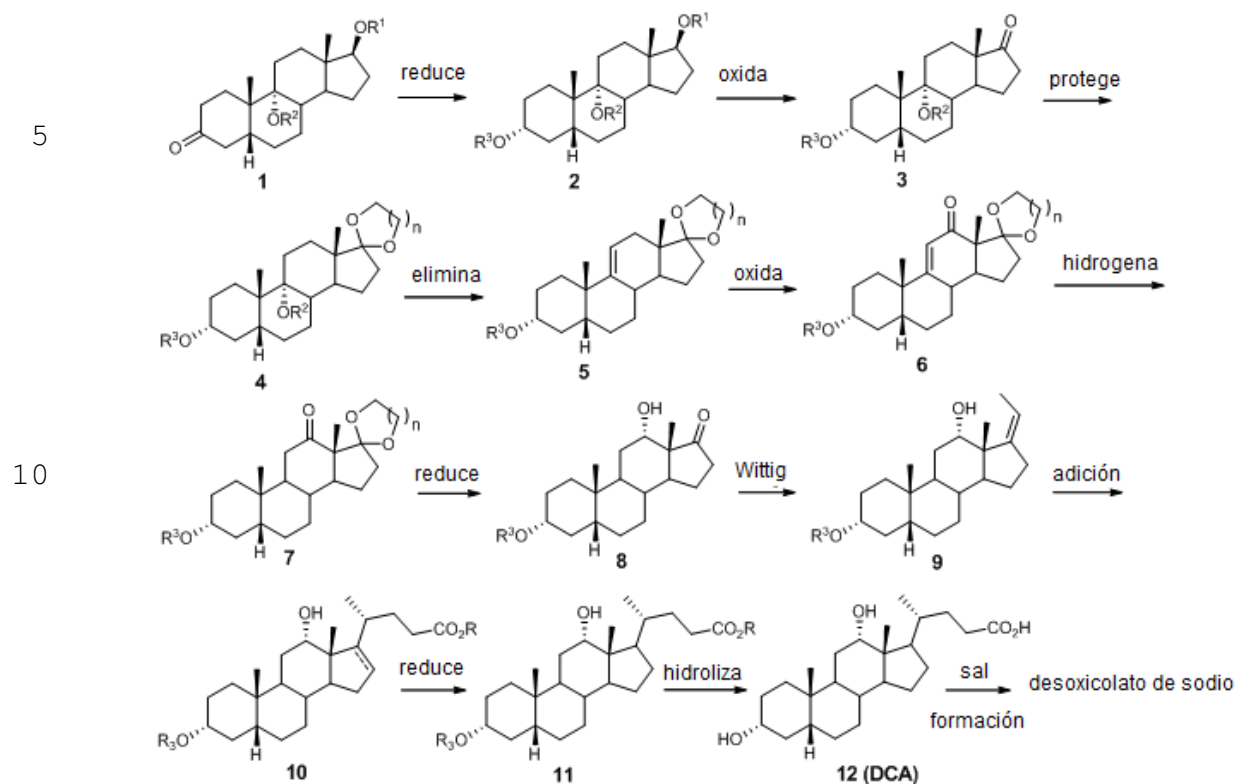
En una modalidad, la formulación acuosa es dividida
10 en una pluralidad de soluciones individuales las cuales son
separadamente administradas a las células grasas. Por
ejemplo, la formulación acuosa se divide en 5, 10, 15, 20, 25
o 30 soluciones separadas y, en algunos casos, hasta 50
soluciones separadas.

15 En una modalidad preferida, la sal de ácido
desoxicólico es desoxicolato de sodio. Como los métodos de
esta invención incluyen inyecciones subcutáneas, también se
proporciona una jeringa que comprende una cámara, un émbolo y
una aguja de inyección en donde la cámara comprende una
20 formulación de esta invención. Preferiblemente, la cámara es
suficiente para mantener al menos 2 mL y preferiblemente no
más de 4 mL de la formulación.

En otra modalidad, esta invención proporciona una
síntesis de DCA a partir de 9- α ,17- β -dihidroxi-5- α -androstan-
25 3-ona comercialmente disponible como se muestra en el esquema

de reacción 1 abajo.

Esquema de reacción 1: Síntesis de DCA



Los grupos 9- α ,17- β hidroxilo de 9- α ,17- β -dihidroxi-5- α -androstan-3-ona comercialmente disponibles son diferencialmente protegidos con grupos hidroxilo protectores los cuales pueden ser removidos bajo condiciones donde uno de los grupos hidroxilo es regenerado mientras el otro grupo hidroxilo permanece protegido. Tal protección diferencial es referida como protección ortogonal y usa reactivos y condiciones de reacción bien conocidos. En un ejemplo, un grupo hidroxilo es protegido como un grupo acetilo, mientras el otro grupo hidroxilo es protegido como un grupo bencilo.

