

FORMULACIÓN FARMACÉUTICA DE ODEVIXIBAT

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

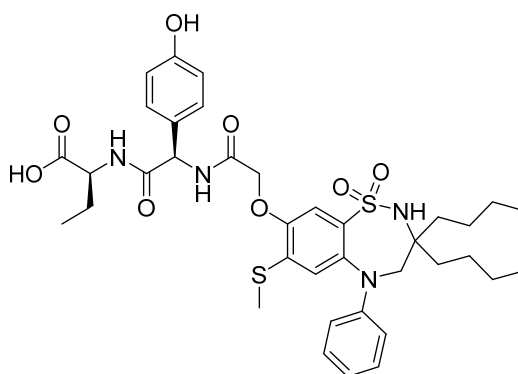
Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud sueca No. 1850761-6, presentada el 20 de junio de 2018, y de la solicitud sueca No. 1850762-4, presentada el 20 de junio de 2018, cuyas descripciones se incorporan en este documento como referencia en su totalidad.

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

La invención se refiere a una formulación farmacéutica, por ejemplo, una formulación pediátrica de odevixibat, que comprende una pluralidad de pequeñas partículas. La formulación puede usarse en el tratamiento de enfermedades hepáticas, tales como enfermedades hepáticas dependientes de ácidos biliares, y particularmente enfermedades hepáticas colestásicas tales como atresia biliar, colestasis intrahepática familiar progresiva (PFIC), síndrome de Alagille (ALGS) y prurito colestático pediátrico. La invención también se refiere a un proceso para la preparación de la formulación farmacéutica.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El compuesto 1,1-dioxo-3,3-dibutil-5-fenil-7-metiltio-8-(N-((R)-α-[N-((S)-1-carboxipropil)carbamoil]-4-hidroxibencil} carbamoilmetoxi)-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina(odevixibat; también conocido como A4250) se describe en WO 03/022286. La estructura de odevixibat se muestra a continuación.



Como inhibidor del mecanismo de transporte de ácidos biliares ileales (IBAT), odevixibat inhibe la reabsorción natural de ácidos biliares desde el íleon hacia la circulación portal hepática. Los ácidos biliares que no se reabsorben del íleon se excretan en las heces. La eliminación total de ácidos biliares de la circulación enterohepática conduce a una disminución del nivel de ácidos biliares en suero e hígado. El odevixibat, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es por lo tanto útil en el tratamiento de enfermedades hepáticas que están asociadas con niveles elevados de ácidos biliares, y particularmente en el tratamiento de enfermedades hepáticas colestásicas pediátricas raras.

El odevixibat exhibe una alta potencia y debe administrarse en dosis bajas, que oscilan entre aproximadamente 40 y aproximadamente 120 µg/kg. Esto corresponde a dosis tan bajas como 200 a 800 µg en el tratamiento de pacientes pediátricos que pesan entre 5 y 20 kg (por ejemplo, bebés y niños pequeños). Es deseable que se pueda administrar una formulación de odevixibat a pacientes jóvenes en una forma de dosificación que tenga un tamaño pequeño. Además, es deseable que dicha formulación tenga una buena palatabilidad, no se perciba como arenosa y sea bien tolerada por bebés y niños pequeños.

Los multiparticulados se pueden administrar a los bebés desde el nacimiento si se administran con un líquido. Para los niños de aproximadamente 6 meses en adelante (es decir, después del destete), las multipartículas se pueden administrar en su forma sólida directamente en la boca o mezcladas con alimentos semisólidos. Se ha informado que el tamaño, la forma, la textura, la dureza, el sabor y el volumen de la dosis de las partículas (es decir, el número de partículas) son importantes para la aceptabilidad de las multipartículas por parte de lactantes y niños (Kozarewicz, *Int. J. Pharm.* 2014, vol. 469, pp 245-248). Se han realizado varias revisiones de la literatura sobre la aceptabilidad de diferentes formas de dosificación oral en pacientes pediátricos y adultos mayores (ver por ejemplo, Liu, et al., *Drugs* 2014, vol. 74, pp. 1871-1889; Drumond et al., *Int. J. Pharm.* 2017, vol. 521, pp. 294-305; Mistry et al., *J. Pharm. Pharmacol.* 2017, vol. 69, pp. 361-376; Walsh et al., *Int. J. Pharm.* 2017, vol. 536, pp. 547-562), pero el tamaño y/o el volumen de dosis (cantidad) de multipartículas investigadas no siempre se han informado en estas revisiones.

La percepción de la arenilla puede verse influenciada por una variedad de factores, incluido el tamaño de partícula, la cantidad y el vehículo de dosificación (ver Mishra et al., *Yakugaku Zasshi* 2009, vol. 129, pp. 1537-1544; Lopez et al., *Eur. J. Pharm. Sci.* 2016, vol. 92, pp. 156-162) así como la dureza y forma de las partículas (Tyle, *Acta Psychologica* 1993, vol. 84, pp. 111-118), con partículas irregulares que se perciben como más grandes que las partículas redondas (esféricas) del mismo tamaño (Engelen et al., *J. Text. Studies* 2005, vol. 36, pp. 373-386). Los estudios de percepción de arenilla han demostrado que las puntuaciones de arenilla pueden aumentar al aumentar el tamaño y la dosis de las multipartículas, mientras que las puntuaciones de arenilla pueden disminuir al aumentar la viscosidad del vehículo (Lopez et al., *Eur. J. Pharm. Sci.* 2016, vol. 92, pp. 156-162).

Las cápsulas pueden ser aceptables para niños a partir de los 6 años aproximadamente. La capacidad de tragar las cápsulas puede depender de las dimensiones de la forma de dosificación (es decir, el tamaño) y la capacidad del niño. El tamaño, la forma, el sabor y el regusto son atributos importantes de la cápsula que pueden influir en la aceptabilidad del paciente (Kozarewicz, *Int. J. Pharm.* 2014, vol. 469, pp 245-248). En algunas modalidades, el tamaño de las cápsulas se mantiene lo más pequeño posible y el número de cápsulas

necesarias por dosis se mantiene al mínimo, por ejemplo, no más de 1-3 cápsulas.

En vista de lo anterior, existe la necesidad de una formulación de odevixibat que pueda administrarse fácilmente en pequeñas dosis adaptadas al peso de los pacientes. En algunas modalidades, la formulación debe ser adecuada para el tratamiento de pacientes muy jóvenes, debe ser fácil de tragar y no debe percibirse como arenosa.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra el difractograma de rayos X en polvo de la modificación 1 de cristal seco.

La Figura 2 muestra el difractograma de rayos X en polvo de una muestra sobrehidratada de modificación de cristal 1.

La Figura 3 muestra el secado de la modificación de cristal 1, con el difractograma de rayos X en polvo de una muestra sobrehidratada de la modificación de cristal 1 en la parte inferior y de una muestra seca en la parte superior (rango 2θ 5 - 13 °).

La Figura 4 muestra el secado de la modificación de cristal 1, con el difractograma de rayos X en polvo de una muestra sobrehidratada de la modificación de cristal 1 en la parte inferior y de una muestra seca en la parte superior (rango 2θ 18 - 25 °).

La Figura 5 muestra el difractograma de rayos X en polvo de la modificación de cristal 2A, obtenido a partir de una mezcla de etanol y agua (70:30% v/v).

La Figura 6 muestra el rastro de DSC de una muestra de odevixibat con aproximadamente 50% de fracción cristalina (después de precalentar y enfriar).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

En este documento se proporciona una formulación multiparticulada que contiene dosis bajas de odevixibat. En algunas modalidades, la formulación es una formulación pediátrica. En algunas modalidades, la formulación permite una dosificación basada en el peso y se puede rociar sobre los alimentos. La formulación se puede diseñar para que tenga una buena palatabilidad, con un equilibrio óptimo entre el tamaño de partícula y el volumen de dosis.

En un primer aspecto, la invención se refiere a una formulación farmacéutica de odevixibat, que comprende una pluralidad de partículas, en donde cada partícula contiene odevixibat, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una cantidad de aproximadamente 0.1% p/p a aproximadamente 5.0% p/p basado en el peso total de la partícula.

Debido a las bajas dosis en las que se va a administrar odevixibat, y además debido a la forma multiparticulada de la aplicación, cada partícula de la formulación contiene solo una cantidad muy baja del ingrediente activo. Por ejemplo, la cantidad de odevixibat, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en cada partícula puede ser de aproximadamente 0.2% p/p a aproximadamente 3.5% p/p, preferiblemente de aproximadamente 0.3% p/p a aproximadamente 3.0% p/p, más preferiblemente de aproximadamente 0.4% p/p a aproximadamente 2.5% p/p, y lo más preferiblemente de aproximadamente 0.5% p/p a

aproximadamente 2.0% p/p basado en el peso total de la partícula. En una modalidad preferida, cada partícula contiene odevixibat, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una cantidad de aproximadamente 0.5% p/p basado en el peso total de la partícula. En otra modalidad preferida, cada partícula contiene odevixibat, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una cantidad de aproximadamente 1.0% p/p basado en el peso total de la partícula. En aún otra modalidad preferida, cada partícula contiene odevixibat, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una cantidad de aproximadamente 1.5% p/p basado en el peso total de la partícula.

Como se usa en este documento, el término "partículas" se refiere a partículas pequeñas que varían en tamaño de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 1.5 mm. Preferiblemente, tales partículas son esencialmente esféricas, aunque también podrían usarse partículas alargadas u oblongas. Las partículas pueden por ejemplo, ser peletizados, perlas, micropartículas, microesferas, gránulos o minicomprimidos y, opcionalmente, pueden recubrirse con una o más capas de recubrimiento que rodeen cada uno de dichos peletizados, perlas, micropartículas, microesferas, gránulos o minicomprimidos.

En algunas modalidades, las partículas de la formulación son lo suficientemente pequeñas como para esparcirlas sobre los alimentos y tragarlas fácilmente. En algunas modalidades, las partículas se pueden tragar sin causar una percepción de arenilla. En algunas modalidades, las partículas no le dan al paciente la necesidad de masticarlas. Por lo tanto, las partículas tienen preferiblemente un tamaño de entre aproximadamente 0.1 y aproximadamente 1.5 mm, más preferiblemente entre aproximadamente 0.1 y aproximadamente 1.0 mm, y más preferiblemente entre aproximadamente 0.1 y 0.8 mm, tal como aproximadamente 0.2 mm, aproximadamente 0.3 mm, aproximadamente 0.4 mm, aproximadamente 0.5 mm, aproximadamente 0.6 mm o aproximadamente 0.7 mm. En una modalidad más preferida, las partículas están entre aproximadamente 0.4 y aproximadamente 0.8 mm, como aproximadamente 0.5 mm, o aproximadamente 0.6 mm, o aproximadamente 0.7 mm. En una modalidad particular de la invención, las partículas son de aproximadamente 0.7 mm.

En algunas modalidades, la invención se refiere a una formulación de odevixibat, en donde cada partícula comprende un núcleo y una capa de recubrimiento que rodea el núcleo. El núcleo de cada partícula puede ser un peletizado, un gránulo, un minicomprimido, una perla, una micropartícula o una microesfera.

En algunas modalidades, el núcleo de cada partícula comprende el ingrediente farmacéutico activo (odevixibat), mientras que la capa de recubrimiento de cada partícula no comprende el ingrediente farmacéutico activo. En algunas modalidades, el núcleo de cada partícula comprende de aproximadamente 0.1% a aproximadamente 5% p/p del ingrediente farmacéutico activo, basado en el peso total de la partícula, tal como de aproximadamente 0.1%

a aproximadamente 2% p/p, tal como de aproximadamente 0.1% a aproximadamente 1% p/p, o tal como de aproximadamente 0.1% a aproximadamente 0.5% p/p del ingrediente farmacéutico activo, basado en el peso total de la partícula.

En algunas modalidades, la capa de recubrimiento de cada partícula comprende el
5 ingrediente farmacéutico activo (odevixibat), mientras que el núcleo de cada partícula no comprende el ingrediente farmacéutico activo. En algunas modalidades, la capa de recubrimiento de cada partícula comprende de aproximadamente 0.1% a aproximadamente 5% p/p del ingrediente farmacéutico activo, basado en el peso total de la partícula, tal como de aproximadamente 0.1% a aproximadamente 2% p/p, tal como de aproximadamente 0.1% a
10 aproximadamente 1% p/p, o tal como de aproximadamente 0.1% a aproximadamente 0.5% p/p del ingrediente farmacéutico activo, basado en el peso total de la partícula.