Cada grupo puede ser selectivamente removido bajo condiciones de reacción que retienen el otro grupo protector hidroxilo intacto.

Se contempla que el grupo 9- α -hidroxilo
5 relativamente estéricamente protegido puede no necesitar ser protegido ya que las reacciones contempladas previo a la eliminación de tal grupo son probablemente inhibidas en esta posición debido al impedimento estérico. Independientemente, la protección de este grupo hidroxilo adecuadamente asegura
10 que el grupo permanece intacto hasta que se desea la eliminación del grupo hidroxilo vía deshidratación.

El grupo 3-ona de 9- α ,17- β -dihidroxi-5- α -androstan-3-ona ortogonalmente protegida, compuesto 1, se reduce con agente reductor convencional tal como borohidruro de sodio
15 para proporcionar el derivado 3- α -hidroxi el cual es entonces protegido con aún otro grupo protector ortogonal para proporcionar el compuesto 2.

El grupo protector hidroxilo en la posición 17 del compuesto 2 es entonces selectivamente removido y el grupo
20 hidroxilo así regenerado es entonces oxidado con un reactivo de oxidación adecuado tal como CrO_3 para proporcionar el derivado 17-ceto, compuesto 3. El grupo 17-ceto en el compuesto 3 es protegido como un cetel bajo condiciones de cetelización estándares tales como reacción con 1,2-
25 dihidroxietano o 1,3-dihidroxipropano para dar el compuesto 4

(el cual ilustra la formación cetel con el 1,2-dihidroxietano para propósitos ilustrativos solamente).

La desprotección del 9- α -hidroxilo como sea necesario es seguida por deshidratación de tal grupo
5 hidroxilo bajo condiciones tales como eliminación catalizada por ácido para proporcionar el derivado 9,10-insaturado, compuesto 5. La generación de un grupo 12-ceto es realizada por oxidación alílica del compuesto 5 con reactivos de oxidación tales como ácido crómico o TBHP (hidroperóxido de
10 terc-butilo) y NaOCl para proporcionar el compuesto 6. Véase, por ejemplo, Solicitud de Patente Estadounidense Serie No. 61/348,686. Alternativamente, la oxidación alílica se realiza usando aproximadamente 2 a 5 equivalentes de TBHP y aproximadamente 0.3 a 0.5 equivalentes de CuI como un
15 catalizador. La reacción se lleva a cabo en un solvente tal como acetonitrilo a 40 °C por aproximadamente 40-55 horas. La adición lenta en forma de porciones de TBHP resulta en una oxidación más eficiente. El producto formado contiene una mezcla del compuesto 6 y el alcohol alílico correspondiente.
20 La mezcla de producto es entonces oxidada con PCC para dar el compuesto 6.

La hidrogenación del compuesto 6 bajo condiciones estándares tales como 10% de Pd/C y H₂ proporciona el compuesto 7. La reducción del grupo 12-ceto en el compuesto 7
25 con reactivos tales como LiAl(OBu^t)₃H proporciona el derivado

12-hidroxi, compuesto 8. La olefinación del compuesto 8 bajo condiciones Wittig estándares tales como usando bromuro de etiltrifenilfosfonio en la presencia de una base tal como *terc*-butóxido de potasio proporciona el compuesto 9. La
5 adición de un acrilato de alquilo tal como metil acrilato en la presencia de un ácido Lewis proporciona el compuesto 10, en donde R es un grupo alquilo tal como metilo. La reducción del doble enlace en el compuesto 10 nuevamente procede bajo condiciones de hidrogenación estándar tales como Pd/C y H₂
10 para proporcionar el compuesto 11. La desprotección del 3-OR₃ seguida por hidrólisis con una base tal como LiOH proporciona DCA, el compuesto 12.

El compuesto 12 (DCA crudo) además se purificó con lavado de metanol y recrystalizó de etanol. Se diluyó con 2%
15 mol de MeOH en CH₂Cl₂ (25 vol) y calentó a 35-37 °C por 1 hora. La suspensión se dejó enfriar a 28-30 °C y filtró. La torta de filtro se lavó con CH₂Cl₂ (5 vol) y se secó bajo vacío a 40 °C para proporcionar DCA.

El DCA se disolvió en 10% de agua DI/ EtOH (12
20 vol), se filtró pulido sobre celite y se lavó con 10% de agua DI/ EtOH (3 vol). Lo filtrado de volumen 15 resultante se agregó a agua DI (30 vol) y se proporcionó una suspensión blanca delgada. La suspensión se mantuvo por 24 horas, se filtró, lavó con agua DI (20 vol) y se secó bajo vacío a 40
25 °C para proporcionar DCA.

La conversión de DCA a una sal farmacéuticamente aceptable tal como desoxicolato de sodio procedes vía condiciones convencionales. Alternativamente, la conversión de una sal farmacéuticamente aceptable de DCA tal como desoxicolato de sodio a DCA también procede vía condiciones convencionales.

En otra modalidad, esta invención proporciona una formulación estabilizada que comprende:

una solución acuosa amortiguada que tiene un pH de aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5 y que comprende además aproximadamente 0.5% de desoxicolato de sodio y aproximadamente 0.9% de alcohol bencílico,

en donde la formulación es estabilizada contra la precipitación, y el desoxicolato de sodio se prepara de conformidad con el esquema de reacción 1.

En otra modalidad, esta invención proporciona una formulación estabilizada que comprende:

una solución acuosa amortiguada que tiene un pH de aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5 y que comprende además aproximadamente 1% de desoxicolato de sodio y aproximadamente 0.9% de alcohol bencílico,

en donde la formulación es estabilizada contra la precipitación, y el desoxicolato de sodio se prepara de conformidad con el esquema de reacción 1.

Ejemplos

En los ejemplos y en otra parte en la especificación las abreviaturas tienen los siguientes significados:

5	Mg	=	Miligramo
	mL	=	Mililitro
	Mm	=	Milímetro
	mM	=	Milimolar
	T	=	Tiempo
10	UV	=	Ultravioleta
	v/v	=	Volumen/Volumen
	w/v	=	Peso/Volumen (g/mL)
	p/p	=	Peso/Peso
	WFI	=	Agua para Inyección
15	mOsm	=	Miliosmole

La invención es además entendida por referencia a los siguientes ejemplos, los cuales están propuestos para ser puramente ejemplares de la invención.

20 Ejemplo 1

Concentración dependiente de la precipitación a partir de una solución de desoxicolato de sodio

Soluciones de desoxicolato de sodio a diferente concentración se evaluaron para formación de precipitado
 25 después de 1 semana de almacenamiento. Los resultados son

representados en las Figuras 1-4, y demuestran que a aproximadamente 0.5% y a aproximadamente 1 % (p/v) la concentración de desoxicolato de sodio en una solución acuosa que contienen solamente agua y 0.9 % en p/v de alcohol bencílico, una cantidad significativa de precipitado se forma de manera que podría inhibir el uso de la solución como una composición para inyecciones subcutáneas. Por inspección visual de las Figuras 1-4, la cantidad de precipitación puede ser clasificada como se tabula abajo.

10

Tabla 1

% en p/v de desoxicolato de sodio	Clasificación de precipitación	Comentario
0	1	Precipitación sustancialmente invisible a simple vista
0.5	10	Cantidades significantes de precipitado visible a simple vista
1.0	7	Cantidades significantes de precipitado visible a simple vista pero menos de aquella para 0.5% en p/v
2.0	2	Precipitación visible a simple vista pero presente en cantidades sustancialmente menores comparadas con las soluciones al 0.5 y 1% anteriores

15

20

La clasificación de precipitación estima que "0" se refiere a solución clara y que "10" se refiere a una mezcla que presenta precipitación sustancial fácilmente visible a simple vista.

Tal operación demuestra que en los rangos de concentración probados, el fenómeno de precipitación fue

25

sustancialmente afectado por la concentración de desoxicolato. Para evaluar el efecto del pH en la precipitación, los pH de las soluciones fueron medidos, como se proporciona en la Tabla 2, lo cual demuestra que los pH de las soluciones fueron sustancialmente los mismos, especialmente para el 1% y el 2% de las soluciones. La solubilidad acuosa inversa de desoxicolato de sodio, donde una solución más diluta (0.5% o 1%) proporciona más precipitación que una solución más concentrada (2%), es una observación sorprendente y también pone en evidencia que el fenómeno de precipitación no está directamente relacionado con el pH, debido a que los pH de las soluciones fueron sustancialmente los mismos nuevamente, especialmente para las soluciones de 1% y 2%.