Los núcleos pueden ser dispersables por vía oral y comprender ingredientes solubles como un azúcar (por ejemplo, sacarosa) o un polímero soluble (por ejemplo, hidroxipropil metilcelulosa) o pueden ser no dispersables por vía oral y comprenden ingredientes no solubles
15 como un polímero no soluble (por ejemplo, celulosa microcristalina). En una modalidad preferida de la invención, los núcleos comprenden celulosa microcristalina. En una calidad preferida, los núcleos son esferas de celulosa microcristalina.

La capa de recubrimiento puede comprender además un polímero formador de película, tal como un polímero a base de celulosa, un polímero a base de polisacárido, un polímero a
20 base de N-vinilpirrolidona, un acrilato, una acrilamida o copolímeros de los mismos. Los ejemplos de polímeros formadores de película adecuados incluyen alcohol polivinílico (PVA), acetato ftalato de polivinilo (PVAP), polietilenglicol (PEG), polivinilpirrolidona (PVP), copolímeros de ácido metacrílico, almidón, hidroxipropil almidón, quitosano, goma laca, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa (HPC), hidroxipropilcelulosa de baja sustitución, hidroxipropil metilcelulosa
25 (HPMC; o hipromelosa), acetato succinato de hidroxipropil metilcelulosa (HPMCAS), ftalato de hidroxipropil metilcelulosa (HPMCP), ftalato de acetato de celulosa (CAP), trimelitato de acetato de celulosa (CAT), así como combinaciones de los mismos, tales como una mezcla de metilcelulosa e hidroxipropil metilcelulosa (metolosa). En una modalidad preferida, la capa de recubrimiento comprende un polímero filmógeno seleccionado del grupo que consiste en
30 hidroxipropilmetilcelulosa, alcohol polivinílico (PVA), polietilenglicol (PEG), almidón, hidroxipropil almidón e hidroxipropilcelulosa (HPC). En una modalidad más preferida, la capa de recubrimiento comprende hidroxipropil metilcelulosa como polímero formador de película.

La capa de recubrimiento puede comprender opcionalmente uno o más ingredientes adicionales, como un plastificante (por ejemplo, polietilenglicol, triacetina o citrato de trietilo), un
35 agente antiadherente (por ejemplo, talco o estearato de magnesio) o un agente colorante (por ejemplo, dióxido de titanio, óxidos de hierro, riboflavina o cúrcuma).

En algunas modalidades, la formulación comprende odevixibat en forma cristalina. En algunas modalidades, la formulación comprende un hidrato cristalino de odevixibat. En algunas modalidades, la formulación comprende la modificación cristalina 1 de odevixibat. Esta modificación de cristal estable se puede obtener a partir de una suspensión de odevixibat en una mezcla de agua y un disolvente orgánico como el etanol. Bajo estas condiciones, un solvato mixto que contiene aproximadamente dos moles de agua y aproximadamente uno a aproximadamente tres, tal como aproximadamente dos a aproximadamente tres moles de etanol por mol de odevixibat (por ejemplo, un dihidrato-dietanolato o un dihidrato-trietanolato) es inicialmente formado. Este solvato mixto se denomina en este documento modificación de cristal 2. Cuando la modificación de cristal 2 se seca, tal como al vacío (por ejemplo, menos de 5 mbar) o bajo un flujo de nitrógeno, pierde sus moléculas de disolvente orgánico y se convierte en la modificación de cristal 1. En algunas modalidades, la transformación de la modificación de cristal 2 en la modificación de cristal 1 procede a través de un intermedio cristalino. Se cree que este intermedio cristalino es una forma deshidratada, que rápidamente absorbe agua del aire. Sin desear estar ligado a ninguna teoría, se cree que las moléculas de disolvente se pueden eliminar sin disolución y recristalización de los cristales.

La modificación de cristal 1 de odevixibat no solo puede obtenerse a partir de una mezcla de agua y etanol, como se describe anteriormente, sino también a partir de una suspensión de odevixibat en una mezcla de agua y un disolvente orgánico seleccionado del grupo que consiste en metanol, 2-propanol, acetona, acetonitrilo, 1,4-dioxano, DMF y DMSO. Al secar los diferentes solvatos mixtos obtenidos en estas condiciones (modificación cristalina 2), se obtiene el mismo hidrato cristalino de odevixibat, es decir, modificación de cristal 1.

La modificación de cristal 1 contiene volúmenes vacíos que son capaces de contener hasta aproximadamente 2 moles de agua asociados con el cristal por mol de odevixibat, dependiendo de la humedad relativa. Por tanto, esta forma es formalmente un canal de hidratación. Sin embargo, a aproximadamente 30% de humedad relativa, la modificación de cristal 1 contiene una cantidad sustancialmente estequiométrica de aproximadamente 1.5 moles de agua por mol de compuesto orgánico y, por tanto, es un sesquihidrato. La cantidad sustancialmente estequiométrica de agua se considera ventajosa, ya que el contenido de agua de los cristales permanece sustancialmente constante incluso con cambios de humedad dentro del intervalo de humedad relativa normal de aproximadamente 30% a aproximadamente 70% de HR. De hecho, a humedades normales, tales como entre aproximadamente el 30 y aproximadamente el 70% de HR, la modificación de cristal 1 exhibe una higroscopicidad relativamente baja.

En una modalidad, la formulación comprende la modificación de cristal 1 de odevixibat que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD), obtenido con radiación $\text{CuK}\alpha 1$,

con al menos picos específicos en las posiciones $^{\circ}2\theta$ 5.6 ± 0.2 , 6.7 ± 0.2 y/o 12.1 ± 0.2 .

En una modalidad específica, la formulación comprende la modificación de cristal 1 que tiene un patrón XRPD, obtenida con radiación $\text{CuK}\alpha 1$, con picos específicos en las posiciones $^{\circ}2\theta$ 5.6 ± 0.2 , 6.7 ± 0.2 y 12.1 ± 0.2 y uno o más de los picos característicos: 4.1 ± 0.2 , 4.6 ± 0.2 , 9.3 ± 0.2 , 9.4 ± 0.2 y 10.7 ± 0.2 .

En una modalidad más específica, la formulación comprende la modificación de cristal 1 que tiene un patrón XRPD, obtenida con radiación $\text{CuK}\alpha 1$, con picos específicos en las posiciones $^{\circ}2\theta$ 4.6 ± 0.2 , 5.6 ± 0.2 , 6.7 ± 0.2 , 9.3 ± 0.2 , 9.4 ± 0.2 y 12.1 ± 0.2 .

En una modalidad más específica, la formulación comprende la modificación de cristal 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación $\text{CuK}\alpha 1$, con picos característicos en las posiciones $^{\circ}2\theta$ 4.1 ± 0.2 , 4.6 ± 0.2 , 5.6 ± 0.2 , 6.7 ± 0.2 , 9.3 ± 0.2 , 9.4 ± 0.2 , 10.7 ± 0.2 y 12.1 ± 0.2 , y una o más de 8.1 ± 0.2 , 8.6 ± 0.2 , 13.4 ± 0.2 , 13.8 ± 0.2 , 13.9 ± 0.2 , 16.6 ± 0.2 , 17.3 ± 0.2 , 17.7 ± 0.2 , 18.3 ± 0.2 , 18.9 ± 0.2 , 19.4 ± 0.2 , 19.7 ± 0.2 , 20.5 ± 0.2 , 20.8 ± 0.2 , 21.6 ± 0.2 , 23.2 ± 0.2 , 24.3 ± 0.2 , 29.8 ± 0.2 y 30.6 ± 0.2 .

En una modalidad incluso más específica, la formulación comprende la modificación de cristal 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación $\text{CuK}\alpha 1$, con picos característicos en las posiciones $^{\circ}2\theta$ 4.1 ± 0.2 , 4.6 ± 0.2 , 5.6 ± 0.2 , 6.7 ± 0.2 , 8.1 ± 0.2 , 8.6 ± 0.2 , 9.3 ± 0.2 , 9.4 ± 0.2 , 10.7 ± 0.2 , 12.1 ± 0.2 , 13.4 ± 0.2 , 13.8 ± 0.2 , 13.9 ± 0.2 , 16.6 ± 0.2 , 17.3 ± 0.2 , 17.7 ± 0.2 , 18.3 ± 0.2 , 18.9 ± 0.2 , 19.4 ± 0.2 , 19.7 ± 0.2 , 20.5 ± 0.2 , 20.8 ± 0.2 , 21.6 ± 0.2 , 23.2 ± 0.2 , 24.3 ± 0.2 , 29.8 ± 0.2 y 30.6 ± 0.2 .

En otra modalidad, la formulación comprende la modificación de cristal 1 que tiene un patrón XRPD, obtenida con radiación $\text{CuK}\alpha 1$, sustancialmente como se muestra en la Figura 1.

Mientras que la modificación de cristal 1 es un sesquihidrato que contiene aproximadamente un 3.5% (p/p) de agua a aproximadamente un 30% de humedad relativa (basado en el peso total del cristal), se ha observado que el cristal puede absorber un 1.5% adicional (p/p) agua cuando la humedad aumenta hasta un 95% de HR. La sorción y desorción de esta agua adicional es completamente reversible. El agua adicional puede adsorberse en la superficie o puede llenar más los canales de la estructura. En algunas modalidades, el término "sobrehidratado" se refiere a la modificación de cristal 1 que contiene de aproximadamente 1.5 a aproximadamente 4 moles de agua por mol de odevixibat, tal como de aproximadamente 1.5 a aproximadamente 3.5, o tal como de aproximadamente 1.5 a 3, o tal como de aproximadamente 1.5 a aproximadamente 2.5, o tal como de aproximadamente 1.5 a aproximadamente 2 moles de agua por mol de odevixibat. En algunas modalidades, el término "sobrehidratado" se refiere a la modificación de cristal 1 que contiene de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 moles de agua por mol de odevixibat, tal como de aproximadamente 2 a aproximadamente 3.5, o tal como de aproximadamente 2 a aproximadamente 3, o tal como de

aproximadamente 2 a aproximadamente 2.5 moles de agua por mol de odevixibat.

Se ha observado que el patrón de XRPD de la modificación de cristal 1 sobrehidratado cambia ligeramente cuando se seca, por ejemplo, a 50 °C en vacío. Un pequeño cambio de picos se ve más claramente en los intervalos 2θ 5 - 13 ° y 18 - 25 °, como se muestra en las Figuras 3 y 4, respectivamente. La exposición de la modificación seca a una humedad relativa elevada, como hasta un 95% de HR, hace que vuelva a aparecer el patrón XRPD de la modificación sobrehidratada. Los cambios de picos son el resultado de los cambios de volumen de la celda unitaria, que ocurren cuando las moléculas de agua entran y salen de la estructura de cristal.

Por lo tanto, en otra modalidad, la formulación comprende la modificación de cristal sobrehidratado 1 que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD), obtenido con radiación $\text{CuK}\alpha 1$, con al menos picos específicos en las posiciones ° 2θ 5.7 ± 0.2 , 6.7 ± 0.2 y/o 12.0 ± 0.2 .

En una modalidad específica, la formulación comprende la modificación de cristal sobrehidratado 1 que tiene un patrón XRPD, obtenida con radiación $\text{CuK}\alpha 1$, con picos específicos en las posiciones ° 2θ 5.6 ± 0.2 , 6.7 ± 0.2 y 12.0 ± 0.2 y uno o más de los picos característicos: 4.0 ± 0.2 , 9.4 ± 0.2 , 9.6 ± 0.2 y 10.8 ± 0.2 .

En una modalidad más específica, la formulación comprende la modificación de cristal sobrehidratado 1 que tiene un patrón XRPD, obtenida con radiación $\text{CuK}\alpha 1$, con picos específicos en las posiciones ° 2θ 4.0 ± 0.2 , 5.7 ± 0.2 , 6.7 ± 0.2 , 9.4 ± 0.2 , 9.6 ± 0.2 , 10.8 ± 0.2 y 12.1 ± 0.2 .

En una modalidad más específica, la formulación comprende la modificación de cristal sobrehidratado 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación $\text{CuK}\alpha 1$, con picos característicos en las posiciones ° 2θ 4.0 ± 0.2 , 5.7 ± 0.2 , 6.7 ± 0.2 , 9.4 ± 0.2 , 9.6 ± 0.2 , 10.8 ± 0.2 and 12.1 ± 0.2 , y una o más de 4.7 ± 0.2 , 8.0 ± 0.2 , 8.6 ± 0.2 , 13.3 ± 0.2 , 14.1 ± 0.2 , 15.3 ± 0.2 , 16.5 ± 0.2 , 17.3 ± 0.2 , 19.3 ± 0.2 , 19.7 ± 0.2 , 19.9 ± 0.2 , 20.1 ± 0.2 , 20.8 ± 0.2 , 21.7 ± 0.2 , 23.6 ± 0.2 , 26.2 ± 0.2 , 26.5 ± 0.2 , 28.3 ± 0.2 y 30.9 ± 0.2 .