15

Tabla 2

20

% en p/v de desoxicolato de sodio	Lectura #	Temperatura/ °C	pH
0	1	24.0	7.75
0	2	24.1	7.58
0.5	1	24.7	7.77
0.5	2	24.5	7.71
1	1	24.6	7.93
1	2	24.5	7.97
2	1	24.9	8.07
2	2	24.7	8.06

25

Por consiguiente, esta invención proporciona que la precipitación sorprendente a partir del diluto, 0.4% a menos de 2% (p/v), las soluciones de sal de ácido desoxicólico son inhibidas, en la magnitud de que tales soluciones son útiles para inyecciones subcutáneas, incrementando el pH de la solución.

Ejemplo 2

Formulaciones de desoxicolato de sodio (API) con y sin alcohol bencílico

1. Se preparó una composición de desoxicolato de sodio (0.5% y 1%) que comprende fosfato de sodio (10 mM), cloruro de sodio (75-90 mM), alcohol bencílico (0.9%), ácido desoxicólico, pH 8.3.

2. Se preparó una composición isotónica de desoxicolato de sodio sin alcohol bencílico usando la forma de ácido libre, es decir, ácido desoxicólico, como sigue.

a. Preparación de lotes isotónicos de 100 mL a 10 mg/mL

1.0 g del ácido desoxicólico (DCA) agregado a la solución solamente después que se hizo una solución básica con 70 mL de agua, 142 mg de fosfato de sodio dibásico anhidro y 267 µL de NaOH 10 M. Se tomó aproximadamente 20 minutos para que el API entrara en solución. El pH de la

solución fue 11.1. La adición rápida de HCl se conoce por provocar alguna precipitación, así 225 μ L de HCl 1M se agregó lentamente para llevar la solución a pH 8.3. La solución se dejó mezclar por unos 15 minutos adicionales. Después de
5 llevar el volumen hasta 100 mL con agua, la osmolalidad se encontró por ser 51 mOsm. La adición de 859 mg de NaCl llevó la osmolalidad hasta 305 mOsm.

La solución así preparada podría opcionalmente ser liofilizada para proporcionar un producto liofilizado el cual
10 podría ser reconstituido por adición de la cantidad apropiada de agua estéril. Por consiguiente, esta invención también proporciona productos liofilizados de las soluciones descritas en la presente.

15 **b. Preparación de lotes isotónicos de 1000 mL a 10 mg/mL**

Los resultados de la sección a (anterior) no se escalaron perfectamente cuando se multiplicaron diez veces. A 900 mL de agua, se agregaron 1.4g de fosfato de sodio
20 dibásico anhidro, 8.6 g de NaCl, y 2.7 mL de NaOH 10M. Se agregaron entonces 10.0 g de DCA y se dejaron mezclar para clarificar por 30 minutos. El pH de la solución fue 10.4. Se agregaron lentamente 1.5 mL de HCl 1M y se dejaron mezclar por 5 minutos. El pH final fue 8.1. Un adicional de 20 μ L de
25 NaOH 10M tiene que ser agregado para llevar el pH a 8.3.

Después de llevar el volumen hasta 1000 mL con agua, la osmolalidad fue 314 mOsm.

Basados en las observaciones del cambio de pH durante la adición de HCl 1M, se determinó que para lotes de 1000 mL a 10 mg/mL de API, solo 1.0 mL de HCl 1M deben ser inmediatamente agregados y después lentamente titulados con volúmenes pequeños del ácido. El orden sugerido de adición para 1000 mL de 10 mg/mL de API se resume en la Tabla 3.

10 **c. Preparación de lotes isotónicos de 100 mL a 5 mg/mL**

Se agregaron 0.50 g de ácido desoxicólico (DCA) a la solución solamente después que se hizo una solución básica con 70 mL agua, 142 mg de fosfato de sodio dibásico anhidro y 134 µL de NaOH 10 M. Se tomó aproximadamente 20 minutos para que el API entrara en solución. El pH fue 10.7. La adición rápida de HCl se conoce por provocar alguna precipitación, así 115 µL de HCl 1 M fueron lentamente agregados para llevar la solución a pH 8.3. La solución se dejó mezclar por unos 15 minutos adicionales. Después de llevar el volumen hasta 100 mL con agua, la osmolalidad se encontró por ser 39 mOsm. La adición de 859 mg de NaCl llevó la osmolalidad hasta 294 mOsm.

d. Preparación de lotes isotónicos de 1000 mL a 5 mg/mL

Los resultados de la sección c (anterior) no se escalaron perfectamente cuando se multiplicaron diez veces. A 5 900 mL de agua, se agregaron 1.4g de fosfato de sodio dibásico anhidro, 8.6 g de NaCl, y 1.3 mL de NaOH 10M. 5.0 g de DCA se agregaron entonces y se dejaron mezclar para clarificación por 30 minutos. El pH fue 8.6. Después de agregar solo 350 μ L de HCl 1M, el pH cayó a 8.0. Un adicional 10 de 25 μ L de NaOH 10M tiene que ser agregado para llevar el pH a 8.4. Después de llevar el volumen hasta 1000 mL con agua, la osmolalidad fue 305 mOsm. Basados en las observaciones del cambio de pH durante la adición de HCl 1M, se determinó que para lotes de 1000 mL a 5 mg/mL de API, que la solución debe 15 ser lentamente titulada con volúmenes pequeños de HCl 1M. El orden sugerido de adición para 1000 mL de 5 mg/mL se resume en la Tabla 3.

Tabla 3. El orden de adición (izquierda a derecho) para formulación libre de alcohol bencílico de 1000 mL isotónica

Concentración API	Fosfato de sodio anhidro dibásico	NaOH 1M	DCA	NaCl	HCl 1M	pH
10 mg/mL	1.4 g	2.7 mL	10.0g	8.6 g	1.0 mL + adición incrementada a pH final	8.3
5 mg/mL	1.4 g	1.3 mL	5.0 g	8.6 g	adición incrementada a pH final	8.3

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes.

5 1. Una composición acuosa estable de precipitación caracterizada porque consiste esencialmente desde aproximadamente 0.4% en p/v a menos de aproximadamente 2% en p/v de una sal de ácido desoxicólico y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en donde tal composición se
10 mantiene a un pH de aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5.

 2. La composición de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque tal sal de ácido desoxicólico está presente en una cantidad desde
15 aproximadamente 0.5% en p/v hasta aproximadamente 1% en p/v.

 3. La composición de conformidad con la reivindicación 1 o reivindicación 2, caracterizada porque tal sal de ácido desoxicólico está presente en una cantidad de aproximadamente 0.5% en p/v.

20 4. La composición de conformidad con la reivindicación 1 o reivindicación 2, caracterizada porque tal sal de ácido desoxicólico está presente en una cantidad de aproximadamente 1% en p/v.

 5. La composición de conformidad con cualquiera
25 de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada porque tal

excipiente es un solvente, un amortiguador, un preservativo, un auxiliar de liofilización, o cualquier combinación del mismo.

6. La composición de conformidad con la reivindicación 5, caracterizada porque tal excipiente es un solvente, tal como agua estéril.

7. La composición de conformidad con la reivindicación 5, caracterizada porque tal excipiente es un preservativo, tal como alcohol bencílico.

8. La composición de conformidad con la reivindicación 7, caracterizada porque tal preservativo es 0.9% de alcohol bencílico.

9. La composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizada porque tal composición tiene un pH de aproximadamente 8.3.

10. La composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizada porque tal sal es una sal de metal álcali.

11. La composición de conformidad con la reivindicación 10, caracterizada porque tal sal de metal álcali es sodio.

12. Una composición acuosa estable de precipitación caracterizada porque consiste esencialmente de:

una solución acuosa estéril amortiguada a un pH de aproximadamente 8.3;

aproximadamente 0.5% en p/v de desoxicolato de sodio;

aproximadamente 0.9% en p/v de alcohol bencílico; y
aproximadamente 1% en p/v de cloruro de sodio.

5 13. Una composición acuosa estable de
precipitación caracterizada porque consiste esencialmente de:
una solución acuosa amortiguada a un pH de
aproximadamente 8.3;