En una modalidad incluso más específica, la formulación comprende la modificación de cristal sobrehidratado 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación $\text{CuK}\alpha 1$, con picos característicos en las posiciones ° 2θ 4.0 ± 0.2 , 4.7 ± 0.2 , 5.7 ± 0.2 , 6.7 ± 0.2 , 8.0 ± 0.2 , 8.6 ± 0.2 , 9.4 ± 0.2 , 9.6 ± 0.2 , 10.8 ± 0.2 , 12.1 ± 0.2 , 13.3 ± 0.2 , 14.1 ± 0.2 , 15.3 ± 0.2 , 16.5 ± 0.2 , 17.3 ± 0.2 , 19.3 ± 0.2 , 19.7 ± 0.2 , 19.9 ± 0.2 , 20.1 ± 0.2 , 20.8 ± 0.2 , 21.7 ± 0.2 , 23.6 ± 0.2 , 26.2 ± 0.2 , 26.5 ± 0.2 , 28.3 ± 0.2 y 30.9 ± 0.2 .

En otra modalidad, la formulación comprende la modificación de cristal sobrehidratado 1 de odevixibat que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación $\text{CuK}\alpha 1$, sustancialmente como se muestra en la Figura 2.

Es deseable que se evite el uso de disolventes orgánicos en la preparación de la formulación. En algunas modalidades, se usa agua como disolvente para la preparación de la formulación. Odevixibat se disuelve en agua muy poco, y se ha determinado que la solubilidad a pH 7 ya 37 °C es tan baja como aproximadamente 30 µg/ml. Debido a esta baja solubilidad en agua, las suspensiones acuosas de odevixibat pueden contener aglomerados más grandes de odevixibat, lo que puede conducir a una distribución desigual del ingrediente farmacéutico activo en los núcleos, es decir, los núcleos pueden contener diferentes cantidades de odevixibat, lo que a su vez afecta la uniformidad de la dosis. Por consiguiente, en algunas modalidades, la suspensión acuosa de odevixibat es homogénea. En algunas modalidades, se rocía una suspensión acuosa homogénea de odevixibat sobre los núcleos.

Odevixibat presenta una alta potencia y debe administrarse en dosis bajas, especialmente en el tratamiento de pacientes pediátricos que pesen entre 5 y 20 kg. Para alcanzar una alta uniformidad de dosis para la formulación multiparticulada descrita en este documento, es importante que cada partícula de la formulación contenga sustancialmente la misma cantidad de odevixibat, es decir, la desviación en el contenido de odevixibat de las partículas de la formulación debe ser tan baja como sea posible.

Como se usa en este documento, el término “homogéneo” se refiere a una suspensión que no contiene aglomerados de odevixibat mayores de aproximadamente 200 µm, y preferiblemente ningún aglomerado mayor de aproximadamente 100 µm, más preferiblemente ningún aglomerado mayor de aproximadamente 50 µm. El tamaño de los aglomerados de odevixibat en la suspensión de recubrimiento puede determinarse mediante microscopía óptica, utilizando un método basado en la Farmacopea Europea 9.0, monografía 2.9.37, y como se describe en la sección experimental. Alternativamente, el tamaño de los aglomerados de odevixibat en la suspensión de recubrimiento puede determinarse mediante técnicas de dispersión de luz, tales como dispersión de luz láser de ángulo bajo (LALLS). En algunas modalidades, el valor d_{90} para la distribución del tamaño de partícula de la suspensión de recubrimiento es menor de 15 µm, por ejemplo, menor de 14 µm, menor de 13 µm, menor de 12 µm, menor de 11 µm o menor de 10 µm.

En algunas modalidades, se puede preparar una suspensión homogénea de odevixibat dispersando el compuesto en agua mediante molienda en húmedo. La molienda en húmedo es un proceso en el que una sustancia sólida se dispersa en un líquido mediante cizallamiento, trituración o desgaste. Ejemplos de aparatos de molienda en húmedo incluyen molinos coloidales, molinos cónicos, molinos de bolas, molinos de discos y máquinas de dispersión de alto cizallamiento. Un ejemplo específico de un aparato de molienda en húmedo para su uso en la presente invención es un molino coloidal.

En algunas modalidades, la cristalinidad de odevixibat aumenta durante la molienda en

húmedo.

Preferiblemente, primero se humedece odevixibat en una pequeña cantidad de agua usando un homogeneizador y luego se dispersa en agua usando un molino coloidal. La pulverización de la dispersión homogeneizada sobre los núcleos permite una distribución
5 uniforme del ingrediente farmacéutico activo.

Es deseable que la formulación esté libre de cualquier ingrediente que no sea estrictamente necesario para la formulación, como los tensioactivos. En una modalidad preferida, por lo tanto, la suspensión de recubrimiento no contiene tensioactivos. De manera similar, en algunas modalidades, la capa de recubrimiento de la formulación no contiene
10 tensioactivos.

En una modalidad, las partículas están contenidas en un sobre. En otra modalidad, las partículas están contenidas en una cápsula. Dichas cápsulas pueden estar hechas de gelatina, de un polímero a base de celulosa como una hidroxipropilmetilcelulosa (hipromelosa), o de un polímero a base de polisacáridos como un pululano. Las cápsulas se pueden tragar intactas o
15 se pueden diseñar para que se abran, de modo que, por ejemplo, el contenido (es decir, las partículas) se pueda rociar sobre un vehículo alimenticio para su administración. En el último caso, el número de partículas en una cápsula debe caber preferiblemente en una sola cucharada de comida. En algunas modalidades, una cápsula contiene de aproximadamente 20 a aproximadamente 100 mg de partículas, tales como aproximadamente 30, aproximadamente
20 40, aproximadamente 50, aproximadamente 60, aproximadamente 70, aproximadamente 80 o aproximadamente 90 mg.

Para pacientes pediátricos más jóvenes, como bebés, niños pequeños y niños de hasta aproximadamente 6 años, las partículas se esparcen preferiblemente sobre alimentos que se pueden tragar fácilmente y que no requieren masticación, como yogur, compota de manzana, puré de frutas o avena. Para los pacientes pediátricos mayores, como los niños mayores de
25 aproximadamente 6 años, los adolescentes y los adultos jóvenes, las cápsulas que contienen las partículas se pueden tragar intactas, es decir, sin abrir. Para pacientes recién nacidos de hasta aproximadamente 6 meses de edad, que aún no han sido destetados o no pueden tomar alimentos semisólidos, la formulación se puede administrar dispersando las partículas en un
30 vehículo líquido adecuado, tal como leche materna, fórmula para bebés o agua. Cuando las partículas se han dispersado en un vehículo líquido, se pueden administrar al paciente dentro de los 30 minutos posteriores a la dispersión, sin pérdida del ingrediente activo ni indicios de degradación. En algunas modalidades, el volumen de vehículo líquido usado para administrar las partículas de odevixibat, incluido el enjuague, puede ser menor de aproximadamente 20 ml,
35 tal como menor de aproximadamente 15 ml, tal como menor de aproximadamente 10 ml, o menor de aproximadamente 5 ml. En algunas modalidades, las partículas dispersas se

administran directamente en la boca con una jeringa oral.

La formulación descrita en este documento puede usarse en el tratamiento o prevención de enfermedades hepáticas, tales como enfermedades hepáticas dependientes de ácidos biliares. En algunas modalidades, una enfermedad hepática implica niveles elevados de ácidos biliares en el suero y/o en el hígado. La formulación descrita en este documento puede usarse en particular en el tratamiento o prevención de enfermedades hepáticas colestásicas, incluidas enfermedades hepáticas colestásicas pediátricas raras, tales como atresia biliar; atresia biliar post-Kasai; atresia biliar postrasplante de hígado; colestasis intrahepática familiar progresiva (PFIC), incluyendo PFIC-1, PFIC-2, PFIC-3 y PFIC no especificada, PFIC post-derivación biliar y PFIC post-trasplante de hígado; Síndrome de Alagille (ALGS); y cirrosis biliar primaria (PBC); así como prurito colestásico pediátrico. Por lo tanto, en un aspecto, la invención se refiere a la formulación descrita en este documento para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad hepática colestásica. En otro aspecto, la invención se refiere a un método para tratar o prevenir una enfermedad hepática colestásica en un sujeto, tal como un ser humano, que comprende administrar al sujeto que necesita tal tratamiento o prevención una cantidad terapéuticamente eficaz de la formulación descrita en este documento.

La atresia biliar es una enfermedad hepática pediátrica rara que implica un bloqueo parcial o total (o incluso la ausencia) de grandes conductos biliares. Este bloqueo o ausencia provoca colestasis que conduce a la acumulación de ácidos biliares que dañan el hígado. En algunas modalidades, la acumulación de ácidos biliares ocurre en el árbol biliar extrahepático. En algunas modalidades, la acumulación de ácidos biliares ocurre en el árbol biliar intrahepático. El estándar de atención actual es el procedimiento de Kasai, que es una cirugía que elimina los conductos biliares bloqueados y conecta directamente una parte del intestino delgado al hígado. Actualmente no existen terapias farmacológicas aprobadas para este trastorno.

En este documento se proporcionan métodos para tratar la atresia biliar en un sujeto en necesidad de los mismos, los métodos comprendiendo la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de la formulación descrita en este documento. En algunas modalidades, el sujeto se ha sometido al procedimiento de Kasai antes de la administración de la formulación descrita en este documento. En algunas modalidades, al sujeto se le administra la formulación descrita en este documento antes de someterse al procedimiento de Kasai. En algunas modalidades, el tratamiento de la atresia biliar disminuye el nivel de ácidos biliares séricos en el sujeto. En algunas modalidades, el nivel de ácidos biliares en suero se determina mediante, por ejemplo, un ensayo enzimático ELISA o los ensayos para la medición de ácidos biliares totales como se describe en Danese et al., PLoS One. 2017, vol. 12(6): e0179200, que se incorpora en este documento como referencia en su totalidad. En algunas modalidades, el nivel de ácidos biliares séricos puede disminuir, por ejemplo, 10% a 40%, 20% a 50%, 30% a

60%, 40% a 70%, 50% a 80%, o en más del 90% del nivel de ácidos biliares en suero antes de la administración de la formulación descrita en este documento. En algunas modalidades, el tratamiento de la atresia biliar incluye el tratamiento del prurito.

La PFIC es un trastorno genético poco común que se estima que afecta a uno de cada 50,000 a 100,000 niños nacidos en todo el mundo y causa una enfermedad hepática progresiva y potencialmente mortal.

Una manifestación de PFIC es el prurito, que a menudo resulta en una calidad de vida muy disminuida. En algunos casos, la PFIC conduce a cirrosis e insuficiencia hepática. Las terapias actuales incluyen la derivación biliar externa parcial (PEBD) y el trasplante de hígado; sin embargo, estas opciones pueden conllevar un riesgo sustancial de complicaciones posquirúrgicas, así como problemas psicológicos y sociales.

Se han identificado tres defectos genéticos alternativos que se correlacionan con tres subtipos de PFIC separados conocidos como tipos 1, 2 y 3.

- La PFIC, tipo 1, que a veces se denomina "enfermedad de Byler", es causada por una secreción de bilis alterada debido a mutaciones en el gen ATP8B1, que codifica una proteína que ayuda a mantener un equilibrio adecuado de grasas conocidas como fosfolípidos en las membranas celulares en los conductos biliares. Un desequilibrio en estos fosfolípidos se asocia con colestasis y ácidos biliares elevados en el hígado. Los sujetos afectados por PFIC tipo 1 suelen desarrollar colestasis en los primeros meses de vida y, en ausencia de tratamiento quirúrgico, progresan a cirrosis y enfermedad hepática terminal antes del final de la primera década de vida.
- La PFIC, tipo 2, que a veces se denomina "síndrome de Byler", es causado por una secreción deficiente de sales biliares debido a mutaciones en el gen ABCB11, que codifica una proteína, conocida como bomba de exportación de sales biliares, que expulsa los ácidos biliares del hígado. Los sujetos con PFIC tipo 2 a menudo desarrollan insuficiencia hepática en los primeros años de vida y tienen un mayor riesgo de desarrollar un tipo de cáncer de hígado conocido como carcinoma hepatocelular.
- La PFIC, tipo 3, que típicamente se presenta en los primeros años de la infancia con colestasis progresiva, es causada por mutaciones en el gen ABCB4, que codifica un transportador que mueve los fosfolípidos a través de las membranas celulares.