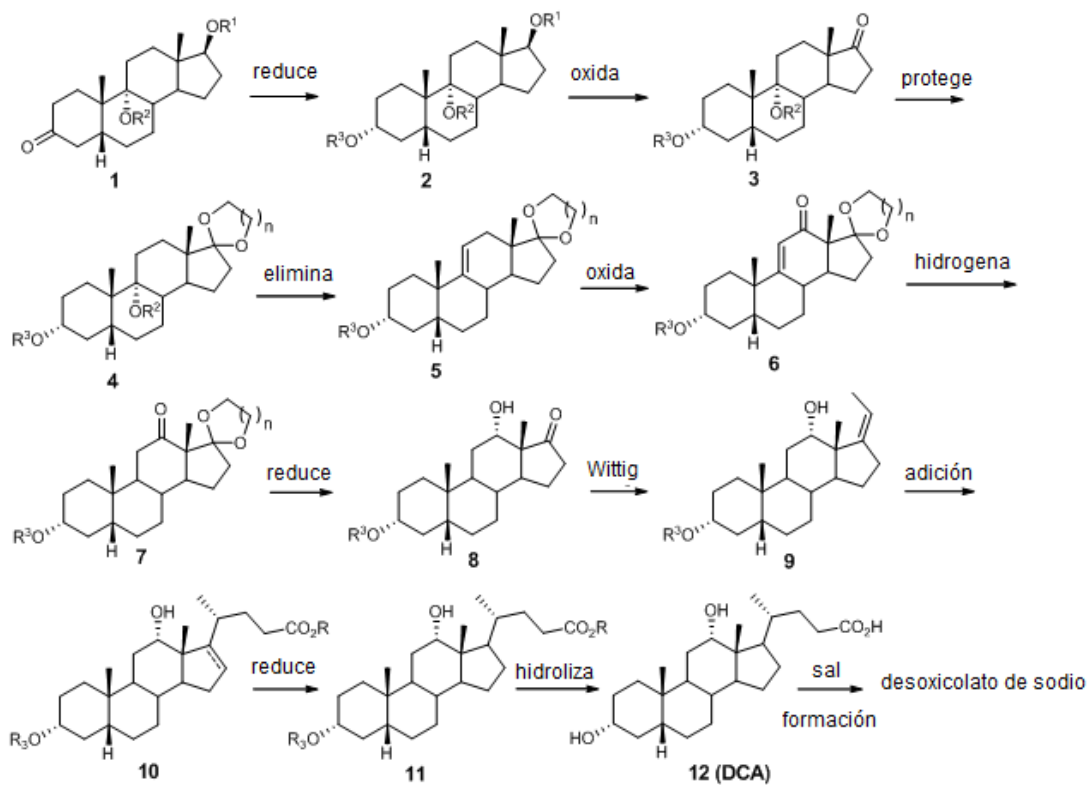
aproximadamente 1% en p/v de desoxicolato de sodio;
10 aproximadamente 0.9% en p/v de alcohol bencílico; y
aproximadamente 1% en p/v de cloruro de sodio.

14. La composición de conformidad con cualquiera
de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada porque el ácido
desoxicólico es sintetizado de conformidad con el siguiente
15 esquema de reacción:

20

25

5



10

15

15. Un método para someter a lisis una célula grasa caracterizado porque comprende administrar a tal célula una composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica acuosa que comprende desde aproximadamente 0.4% en p/v a menos de aproximadamente 2% en p/v de una sal de ácido desoxicólico, en donde la composición se mantiene a un pH desde aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5 de manera que la composición es estabilizada contra la precipitación. También descritos en la presente, están métodos para estabilizar una composición farmacéutica acuosa que comprende desde aproximadamente 0.4% en p/v a menos de aproximadamente 2% en p/v de una sal de ácido desoxicólico contra la precipitación, tal método comprende mantener el pH de la solución desde aproximadamente 8.1 hasta aproximadamente 8.5.