Además, se ha propuesto que las mutaciones del gen TJP2, el gen NR1H4 o el gen Myo5b son causas de PFIC. Además, algunos sujetos con PFIC no tienen una mutación en ninguno de los genes ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o Myo5b. En estos casos, se desconoce la causa de la afección.

Las mutaciones ejemplares del gen ATP8B1 o la proteína resultante se enumeran en

las Tablas 1 y 2, con una numeración basada en la proteína ATP8B1 de tipo natural humano (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) o gen (por ejemplo, SEQ ID NO: 2). Las mutaciones ejemplares del gen ABCB11 o la proteína resultante se enumeran en las Tablas 4 y 5, con una numeración basada en la proteína ABCB11 de tipo natural humano (por ejemplo, SEQ ID NO: 3) o gen (por ejemplo, SEQ ID NO: 4).

Como pueden apreciar los expertos en la técnica, una posición de aminoácido en una secuencia de proteína de referencia que corresponde a una posición de aminoácido específica en SEQ ID NO: 1 o 3 se pueden determinar alineando la secuencia de la proteína de referencia con SEQ ID NO: 1 o 3 (por ejemplo, utilizando un programa de software, tal como ClustalW2). Los cambios en estos residuos (a los que se hace referencia en este documento como "mutaciones") pueden incluir sustituciones de aminoácidos únicos o múltiples, inserciones dentro o flanqueando las secuencias y deleciones dentro o flanqueando las secuencias. Como pueden apreciar los expertos en la técnica, una posición de nucleótidos en una secuencia de un gen de referencia que corresponde a una posición de nucleótidos específica en la SEQ ID NO: 2 o 4 se pueden determinar alineando la secuencia del gen de referencia con SEQ ID NO: 2 o 4 (por ejemplo, utilizando un programa de software, tal como ClustalW2). Los cambios en estos residuos (a los que se hace referencia en este documento como "mutaciones") pueden incluir sustituciones de nucleótidos únicos o múltiples, inserciones dentro o flanqueando las secuencias y deleciones dentro o flanqueando las secuencias. Ver también Kooistra, et al., "KLIFS: A structural kinase-ligand interaction database," Nucleic Acids Res. 2016, vol. 44, no. D1, pp. D365-D371, que se incorpora como referencia en su totalidad en este documento.

Tabla 1. Mutaciones ejemplares de ATP8B1

	Posición del aminoácido 3 (por ejemplo, T3K) ²⁷
	Posición del aminoácido 23 (por ejemplo, P23L) ⁵
25	Posición del aminoácido 45 (por ejemplo, N45T) ^{5,8,9}
	Posición del aminoácido 46 (por ejemplo, R46X) ^{A,25}
	Posición del aminoácido 62 (por ejemplo, C62R) ²⁸
	Posición del aminoácido 63 (por ejemplo, T63T) ⁴¹
30	Posición del aminoácido 70 (por ejemplo, D70N) ^{1,6}
	Posición del aminoácido 71 (por ejemplo, R71H) ⁴³
	Posición del aminoácido 78 (por ejemplo, H78Q) ¹⁹
	Posición del aminoácido 82 (por ejemplo, T82T) ⁴¹
	Posición del aminoácido 92 (por ejemplo, Y92Y) ⁴¹
	Posición del aminoácido 93 (por ejemplo, A93A) ⁶
35	Posición del aminoácido 96 (por ejemplo, A96G) ²⁷

5	Posición del aminoácido 114 (por ejemplo, E114Q) ⁸
	Posición del aminoácido 127 (por ejemplo, L127P ⁶ /L127V ³⁶)
	Posición del aminoácido 177 (por ejemplo, T177T) ⁶
	Posición del aminoácido 179 (por ejemplo, E179X) ²⁹
	Posiciones del aminoácido Δ 185-282 ⁴⁴
10	Posición del aminoácido 197 (por ejemplo, G197Lfs*10) ²²
	Posición del aminoácido 201 (por ejemplo, R201S ²⁷ /R201H ³⁵)
	Posición del aminoácido 203 (por ejemplo, K203E ^{5,8} , K203R ⁹ , K203fs ²⁵)
	Posición del aminoácido 205 (por ejemplo, N205fs ⁶ , N205Kfs*2 ³⁵)
	Posición del aminoácido 209 (por ejemplo, P209T) ⁴
15	Posición del aminoácido 217 (por ejemplo, S217N) ⁴³
	Posición del aminoácido 232 (por ejemplo, D232D) ³⁰
	Posición del aminoácido 233 (por ejemplo, G233R) ³⁸
	Posición del aminoácido 243 (por ejemplo, L243fs*28) ³³
	Posición del aminoácido 265 (por ejemplo, C265R) ²⁵
20	Posición del aminoácido 271 (por ejemplo, R271X ¹³ /R271R ³⁰)
	Posición del aminoácido 288 (por ejemplo, L288S) ⁶
	Posición del aminoácido 294 (por ejemplo, L294S) ⁴³
	Posición del aminoácido 296 (por ejemplo, R296C) ¹¹
	Posición del aminoácido 305 (por ejemplo, F305I) ²⁸
25	Posición del aminoácido 306 (por ejemplo, C306R) ²³
	Posición del aminoácido 307 (por ejemplo, H307L) ³⁵
	Posición del aminoácido 308 (por ejemplo, G308V ¹ , G308D ⁶ , G308S ³⁵)
	Posición del aminoácido 314 (por ejemplo, G314S) ¹³
	Posición del aminoácido 320 (por ejemplo, M320Vfs*13) ¹¹
30	Posición del aminoácido 337 (por ejemplo, M337R) ¹⁸
	Posición del aminoácido 338 (por ejemplo, N338K) ¹⁸
	Posición del aminoácido 340 (por ejemplo, M340V) ¹⁸
	Posición del aminoácido 344 (por ejemplo, I344F) ^{6,20}
	Posición del aminoácido 349 (por ejemplo, I349T) ⁴¹
35	Posición del aminoácido 358 (por ejemplo, G358R) ²⁸
	Posición del aminoácido 367 (por ejemplo, G367G) ⁴¹
	Posición del aminoácido 368 (por ejemplo, N368D) ⁴¹

5	Posición del aminoácido 393 (por ejemplo, I393V) ²⁷
	Posición del aminoácido 403 (por ejemplo, S403Y) ⁶
	Posición del aminoácido 407 (por ejemplo, S407N) ⁴⁰
	Posición del aminoácido 412 (por ejemplo, R412P) ⁶
	Posición del aminoácido 415 (por ejemplo, Q415R) ²⁷
10	Posición del aminoácido 422 (por ejemplo, D422H) ³⁵
	Posición del aminoácido 429 (por ejemplo, E429A) ⁶
	Posición del aminoácido 446 (por ejemplo, G446R) ^{4,11}
	Posición del aminoácido 453 (por ejemplo, S453Y) ⁶
	Posición del aminoácido 454 (por ejemplo, D454G) ⁶
15	Posición del aminoácido 455 (por ejemplo, K455N) ⁴³
	Posición del aminoácido 456 (por ejemplo, T456M ^{3,6} /T456K ³⁵)
	Posición del aminoácido 457 (por ejemplo, G457G ⁶ , G457fs*6 ³³)
	Posición del aminoácido 469 (por ejemplo, C469G) ⁴¹
	Posición del aminoácido 478 (por ejemplo, H478H) ⁴¹
20	Posición del aminoácido 500 (por ejemplo, Y500H) ⁶
	Posición del aminoácido 525 (por ejemplo, R525X) ⁴
	Posición del aminoácido Δ 529 ⁶
	Posición del aminoácido 535 (por ejemplo, H535L ⁶ /H535N ⁴¹)
	Posición del aminoácido 553 (por ejemplo, P553P) ⁴³
25	Posición del aminoácido 554 (por ejemplo, D554N ^{1,6} /D554A ³⁵)
	Posiciones del aminoácido Δ 556-628 ⁴⁴
	Posiciones del aminoácido Δ 559-563 ³⁵
	Posición del aminoácido 570 (por ejemplo, L570L) ⁴¹
	Posición del aminoácido 577 (por ejemplo, I577V) ¹⁹
30	Posición del aminoácido 581 (por ejemplo, E581K) ³⁵
	Posiciones del aminoácido 554 y 581 (por ejemplo, D554A+E581K) ³⁵
	Posición del aminoácido 585 (por ejemplo, E585X) ²¹
	Posición del aminoácido 600 (por ejemplo, R600W ^{2,4} /R600Q ⁶)
	Posición del aminoácido 602 (por ejemplo, R602X) ^{3,6}
35	Posición del aminoácido 628 (por ejemplo, R628W) ⁶
	Posición del aminoácido 631 (por ejemplo, R631Q) ²⁸
	Posiciones del aminoácido Δ 645-699 ⁴
	Posición del aminoácido 661 (por ejemplo, I661T) ^{1,4,6}

5	Posición del aminoácido 665 (por ejemplo, E665X) ^{4,6}
	Posición del aminoácido 672 (por ejemplo, K672fs ⁶ , K672Vfs*1 ³⁵)
	Posición del aminoácido 674 (por ejemplo, M674T) ¹⁹
	Posiciones del aminoácido 78 y 674 (por ejemplo, H78Q/M674T) ¹⁹
	Posición del aminoácido 684 (por ejemplo, D684D) ⁴¹
10	Posición del aminoácido 688 (por ejemplo, D688G) ⁶
	Posición del aminoácido 694 (por ejemplo, I694T ⁶ /I694N ¹⁷)
	Posición del aminoácido 695 (por ejemplo, E695K) ²⁷
	Posición del aminoácido 709 (por ejemplo, K709fs ⁶ , K709Qfs*41 ¹³)
	Posición del aminoácido 717 (por ejemplo, T717N) ⁴
15	Posición del aminoácido 733 (por ejemplo, G733R) ⁶
	Posición del aminoácido 757 (por ejemplo, Y757X) ⁴
	Posición del aminoácido 749 (por ejemplo, L749P) ²¹
	Posición del aminoácido 792 (por ejemplo, P792fs) ⁶
	Posición del aminoácido Δ 795-797 ⁶
20	Posición del aminoácido 809 (por ejemplo, I809L) ²⁷
	Posición del aminoácido 814 (por ejemplo, K814N) ²⁸
	Posición del aminoácido 833 (por ejemplo, R833Q ²⁷ /R833W ⁴¹)
	Posición del aminoácido 835 (por ejemplo, K835Rfs*36) ³⁵
	Posición del aminoácido 845 (por ejemplo, K845fs) ²⁵
25	Posición del aminoácido 849 (por ejemplo, R849Q) ²⁴
	Posición del aminoácido 853 (por ejemplo, F853S, F853fs) ⁶
	Posición del aminoácido 867 (por ejemplo, R867C ¹ , R867fs ⁶ , R867H ²³)
	Posición del aminoácido 885 (por ejemplo, K885T) ⁴¹
	Posición del aminoácido 888 (por ejemplo, T888T) ⁴¹
30	Posición del aminoácido 892 (por ejemplo, G892R) ⁶
	Posición del aminoácido 912 (por ejemplo, G912R) ³⁵
	Posición del aminoácido 921 (por ejemplo, S921S) ⁴¹
	Posición del aminoácido 924 (por ejemplo, Y924C) ²⁸
	Posición del aminoácido 930 (por ejemplo, R930X ⁶ /R930Q ²⁸)
35	Posición del aminoácido 941 (por ejemplo, R941X) ³⁵
	Posición del aminoácido 946 (por ejemplo, R946T) ⁴¹
	Posición del aminoácido 952 (por ejemplo, R952Q ^{5,9,15} , R952X ⁶)
	Posición del aminoácido 958 (por ejemplo, N958fs) ⁶

5	Posición del aminoácido 960 (por ejemplo, A960A) ⁴¹
	Posición del aminoácido Δ 971 ⁴³
	Posición del aminoácido 976 (por ejemplo, A976E ⁴¹ /A976A ⁴³)
	Posición del aminoácido 981 (por ejemplo, E981K) ²⁰
	Posición del aminoácido 994 (por ejemplo, S994R) ⁴
10	Posición del aminoácido 1011 (por ejemplo, L1011fs*18) ³³
	Posición del aminoácido 1012 (por ejemplo, S1012I) ¹⁰
	Posición del aminoácido 1014 (por ejemplo, R1014X) ^{6,11}
	Posición del aminoácido 1015 (por ejemplo, F1015L) ²⁷
	Posición del aminoácido 1023 (por ejemplo, Q1023fs) ⁶
15	Posición del aminoácido 1040 (por ejemplo, G1040R) ^{1,6}
	Posición del aminoácido 1044 (por ejemplo, S0144L) ³⁴
	Posición del aminoácido 1047 (por ejemplo, L1047fs) ⁶
	Posición del aminoácido 1050 (por ejemplo, I1050K) ³¹
	Posición del aminoácido 1052 (por ejemplo, L1052R) ²⁸
20	Posición del aminoácido 1095 (por ejemplo, W1095X) ¹¹
	Posición del aminoácido 1098 (por ejemplo, V1098X) ³⁵
	Posición del aminoácido 1131 (por ejemplo, Q1131X) ⁴⁴
	Posición del aminoácido 1142 (por ejemplo, A1142Tfs*35) ⁴³
	Posición del aminoácido 1144 (por ejemplo, Y1144Y) ⁴³
25	Posición del aminoácido 1150 (por ejemplo, I1150T) ⁴¹
	Posición del aminoácido 1152 (por ejemplo, A1152T) ³⁰
	Posición del aminoácido 1159 (por ejemplo, P1159P) ^{25,43}
	Posición del aminoácido 1164 (por ejemplo, R1164X) ⁶
	Posición del aminoácido 1193 (por ejemplo, R1193fs*39) ³³
30	Posición del aminoácido 1197 (por ejemplo, V1197L) ⁴¹
	Posición del aminoácido 1208 (por ejemplo, A1208fs) ⁶
	Posición del aminoácido 1209 (por ejemplo, Y1209Lfs*28) ⁴
	Posición del aminoácido 1211 (por ejemplo, F1211L) ²⁷
	Posición del aminoácido 1219 (por ejemplo, D1219H ⁵ /D1219G ²⁷)
35	Posición del aminoácido 1223 (por ejemplo, S1223S) ⁴¹
	Posición del aminoácido 1233 (por ejemplo, P1233P) ⁴¹
	Posición del aminoácido 1241 (por ejemplo, G1241fs) ⁶
	Posición del aminoácido 1248 (por ejemplo, T1248T) ⁴³

5	Mutación del sitio de empalme IVS3+1_+3delGTG ⁶
	Mutación del sitio de empalme IVS3-2A>G ⁶
	IVS6+5T>G ^{17,25}
	Mutación del sitio de empalme IVS8+1G>T ⁶
	IVS9-G>A ²⁶
10	IVS12+1G>A ²⁵
	Mutación del sitio de empalme IVS17-1G>A ⁶
	Mutación del sitio de empalme IVS18+2T>C ⁶
	Mutación del sitio de empalme IVS20-4CT>AA
	Mutación del sitio de empalme IVS21+5G>A ⁶
15	Mutación del sitio de empalme IVS23-3C>A ⁶
	Mutación del sitio de empalme IVS26+2T>A ⁶
	g.24774-42062del ⁴
	c.-4C>G ⁴¹
	c.145C>T ¹²
20	c.181-72G>A ⁹
	c.182-5T>A ⁴¹
	c.182-72G>A ⁴¹
	c.246A>G ⁹
	c.239G>A ³⁹
25	c.279+1_279+3delGTG ⁴⁶
	c.280-2A>G ⁴⁶
	c.625_62715delinsACAGTAAT ⁴⁶
	c.554+122C>T ⁹
	c.555-3T>C ²⁷
30	c.625+5 G>T ⁴
	Posición del aminoácido 209 (por ejemplo, P209T) y c.625+5 G>T ⁴
	c.628-30G>A ⁴¹
	c.628-31C>T ⁴¹
	c.698+1G>T ⁴⁶
35	c.698+20C>T ⁴¹
	c.782-1G>A ⁴⁶
	c.782-34G>A ⁴¹
	Δ795-797 ¹⁴

5	c.782 -1G>A ⁴
	c.852A>C ²⁷
	c.941-1G>A ⁴⁶
	c.1014C>T ⁹
	c.1029+35G>A ⁹
10	c.1221-8C.G ⁴¹
	1226delA ¹⁶
	c.1429+1G>A ⁴⁶
	c.1429+2T>G ¹³
	c.1429+49G>A ⁴¹
15	c.1430-42A>G ⁴¹
	c.1493T>C ¹²
	c.1587_1589delCTT ⁴⁶
	c.1630+2T>G ²⁷
	c.1631-10T>A ⁴¹
20	c.1637-37T>C ⁴¹
	1660 G>A ¹⁴
	1798 C>T ¹⁴
	1799 G>A ¹⁴
	c.1819-39_41delAA ⁹
25	c.1819+1G>A ³¹
	c.1820-27G>A ⁴¹
	c.1918+8C>T ²⁷
	c.1933-1G>AK ⁴⁶
	c.2097+2T>C ³²
30	c.2097+60T>G ⁴¹
	c.2097+89T>C ⁴¹
	c.2097+97T>G ⁴¹
	c.2210-114T>C ⁹
	2210delA ¹⁶
35	c.2210-45_50dupATAAAA ⁹
	c.2285+29C.T ⁴¹
	c.2285+32A>G ⁴¹
	c.2286-4_2286-3delinsAA ⁴⁶

	c.2418+5G>A ⁴⁶
	c.2707+3G>C ²⁷
	c.2707+9T>G ⁴¹
	c.2707+43A>G ⁴¹
5	c.2709-59T>C ⁴¹
	c.2931+9A>G ⁴¹
	c.2931+59T>A ⁴¹
	c.2932-3C>A ⁴⁶
	c.2932+59T>A ⁹
10	c.2937A>C ²⁷
	c.3016-9C>A ³¹
	c.3033-3034del ¹⁹
	3122delTCCTA/insACATCGATGTTGATGTTAGG ⁴⁵
	3318 G>A ¹⁴
15	c.3400+2T>A ⁴⁶
	c.3401-175C>T ⁹
	c.3401-167C>T ⁹
	c.3401-108C>T ⁹
	c.3531+8G>T ^{9,15}
20	c.3532-15C>T ⁹
	Δ Phe ex 15 ⁴
	Ex1_Ex13del ⁶
	Ex2_Ex6del ³³
25	Ex12_Ex14del ²⁷
	Exón 24 ⁴⁵ omitido
	del5'UTR-ex18 ¹¹
	c.*11C>T ⁴¹
	c.*1101 + 366G > A ⁷
30	g.92918del565 ³¹
	GC que precede al exón 16 (por ejemplo, resulta en una delección de 4 pb) ⁴²
	Desplazamiento del marco desde el extremo 5 'del exón 16 ⁴²
	Delección 5 '1.4 kb ⁴⁶
35	

Tabla 2. Mutaciones seleccionadas de ATP8B1 asociadas con PFIC-1

5	Posición del aminoácido 23 (por ejemplo, P23L) ⁵
	Posición del aminoácido 78 (por ejemplo, H78Q) ¹⁹
	Posición del aminoácido 93 (por ejemplo, A93A) ⁶
	Posición del aminoácido 96 (por ejemplo, A96G) ²⁷
	Posición del aminoácido 127 (por ejemplo, L127P) ⁶
10	Posición del aminoácido 197 (por ejemplo, G197Lfs*10) ²²
	Posición del aminoácido 205 (por ejemplo, N205fs) ⁶
	Posición del aminoácido 209 (por ejemplo, P209T) ⁴
	Posición del aminoácido 233 (por ejemplo, G233R) ³⁸
	Posición del aminoácido 243 (por ejemplo, L243fs*28) ³³
15	Posición del aminoácido 288 (por ejemplo, L288S) ⁶
	Posición del aminoácido 296 (por ejemplo, R296C) ¹¹
	Posición del aminoácido 308 (por ejemplo, G308V ^{1,6})
	Posición del aminoácido 320 (por ejemplo, M320Vfs*13) ¹¹
	Posición del aminoácido 403 (por ejemplo, S403Y) ⁶
20	Posición del aminoácido 407 (por ejemplo, S407N) ⁴⁰
	Posición del aminoácido 412 (por ejemplo, R412P) ⁶
	Posición del aminoácido 415 (por ejemplo, Q415R) ²⁷
	Posición del aminoácido 429 (por ejemplo, E429A) ⁶
	Posición del aminoácido 446 (por ejemplo, G446R) ⁴
25	Posición del aminoácido 456 (por ejemplo, T456M) ^{3,6}
	Posición del aminoácido 457 (por ejemplo, G457G ⁶ , G457fs*6 ³³)
	Posición del aminoácido 500 (por ejemplo, Y500H) ⁶
	Posición del aminoácido 525 (por ejemplo, R525X) ⁴
	Posición del aminoácido Δ 529 ⁶
30	Posición del aminoácido 535 (por ejemplo, H535L) ⁶
	Posición del aminoácido 554 (por ejemplo, D554N) ^{1,6}
	Posición del aminoácido 577 (por ejemplo, I577V) ¹⁹
	Posición del aminoácido 585 (por ejemplo, E585X) ²¹
	Posición del aminoácido 600 (por ejemplo, R600W) ⁴
35	Posición del aminoácido 602 (por ejemplo, R602X) ^{3,6}
	Posición del aminoácido 661 (por ejemplo, I661T) ^{4,6}
	Posición del aminoácido 665 (por ejemplo, E665X) ^{4,6}

	Posiciones del aminoácido Δ 645-699 ⁴
	Posición del aminoácido 672 (por ejemplo, K672fs) ⁶
	Posición del aminoácido 674 (por ejemplo, M674T) ¹⁹
	Posiciones del aminoácido 78 y 674 (por ejemplo, H78Q/M674T) ¹⁹
5	Posición del aminoácido 688 (por ejemplo, D688G) ⁶
	Posición del aminoácido 694 (por ejemplo, I694N) ¹⁷
	Posición del aminoácido 695 (por ejemplo, E695K) ²⁷
	Posición del aminoácido 709 (por ejemplo, K709fs) ⁶
10	Posición del aminoácido 717 (por ejemplo, T717N) ⁴
	Posición del aminoácido 733 (por ejemplo, G733R) ⁶
	Posición del aminoácido 749 (por ejemplo, L749P) ²¹
	Posición del aminoácido 757 (por ejemplo, Y757X) ⁴
	Posición del aminoácido 792 (por ejemplo, P792fs) ⁶
15	Posición del aminoácido 809 (por ejemplo, I809L) ²⁷
	Posición del aminoácido 853 (por ejemplo, F853S, F853fs) ⁶
	Posición del aminoácido 867 (por ejemplo, R867fs) ⁶
	Posición del aminoácido 892 (por ejemplo, G892R) ⁶
	Posición del aminoácido 930 (por ejemplo, R930X ⁶ /R952Q ¹⁵)
20	Posición del aminoácido 952 (por ejemplo, R952X) ⁶
	Posición del aminoácido 958 (por ejemplo, N958fs) ⁶
	Posición del aminoácido 981 (por ejemplo, E981K) ²⁰
	Posición del aminoácido 994 (por ejemplo, S994R) ⁴
	Posición del aminoácido 1014 (por ejemplo, R1014X) ^{6,11}
25	Posición del aminoácido 1015 (por ejemplo, F1015L) ²⁷
	Posición del aminoácido 1023 (por ejemplo, Q1023fs) ⁶
	Posición del aminoácido 1040 (por ejemplo, G1040R) ^{1,6}
	Posición del aminoácido 1047 (por ejemplo, L1047fs) ⁶
	Posición del aminoácido 1095 (por ejemplo, W1095X) ¹¹
30	Posición del aminoácido 1208 (por ejemplo, A1208fs) ⁶
	Posición del aminoácido 1209 (por ejemplo, Y1209Lfs*28) ⁴
	Posición del aminoácido 1211 (por ejemplo, F1211L) ²⁷
	Posición del aminoácido 1219 (por ejemplo, D1219H ⁵ /D1219G ²⁷)
	Mutación del sitio de empalme IVS3+1_+3delGTG ⁶
35	Mutación del sitio de empalme IVS3-2A>G ⁶

	IVS6+5T>G ¹⁷
	Mutación del sitio de empalme IVS8+1G>T ⁶
	IVS9-G>A ²⁶
	Mutación del sitio de empalme IVS17-1G>A ⁶
5	Mutación del sitio de empalme IVS18+2T>C ⁶
	Mutación del sitio de empalme IVS21+5G>A ⁶
	g.24774-42062del ⁴
	c.145C>T ¹²
	c.239G>A ³⁹
10	c.625+5 G>T ⁴
	Posición del aminoácido 209 (por ejemplo, P209T) y c.625+5 G>T ⁴
	c.782 -1G>A ⁴
	c.1493T>C ¹²
15	c.1630+2T>G ²⁷
	1660 G>A ¹⁴
	c.2707+3G>C ²⁷
	c.2097+2T>C ³²
	c.3033-3034del ¹⁹
20	3318 G>A ¹⁴
	c.3158+8G>T ¹⁵
	Δ Phe ex 15 ⁴
	Ex1_Ex13del ⁶
	Ex2_Ex6del ³³
25	Ex12_Ex14del ²⁷
	del5'UTR-ex18 ¹¹
	c.*1101 + 366G > A ⁷
	GC que precede al exón 16 (por ejemplo, resulta en una delección de 4 pb) ⁴²
30	Desplazamiento del marco desde el extremo 5 'del exón 16 ⁴²

^A Una mutación para 'X' denota un codón de terminación temprana

Referencias para las Tablas 1 y 2

¹ Folmer et al., Hepatology. 2009, vol. 50(5), p. 1597-1605.