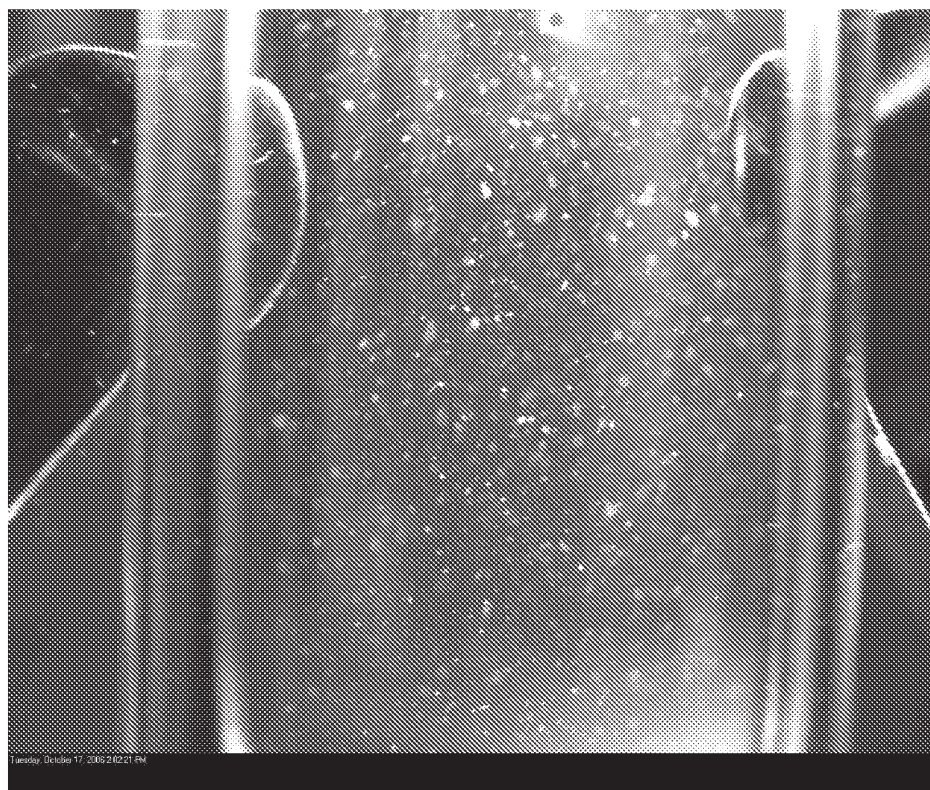
1/4

Fig. 1



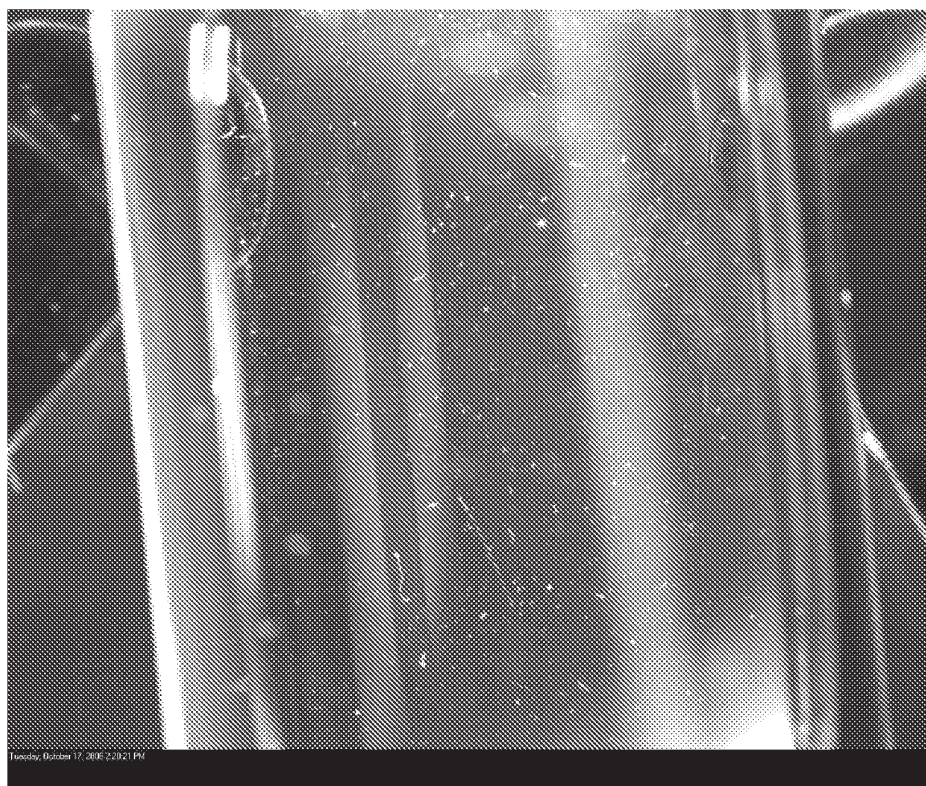
2/4

Fig. 2



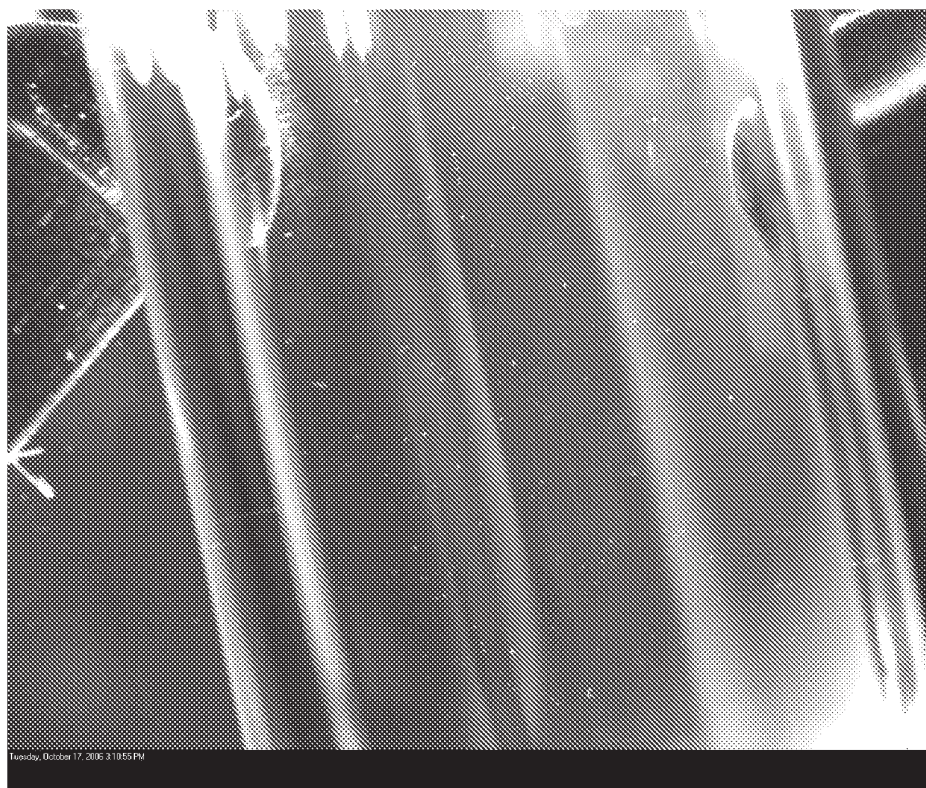
3/4

Fig. 3



4/4

Fig. 4



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 069611-0762	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2011/048806	International filing date (<i>day/month/year</i>) 23/08/2011	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>)
Applicant KYTHERA BIOPHARMACEUTICALS, INC.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
- ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
- ☐ as suggested by the applicant
- ☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
- ☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2011/048806A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K9/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 417 179 B1 (BURKHART CRAIG G [US] ET AL) 9 July 2002 (2002-07-09) paragraph [0017] - paragraph [0029]; examples 1,2 ----- -/--	1-6, 9-11,14



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 May 2012

Date of mailing of the international search report

01/06/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kling, Isabelle

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2011/048806

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ADAM M ROTUNDA ET AL: "Randomized double-blind clinical trial of subcutaneously injected deoxycholate versus a phosphatidylcholine-deoxycholate combination for the reduction of submental fat", DERMATOLOGIC SURGERY, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING, INC, NEW YORK, US, vol. 35, no. 5, 1 May 2009 (2009-05-01), pages 792-803, XP002661529, ISSN: 1076-0512, DOI: 10.1111/J.1524-4725.2009.01130.X [retrieved on 2009-04-06] the whole document	1-15