² Hsu et al., Hepatol Res. 2009, vol. 39(6), p. 625-631.

³ Alvarez et al., Hum Mol Genet. 2004, vol. 13(20), p. 2451-2460.

⁴ Davit-Spraul et al., Hepatology 2010, vol. 51(5), p. 1645-1655.

- ⁵ Vitale et al., J Gastroenterol. 2018, vol. 53(8), p. 945-958.
- ⁶ Klomp et al., Hepatology 2004, vol. 40(1), p. 27-38.
- ⁷ Zarenezhad et al., Hepatitis Monthly: 2017, vol. 17(2); e43500.
- ⁸ Dixon et al., Scientific Reports 2017, vol. 7, 11823.
- 5 ⁹ Painter et al., Eur J Hum Genet. 2005, vol. 13(4), p. 435-439.
- ¹⁰ Deng et al., World J Gastroenterol. 2012, vol. 18(44), p. 6504-6509.
- ¹¹ Giovannoni et al., PLoS One. 2015, vol. 10(12): e0145021.
- ¹² Li et al., Hepatology International 2017, vol. 11, No. 1, Supp. Suplemento 1, pp. S180.
Número abstracto: OP284.
- 10 ¹³ Togawa et al., Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2018, vol. 67, Supp. Suplemento 1, pp. S363. Número abstracto: 615.
- ¹⁴ Miloh et al., Gastroenterology 2006, vol. 130, No. 4, Suppl. 2, pp. A759-A760.
Información de la reunión.: Digestive Disease Week Meeting/107th Annual Meeting of the American-Gastroenterological-Association. Los Angeles, CA, USA. May 19.
- 15 ¹⁵ Dröge et al., Zeitschrift fur Gastroenterologie 2015, vol. 53, No. 12. Número abstracto: A3-27. Información de la reunión: 32. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber. Dusseldorf, Alemania. 22 Enero 2016-23 Enero 2016
- ¹⁶ Mizuochi et al., Clin Chim Acta. 2012, vol. 413(15-16), p. 1301-1304.
- ¹⁷ Liu et al., Hepatology International 2009, vol. 3, No. 1, p. 184-185. Número abstracto: PE405. Información de la reunión: XIX Conferencia de la Asociación Asia Pacífico para el Estudio del Hígado. Hong Kong, China. 13 Feb 2009-16 Feb 2009
- 20 ¹⁸ McKay et al., Version 2. F1000Res. 2013; 2: 32. DOI: 10.12688/f1000research.2-32.v2
- ¹⁹ Hasegawa et al., Orphanet J Rare Dis. 2014, vol. 9:89.
- ²⁰ Stone et al., J Biol Chem. 2012, vol. 287(49), p. 41139-51.
- 25 ²¹ Kang et al., J Pathol Transl Med. 2019 Mayo 16. doi: 10.4132/jptm.2019.05.03.
[Publicación electrónica antes de la impresión]
- ²² Sharma et al., BMC Gastroenterol. 2018, vol. 18(1), p. 107.
- ²³ Uegaki et al., Intern Med. 2008, vol. 47(7), p. 599-602.
- ²⁴ Goldschmidt et al., Hepatol Res. 2016, vol. 46(4), p. 306-311.
- 30 ²⁵ Liu et al., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010, vol. 50(2), p. 179-183.
- ²⁶ Jung et al., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007, vol. 44(4), p. 453-458.
- ²⁷ Bounford. University of Birmingham. Dissertation Abstracts International, (2016) Vol. 75, No. 1C. No. de orden: AAI10588329. ProQuest Dissertations & Theses.
- ²⁸ Stolz et al., Aliment Pharmacol Ther. 2019, vol. 49(9), p. 1195-1204.
- 35 ²⁹ Ivashkin et al., Hepatology International 2016, vol. 10, No. 1, Supp. SUPPL. 1, pp. S461. Número abstracto: LBO-38. Información de la reunión: 25a Conferencia Anual de la

Asociación de Asia Pacífico para el Estudio del Hígado, APASL 2016. Tokio, Japón. 20 Feb 2016-24 Feb 2016

- ³⁰ Blackmore et al., J Clin Exp Hepatol. 2013, vol. 3(2), p. 159-161.
- ³¹ Matte et al., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010, vol. 51(4), p. 488-493.
- 5 ³² Squires et al., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2017, vol. 64(3), p. 425-430.
- ³³ Hayshi et al., EBioMedicine. 2018, vol. 27, p. 187-199.
- ³⁴ Nagasaka et al., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007, vol. 45(1), p. 96-105.
- ³⁵ Wang et al., PLoS One. 2016; vol. 11(4): e0153114.
- ³⁶ Narchi et al., Saudi J Gastroenterol. 2017, vol. 23(5), p. 303-305.
- 10 ³⁷ Alashkar et al., Blood 2015, vol. 126, No. 23. Información de la reunión.: 57ª Reunión Anual de la Sociedad Estadounidense de Hematología. Orlando, FL, USA. Diciembre 05 -08, 2015. Amer Soc Hematol.
- ³⁸ Ferreira et al., Pediatric Transplantation 2013, vol. 17, Suppl. SUPPL. 1, pp. 99. Número abstracto: 239. Información de la reunión: VII Congreso de Trasplantes Pediátricos de
- 15 IPTA. Warsaw, Polonia. 13 Jul 2013-16 Jul 2013.
- ³⁹ Pauli-Magnus et al., J Hepatol. 2005, vol. 43(2), p. 342-357.
- ⁴⁰ Jericho et al., Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2015, vol. 60(3), p. 368-374.
- ⁴¹ van der Woerd et al., PLoS One. 2013, vol. 8(11): e80553.
- 20 ⁴² Copeland et al., J Gastroenterol Hepatol. 2013, vol. 28(3), p. 560-564.
- ⁴³ Dröge et al., J Hepatol. 2017, vol. 67(6), p. 1253-1264.
- ⁴⁴ Chen et al., Journal of Pediatrics 2002, vol. 140(1), p. 119-124.
- ⁴⁵ Jirsa et al., Hepatol Res. 2004, vol. 30(1), p. 1-3.
- ⁴⁶ van der Woerd et al., Hepatology 2015, vol. 61(4), p. 1382-1391.

25

En algunas modalidades, la mutación en ATP8B1 se selecciona de L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X, y G1040R.

Tabla 3. Mutaciones ejemplares de ABCB11

30	Posición del aminoácido 1 (por ejemplo, M1V) ⁹
	Posición del aminoácido 4 (por ejemplo, S4X) ^{A,64}
	Posición del aminoácido 8 (por ejemplo, R8X) ⁸⁸
	Posición del aminoácido 19 (por ejemplo, G19R) ⁵⁶
	Posición del aminoácido 24 (por ejemplo, K24X) ³⁵
35	Posición del aminoácido 25 (por ejemplo, S25X) ^{5,14}

5	Posición del aminoácido 26 (por ejemplo, Y26Ifs*7) ³⁸
	Posición del aminoácido 36 (por ejemplo, D36D) ²⁷
	Posición del aminoácido 38 (por ejemplo, K38Rfs*24) ⁷³
	Posición del aminoácido 43 (por ejemplo, V43I) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 49 (por ejemplo, Q49X) ⁷³
10	Posición del aminoácido 50 (por ejemplo, L50S, L50W) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 52 (por ejemplo, R52W ²⁶ /R52R ²⁸)
	Posición del aminoácido 56 (por ejemplo, S56L) ⁵⁸
	Posición del aminoácido 58 (por ejemplo, D58N) ⁶²
	Posición del aminoácido 62 (por ejemplo, M62K) ⁹
15	Posición del aminoácido 66 (por ejemplo, S66N) ¹⁷
	Posición del aminoácido 68 (por ejemplo, C68Y) ⁴¹
	Posición del aminoácido 50 (por ejemplo, L50S) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 71 (por ejemplo, L71H) ⁷³
	Posición del aminoácido 74 (por ejemplo, I74R) ⁷¹
20	Posición del aminoácido 77 (por ejemplo, P77A) ⁷³
	Posición del aminoácido 87 (por ejemplo, T87R) ⁶⁷
	Posición del aminoácido 90 (por ejemplo, F90F) ^{7,27}
	Posición del aminoácido 93 (por ejemplo, Y93S ¹³ /Y93X ⁸⁸)
	Posición del aminoácido 96 (por ejemplo, E96X) ⁸⁸
25	Posición del aminoácido 97 (por ejemplo, L97X) ³⁹
	Posición del aminoácido 101 (por ejemplo, Q101Dfs*8) ⁹
	Posición del aminoácido 107 (por ejemplo, C107R) ³⁶
	Posición del aminoácido 112 (por ejemplo, I112T) ⁹
	Posición del aminoácido 114 (por ejemplo, W114R) ^{2,9}
30	Posición del aminoácido 123 (por ejemplo M123T) ⁶⁷
	Posición del aminoácido 127 (por ejemplo, T127Hfs*6) ⁵
	Posición del aminoácido 129 (por ejemplo, C129Y) ²⁵
	Posición del aminoácido 130 (por ejemplo, G130G) ⁷⁷
	Posición del aminoácido 134 (por ejemplo, I134I) ²⁸
35	Posición del aminoácido 135 (por ejemplo, E135K ^{7,13} /E135L ¹⁷)
	Posición del aminoácido 137 (por ejemplo, E137K) ⁷
	Posición del aminoácido 157 (por ejemplo, Y157C) ⁵
	Posición del aminoácido 161 (por ejemplo, C161X) ³⁹

5	Posición del aminoácido 164 (por ejemplo, V164Gfs*7 ³⁰ , V164I ⁸⁵)
	Posición del aminoácido 167 (por ejemplo, A167S ⁴ , A167V ⁷ , A167T ^{9,17})
	Posición del aminoácido 181 (por ejemplo, R181I) ³⁵
	Posición del aminoácido 182 (por ejemplo, I182K) ⁹
	Posición del aminoácido 183 (por ejemplo, M183V ⁸ /M183T ⁹)
10	Posición del aminoácido 185 (por ejemplo, M185I) ⁷³
	Posición del aminoácido 186 (por ejemplo, E186G) ^{2,7,22}
	Posición del aminoácido 188 (por ejemplo, G188W) ⁷³
	Posición del aminoácido 194 (por ejemplo, S194P) ⁷
	Posición del aminoácido 198 (por ejemplo, L198P) ⁷
15	Posición del aminoácido 199 (por ejemplo, N199Ifs*15X) ⁸⁸⁸⁸
	Posición del aminoácido 206 (por ejemplo, I206V) ²⁸
	Posición del aminoácido 212 (por ejemplo, A212T) ⁷³
	Posición del aminoácido 217 (por ejemplo, M217R) ⁸⁸
	Posición del aminoácido 225 (por ejemplo, T225P) ⁵⁷
20	Posición del aminoácido 226 (por ejemplo, S226L) ⁹
	Posición del aminoácido 232 (por ejemplo, L232Cfs*9) ⁹
	Posición del aminoácido 233 (por ejemplo, L233S) ⁸⁶
	Posición del aminoácido 238 (por ejemplo, G238V) ^{2,7}
	Posición del aminoácido 242 (por ejemplo, T242I) ^{5,7}
25	Posición del aminoácido 245 (por ejemplo, I245Tfs*26) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 256 (por ejemplo, A256G) ⁹
	Posición del aminoácido 260 (por ejemplo, G260D) ⁷
	Posición del aminoácido 269 (por ejemplo, Y269Y) ²⁷
	Posición del aminoácido 277 (por ejemplo, A277E) ⁷⁷
30	Posición del aminoácido 283 (por ejemplo, E283D) ⁷³
	Posiciones del aminoácido 212 y 283 (por ejemplo, A212T+E283D) ⁷³
	Posición del aminoácido 284 (por ejemplo, V284L ^{7,39} , V284A ⁷ , V284D ²³)
	Posición del aminoácido 297 (por ejemplo, E297G ^{1,2,5,7} , E297K ⁷)
	Posición del aminoácido 299 (por ejemplo, R299K) ²⁸
35	Posición del aminoácido 303 (por ejemplo, R303K ⁸ , R303M ⁶³ R303fsX321 ⁸³)
	Posición del aminoácido 304 (por ejemplo, Y304X) ²⁶

5	Posición del aminoácido 312 (por ejemplo, Q312H) ⁷
	Posición del aminoácido 313 (por ejemplo, R313S) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 314 (por ejemplo, W314X) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 318 (por ejemplo, K318Rfs*26) ²⁹
	Posición del aminoácido 319 (por ejemplo, G319G) ⁷
10	Posición del aminoácido 327 (por ejemplo, G327E) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 330 (por ejemplo, W330X) ²⁴
	Posición del aminoácido 336 (por ejemplo, C336S) ^{2,7}
	Posición del aminoácido 337 (por ejemplo, Y337H) ^{21,27}
	Posición del aminoácido 342 (por ejemplo, W342G) ⁵⁰
15	Posición del aminoácido 354 (por ejemplo, R354X) ⁹
	Posición del aminoácido 361 (por ejemplo, Q361X ⁵⁷ /Q361R ⁷⁴)
	Posición del aminoácido 366 (por ejemplo, V366V ²⁸ /V366D ⁵⁷)
	Posición del aminoácido 368 (por ejemplo, V368Rfs*27) ⁵
	Posición del aminoácido 374 (por ejemplo, G374S) ³
20	Posición del aminoácido 380 (por ejemplo, L380Wfs*18) ⁵
	Posición del aminoácido 382 (por ejemplo, A382G) ⁸⁸
	Posiciones del aminoácido Δ 382-388 ⁵
	Posiciones del aminoácido Δ 383-389 ⁵⁷
	Posición del aminoácido 387 (por ejemplo, R387H) ⁹
25	Posición del aminoácido 390 (por ejemplo, A390P) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 395 (por ejemplo, E395E) ²⁸
	Posición del aminoácido 404 (por ejemplo, D404G) ⁹
	Posición del aminoácido 410 (por ejemplo, G410D) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 413 (por ejemplo, L413W) ^{5,7}
30	Posición del aminoácido 415 (por ejemplo, R415X) ⁴²
	Posición del aminoácido 416 (por ejemplo, I416I) ²⁷
	Posición del aminoácido 420 (por ejemplo, I420T) ⁹
	Posición del aminoácido 423 (por ejemplo, H423R) ¹³
	Posición del aminoácido 432 (por ejemplo, R432T) ^{1,2,7}
35	Posición del aminoácido 436 (por ejemplo, K436N) ⁴⁰
	Posición del aminoácido 440 (por ejemplo, D440E) ⁸⁸
	Posición del aminoácido 444 (por ejemplo, V444A) ²
	Posición del aminoácido 454 (por ejemplo, V454X) ⁴⁹

5	Posición del aminoácido 455 (por ejemplo, G455E) ⁹
	Posición del aminoácido 457 (por ejemplo, S457Vfs*23) ⁸⁸
	Posición del aminoácido 461 (por ejemplo, K461E) ^{2,7}
	Posición del aminoácido 462 (por ejemplo, S462R) ⁸⁸
	Posición del aminoácido 463 (por ejemplo, T463I) ^{5,7}
10	Posición del aminoácido 466 (por ejemplo, Q466K) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 470 (por ejemplo, R470Q ^{5,7} /R470X ⁹)
	Posición del aminoácido 471 (por ejemplo, Y472X) ⁵
	Posición del aminoácido 472 (por ejemplo, Y472C ^{5,27} /Y472X ¹⁴)
	Posición del aminoácido 473 (por ejemplo, D473Q ³⁵ /D473V ⁸⁸)
15	Posición del aminoácido 475 (por ejemplo, C475X) ²⁹
	Posición del aminoácido 481 (por ejemplo, V481E) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 482 (por ejemplo, D482G) ^{2,5,7}
	Posición del aminoácido 484 (por ejemplo, H484Rfs*5) ⁹
	Posición del aminoácido 487 (por ejemplo, R487H ² /R487P ⁵)
20	Posición del aminoácido 490 (por ejemplo, N490D) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 493 (por ejemplo, W493X) ⁸
	Posición del aminoácido 496 (por ejemplo, D496V) ⁸⁸
	Posición del aminoácido 498 (por ejemplo, I498T) ^{2,7}
	Posición del aminoácido 499 (por ejemplo, G499E) ⁷³
25	Posición del aminoácido 501 (por ejemplo, V501G) ⁶⁸
	Posición del aminoácido 504 (por ejemplo, E504K) ⁷⁹
	Posición del aminoácido 510 (por ejemplo, T510T) ⁷
	Posición del aminoácido 512 (por ejemplo, I512T) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 515 (por ejemplo, N515T ^{5,7} /N515D ⁶⁴)
30	Posición del aminoácido 516 (por ejemplo, I516M) ¹⁷
	Posición del aminoácido 517 (por ejemplo, R517H) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 520 (por ejemplo, R520X) ⁵
	Posición del aminoácido 523 (por ejemplo, A523G) ¹³
	Posición del aminoácido 528 (por ejemplo, I528Sfs*21 ⁵ , I528X ⁹ , I528T ⁷³)
35	Posición del aminoácido 535 (por ejemplo, A535A ⁷ /A535X ⁸⁹)
	Posición del aminoácido 540 (por ejemplo, F540L) ⁴⁶
	Posición del aminoácido 541 (por ejemplo, I541L ^{5,7} /I541T ^{5,17})

5	Posición del aminoácido 546 (por ejemplo, Q546K ³⁹ /Q546H ⁷³)
	Posición del aminoácido 548 (por ejemplo, F548Y) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 549 (por ejemplo, D549V) ⁹
	Posición del aminoácido 554 (por ejemplo, E554K) ²¹
	Posición del aminoácido 556 (por ejemplo, G556R) ⁶⁷
10	Posición del aminoácido 558 (por ejemplo, Q558H) ²³
	Posición del aminoácido 559 (por ejemplo, M559T) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 562 (por ejemplo, G562D ^{5,7} /G562S ⁷³)
	Posición del aminoácido 570 (por ejemplo, A570T ^{2,5,7} , A570V ²⁶)
	Posición del aminoácido 575 (por ejemplo, R575X ^{2,5} /R575Q ²¹)
15	Posición del aminoácido 580 (por ejemplo, L580P) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 586 (por ejemplo, T586I) ⁷
	Posición del aminoácido 587 (por ejemplo, S587X) ⁷³
	Posición del aminoácido 588 (por ejemplo, A588V ^{5,7} /A588P ⁷³)
	Posición del aminoácido 591 (por ejemplo, N591S) ^{2,7}
20	Posición del aminoácido 593 (por ejemplo, S593R) ^{2,7}
	Posición del aminoácido 597 (por ejemplo, V597V ⁹ /V597L ¹³)
	Posición del aminoácido 603 (por ejemplo, K603K) ⁵⁵
	Posición del aminoácido 609 (por ejemplo, H609Hfs*46) ²⁶
	Posición del aminoácido 610 (por ejemplo, I610Gfs*45 ⁹ , I610T ⁵⁷) ⁹
25	Posición del aminoácido 615 (por ejemplo, H615R) ²⁶
	Posición del aminoácido 616 (por ejemplo, R616G ²⁸ /R616H ⁷³)
	Posición del aminoácido 619 (por ejemplo, T619A) ²⁸
	Posición del aminoácido 623 (por ejemplo, A623A) ²⁸
	Posición del aminoácido 625 (por ejemplo, T625Nfs*5) ²⁶
30	Posición del aminoácido 627 (por ejemplo, I627T) ⁷
	Posición del aminoácido 628 (por ejemplo, G628Wfs*3) ⁷⁰
	Posición del aminoácido 636 (por ejemplo, E636G) ²
	Posición del aminoácido 648 (por ejemplo, G648Vfs*6 ⁵ , G648V ⁵⁰)
	Posición del aminoácido 655 (por ejemplo, T655I) ⁷
35	Posición del aminoácido 669 (por ejemplo, I669V) ²⁶
	Posición del aminoácido 676 (por ejemplo, D676Y) ¹¹
	Posición del aminoácido 677 (por ejemplo, M677V) ^{7,13}
	Posición del aminoácido 679 (por ejemplo, A679V) ⁵⁸

5	Posición del aminoácido 685 (por ejemplo, G685W) ⁶⁰
	Posición del aminoácido 696 (por ejemplo, R696W ²⁷ /R696Q ⁵⁸)
	Posición del aminoácido 698 (por ejemplo, R698H ^{7,9} , R698K ⁶¹ , R698C ⁸⁸)
	Posición del aminoácido 699 (por ejemplo, S699P) ⁹
	Posición del aminoácido 701 (por ejemplo, S701P) ⁵⁸
10	Posición del aminoácido 702 (por ejemplo, Q702X) ⁸⁹
	Posición del aminoácido 709 (por ejemplo, E709K) ⁷
	Posición del aminoácido 710 (por ejemplo, P710P) ⁷
	Posición del aminoácido 712 (por ejemplo, L712L) ²⁸
	Posición del aminoácido 721 (por ejemplo, Y721C) ⁸⁸
15	Posición del aminoácido 729 (por ejemplo, D724N) ³⁹
	Posición del aminoácido 731 (por ejemplo, P731S) ²³
	Posición del aminoácido 740 (por ejemplo, P740Qfs*6) ⁷³
	Posición del aminoácido 758 (por ejemplo, G758R) ⁵
	Posición del aminoácido 766 (por ejemplo, G766R) ^{5,24}
20	Posición del aminoácido 772 (por ejemplo, Y772X) ⁵
	Posición del aminoácido 804 (por ejemplo, A804A) ⁷
	Posición del aminoácido 806 (por ejemplo, G806D ⁴⁴ /G806G ⁵⁵)
	Posición del aminoácido 809 (por ejemplo, S809F) ⁸¹
	Posición del aminoácido 817 (por ejemplo, G817G) ⁸⁸
25	Posición del aminoácido 818 (por ejemplo, Y818F) ⁷
	Posición del aminoácido 824 (por ejemplo, G824E) ⁴²
	Posición del aminoácido 825 (por ejemplo, G825G) ⁷³
	Posición del aminoácido 830 (por ejemplo, R830Gfs*28) ⁷³
	Posición del aminoácido 832 (por ejemplo, R832C ^{7,26} /R832H ⁴¹)
30	Posición del aminoácido 842 (por ejemplo, D842G) ²
	Posición del aminoácido 848 (por ejemplo, D848N) ⁷³
	Posición del aminoácido 855 (por ejemplo, G855R) ¹¹
	Posición del aminoácido 859 (por ejemplo, T859R) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 865 (por ejemplo, A865V) ²⁷
35	Posición del aminoácido 866 (por ejemplo, S866A) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 868 (por ejemplo, V868D) ⁷³
	Posición del aminoácido 869 (por ejemplo, Q869P) ⁷³