X	"Kythera Biopharmaceuticals: Evaluation of safety and efficacy of ATX-101 in the reduction of submental fat", INTERNET CITATION, 21 March 2011 (2011-03-21), pages 1-6, XP002661530, Retrieved from the Internet: URL:http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01305577 [retrieved on 2011-10-18] the whole document	1-15
X	FDA NEWS RELEASE: "FDA news release: FDA issues warning letters fro drugs promoted in fat elimination procedure", INTERNET CITATION, 7 April 2010 (2010-04-07), pages 1-2, XP002661531, Retrieved from the Internet: URL:http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm207453.htm [retrieved on 2011-10-18] the whole document	15
X	US 2005/261258 A1 (KOLODNEY MICHAEL S [US] ET AL) 24 November 2005 (2005-11-24) cited in the application claims 1-16; examples 1-4	1-15
X	US 2006/127468 A1 (KOLODNEY MICHAEL S [US] ET AL) 15 June 2006 (2006-06-15) cited in the application column 67 - column 80; examples 4-8	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/048806

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6417179	B1	09-07-2002	US 6417179 B1 09-07-2002
			US 6524602 B1 25-02-2003

US 2005261258	A1	24-11-2005	AT 518565 T 15-08-2011
			AT 521355 T 15-09-2011
			AU 2005245002 A1 01-12-2005
			CA 2567298 A1 01-12-2005
			CN 101018553 A 15-08-2007
			DK 1748780 T3 21-11-2011
			DK 1758590 T3 21-11-2011
			EP 1748780 A1 07-02-2007
			EP 1758590 A1 07-03-2007
			EP 2380576 A2 26-10-2011
			EP 2422789 A1 29-02-2012
			ES 2372416 T3 19-01-2012
			ES 2372499 T3 20-01-2012
			IL 179008 A 30-12-2010
			JP 2007538104 A 27-12-2007
			KR 20070024527 A 02-03-2007
			NZ 551000 A 29-10-2010
			PT 1748780 E 10-11-2011
			PT 1758590 E 15-11-2011
			SI 1748780 T1 29-02-2012
			SI 1758590 T1 30-03-2012
			US 2005261258 A1 24-11-2005
			US 2006154906 A1 13-07-2006
			US 2010048527 A1 25-02-2010
			WO 2005112942 A1 01-12-2005
			WO 2005117900 A1 15-12-2005

US 2006127468	A1	15-06-2006	US 2006127468 A1 15-06-2006
			US 2010292650 A1 18-11-2010