5	Posición del aminoácido 875 (por ejemplo, Q875X) ⁷³
	Posición del aminoácido 877 (por ejemplo, G877R) ⁵⁶
	Posición del aminoácido 879 (por ejemplo, I879R) ⁸⁸
	Posición del aminoácido 893 (por ejemplo, A893V) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 901 (por ejemplo, S901R ¹⁷ /S901I ⁷³)
10	Posición del aminoácido 903 (por ejemplo, V903G) ⁵⁷
	Posición del aminoácido Δ 919 ¹²
	Posición del aminoácido 923 (por ejemplo, T923P) ^{2,7}
	Posición del aminoácido 926 (por ejemplo, A926P) ^{2,7}
	Posición del aminoácido 928 (por ejemplo, R928X ¹⁵ /R928Q ⁴⁰)
15	Posición del aminoácido 930 (por ejemplo, K930X ⁵ , K930Efs*79 ^{5,10} , K930Efs*49 ²⁶)
	Posición del aminoácido 931 (por ejemplo, Q931P) ²⁷
	Posición del aminoácido 945 (por ejemplo, S945N) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 948 (por ejemplo, R948C) ^{5,7,26}
	Posición del aminoácido 958 (por ejemplo, R958Q) ²⁸
20	Posición del aminoácido 969 (por ejemplo, K969K) ⁸⁸
	Posiciones del aminoácido Δ 969-972 ⁵
	Posición del aminoácido 973 (por ejemplo, T973I) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 976 (por ejemplo, Q976R ⁵⁸ /Q976X ⁸⁸)
	Posición del aminoácido 979 (por ejemplo, N979D) ^{5,7}
25	Posición del aminoácido 981 (por ejemplo, Y981Y) ²⁸
	Posición del aminoácido 982 (por ejemplo, G982R) ^{2,5,7}
	Posiciones del aminoácido 444 y 982 (por ejemplo, V444A+G982R) ³⁸
	Posición del aminoácido 995 (por ejemplo, A995A) ²⁸
	Posición del aminoácido 1001 (por ejemplo, R1001R) ⁹
30	Posición del aminoácido 1003 (por ejemplo, G1003R) ²⁴
	Posición del aminoácido 1004 (por ejemplo, G1004D) ^{2,7}
	Posición del aminoácido 1027 (por ejemplo, S1027R) ²⁶
	Posición del aminoácido 1028 (por ejemplo, A1028A ^{7,10,88} , A1028E ⁸⁸)
	Posición del aminoácido 1029 (por ejemplo, T1029K) ⁵
35	Posición del aminoácido 1032 (por ejemplo, G1032R) ¹²
	Posición del aminoácido 1041 (por ejemplo, Y1041X) ⁹
	Posición del aminoácido 1044 (por ejemplo, A1044P) ⁸⁸

5	Posición del aminoácido 1050 (por ejemplo, R1050C) ^{2,7,57}
	Posición del aminoácido 1053 (por ejemplo, Q1053X) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 1055 (por ejemplo, L1055P) ³⁶
	Posición del aminoácido 1057 (por ejemplo, R1057X ² /R1057Q ⁵⁸)
	Posición del aminoácido 1058 (por ejemplo, Q1058Hfs*38 ⁹ , Q1058fs*38 ¹⁷ , Q1058X ⁷³)
10	Posición del aminoácido 1061 (por ejemplo, I1061Vfs*34) ⁹
	Posición del aminoácido 1083 (por ejemplo, C1083Y) ⁴⁷
	Posición del aminoácido 1086 (por ejemplo, T1086T) ²⁸
	Posición del aminoácido 1090 (por ejemplo, R1090X) ^{2,5}
	Posición del aminoácido 1099 (por ejemplo, L1099Lfs*38) ²⁶
15	Posición del aminoácido 1100 (por ejemplo, S1100Qfs*38) ¹³
	Posición del aminoácido 1110 (por ejemplo, A1110E) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 1112 (por ejemplo, V1112F) ⁷⁰
	Posición del aminoácido 1116 (por ejemplo, G1116R ⁷ , G1116F ^{9,17} , G1116E ³⁶)
	Posición del aminoácido 1120 (por ejemplo, S1120N) ⁸⁸
20	Posición del aminoácido 1128 (por ejemplo, R1128H ^{2,7} , R1128C ^{5,7,13})
	Posición del aminoácido 1131 (por ejemplo, D1131V) ²⁷
	Posición del aminoácido 1144 (por ejemplo, S1144R) ⁷
	Posición del aminoácido 1147 (por ejemplo, V1147X) ⁵
	Posición del aminoácido 1153 (por ejemplo, R1153C ^{2,5,7} , R1153H ⁵)
25	Posición del aminoácido 1154 (por ejemplo, S1154P) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 1162 (por ejemplo, E1162X) ³⁹
	Posición del aminoácido Δ 1165 ⁸⁸
	Posición del aminoácido 1164 (por ejemplo, V1164Gfs*7)
	Posición del aminoácido 1173 (por ejemplo, N1173D) ⁵⁷
30	Posición del aminoácido 1175 (por ejemplo, K1175T) ⁵⁸
	Posición del aminoácido 1186 (por ejemplo, E1186K) ⁷
	Posición del aminoácido 1192 (por ejemplo, A1192Efs*50) ⁹
	Posición del aminoácido 1196 (por ejemplo, Q1196X) ⁸⁸
	Posición del aminoácido 1197 (por ejemplo, L1197G) ⁷
35	Posición del aminoácido 1198 (por ejemplo, H1198R) ²⁷
	Posición del aminoácido 1204 (por ejemplo, L1204P) ⁸⁸

5	Posición del aminoácido 1208 (por ejemplo Y1208C) ⁷³
	Posición del aminoácido 1210 (por ejemplo, T1210P ^{5,7} /T1210F ⁵⁷)
	Posición del aminoácido 1211 (por ejemplo, N1211D) ⁷
	Posición del aminoácido 1212 (por ejemplo, V1212F) ³⁶
	Posición del aminoácido 1215 (por ejemplo, Q1215X) ⁵
10	Posición del aminoácido 1221 (por ejemplo, R1221K) ⁵³
	Posición del aminoácido 1223 (por ejemplo, E1223D) ⁷
	Posición del aminoácido 1226 (por ejemplo, R1226P) ⁷³
	Posición del aminoácido 1228 (por ejemplo, A1228V) ⁷
	Posición del aminoácido 1231 (por ejemplo, R1231W ^{5,7} /R1231Q ^{5,7})
15	Posición del aminoácido 1232 (por ejemplo, A1232D) ¹⁷
	Posición del aminoácido 1235 (por ejemplo, R1235X) ^{5,12}
	Posición del aminoácido 1242 (por ejemplo, L1242I) ^{5,7}
	Posición del aminoácido 1243 (por ejemplo, D1243G) ⁶⁷
	Posición del aminoácido 1249 (por ejemplo, L1249X) ⁷³
20	Posición del aminoácido 1256 (por ejemplo, T1256fs*1296) ⁸³
	Posición del aminoácido 1268 (por ejemplo, R1268Q) ^{2,7}
	Posición del aminoácido 1276 (por ejemplo, R1276H) ³⁰
	Posición del aminoácido 1283 (por ejemplo, A1283A ²⁸ /A1283V ⁸⁸)
	Posición del aminoácido 1292 (por ejemplo, G1292V) ⁷³
25	Posición del aminoácido 1298 (por ejemplo, G1298R) ⁵
	Posición del aminoácido 1302 (por ejemplo, E1302X) ⁵
	Posición del aminoácido 1311 (por ejemplo, Y1311X) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 1316 (por ejemplo, T1316Lfs*64) ¹⁵
	Posición del aminoácido 1321 (por ejemplo, S1321N) ⁵⁷
30	Intrón 4 ((+3)A>C) ¹
	IVS4-74A>T ⁸⁹
	Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 5 c.3901G>A ⁵
	Mutación del sitio de empalme 5; Intrón 7 c.6111G>A ⁵
	Mutación del sitio de empalme IVS7+1G>A ¹⁴
35	IVS7+5G>A ⁴⁰
	IVS8+1G>C ⁷⁶
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 9 c.9081delG ⁵
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 9 c.9081G>T ⁵

5	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 9 c.9081G>A ⁵
	Mutación del sitio de empalme IVS9+1G>T ¹⁴
	Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 13 c.143513_1435-8del ⁵
	Mutación del sitio de empalme IVS13del-13^8 ¹⁴
	Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 16 c.20128T>G ⁵
10	Mutación del sitio de empalme IVS16-8T>G ¹⁴
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 18 c.21781G>T ⁵
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 18 c.21781G>A ⁵
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 18 c.21781G>C ⁵
	Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 18 c.21792A>G ⁵
15	Mutación del sitio de empalme IVS18+1G>A ¹⁴
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 19 c.2343+1G>T ⁵
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 19 c.2343+2T>C ⁵
	Mutación del sitio de empalme IVS19+2T>C ¹⁴
	Mutación del sitio de empalme IVS19+1G>A ²²
20	Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 21 c.26112A>T ⁵
	IVS22+3A>G ⁸⁹
	IVS 23-8 G-A ³⁶
	IVS24+5G>A ⁵¹
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 24 c.32131delG ⁵
25	IVS35-6C>G ⁸⁹
	Mutación putativa de empalme 1198-1G>C ¹⁷
	Mutación putativa de empalme 1810-3C>G ¹⁷
	Mutación putativa de empalme 2178+1G>A ¹⁷
	Mutación putativa de empalme 2344-1G>T ¹⁷
30	Mutación putativa de empalme c.2611-2A>T ³⁹
	Mutación putativa de empalme 3213+1_3213+2delinsA ¹⁷
	c.-24C>A ^{44,78}
	c.76 13 G>T ⁹
	c.77-19T>A ⁵²
35	c.90_93delGAAA ¹⁸
	c.124G>A ⁶⁹
	c.150 +3 A>C ¹⁰
	174C>T ⁵⁴

	c.245T>C ⁸⁷
	c.249_250insT ¹⁸
	270T>C ⁵⁴
	402C>T ⁵⁴
5	585G>C ⁵⁴
	c.611+1G>A ⁷⁰
	c.611+4A>G ³⁶
	c.612-15_-6del10bp ⁵⁵
10	c.625A>C ³¹
	c.627+5G>T ³¹
	c.625A>C/ c.627+5G>T ³¹
	696G>T ⁵⁴
	c. 784+1G>C ⁴⁹
15	807T>C ⁵⁴
	c.886C>T ³¹
	c.890A>G ⁵⁹
	c.908+1G>A ⁵⁷
	c.908+5G>A ⁵⁵
20	c.908delG ⁵⁹
	c.909-15A>G ⁶⁶
	957A>G ⁵⁴
	c.1084-2A>G ⁵⁷
	1145 1bp delección ⁹⁰
25	1281C>T ^{54,57}
	c.1309-165C > T ¹⁹
	c.1434 + 174G > A ¹⁹
	c.1434 + 70C > T ¹⁹
	c.1530C>A ⁵⁷
30	c.1587-1589delCTT ³¹
	c.1621A>C ^{33,59}
	c.1638+32T>C ⁶⁶
	c.1638+80C>T ⁶⁶
	1671C>T ⁵⁴
35	1791G>T ⁵⁴

5	1939delA ¹⁴
	c.2075+3A>G ⁵³
	c.2081T>A ³¹
	c.2093G>A ⁶⁵
	2098delA ¹⁶
10	c.2138-8T>G ⁶⁷
	2142A>G ⁵⁴
	c.2178+1G>T ^{36,39}
	c.2179-17C>A ⁶⁶
	c.2344-157T>G ⁶⁶
15	c.2344-17T>C ⁶⁶
	c.2417G>A ⁷⁸
	c.2541delG ⁸⁷
	c.2620C>T ^{32,33}
	c.2815-8A>G ⁵⁵
20	c.3003A>G ³⁷
	c.3084A>G ^{48,54}
	c.3213 +4 A>G ^{9,37}
	c.3213 +5 G>A ⁹
	c.3268C>T ⁷⁵
25	3285A>G ⁵⁴
	c.3382C>T ⁷⁵
	3435A>G ⁵⁴
	c.3491delT ⁷²
	c.3589C>T ⁵⁷
30	c.3765(+1 +5)del5 ⁴²
	c.3766-34A>G ⁶⁶
	c.3767-3768insC ⁶
	c.3770delA ⁶⁷
	c.3826C>T ⁷²
35	c.3846C>T ⁵⁷
	c.3929delG ⁶⁷
	c.*236A>G ⁶⁶
	1145delC ⁸

Ex13_Ex17del⁸²**Tabla 4. Mutaciones seleccionadas de ABCB11 asociadas con PFIC-2**

5	Posición del aminoácido 1 (por ejemplo, M1V) ⁹
	Posición del aminoácido 4 (por ejemplo, S4X) ⁶⁴
	Posición del aminoácido 19 (por ejemplo, G19R) ⁵⁶
	Posición del aminoácido 25 (por ejemplo, S25X) ¹⁴
	Posición del aminoácido 26 (por ejemplo, Y26Ifs*7) ³⁸
10	Posición del aminoácido 50 (por ejemplo, L50S) ^{7,57}
	Posición del aminoácido 52 (por ejemplo, R52W) ²⁶
	Posición del aminoácido 58 (por ejemplo, D58N) ⁶²
	Posición del aminoácido 62 (por ejemplo, M62K) ⁹
	Posición del aminoácido 66 (por ejemplo, S66N) ¹⁷
15	Posición del aminoácido 68 (por ejemplo, C68Y) ⁴¹
	Posición del aminoácido 93 (por ejemplo, Y93S) ¹³
	Posición del aminoácido 101 (por ejemplo, Q101Dfs*8) ⁹
	Posición del aminoácido 107 (por ejemplo, C107R) ³⁶
	Posición del aminoácido 112 (por ejemplo, I112T) ⁹
20	Posición del aminoácido 114 (por ejemplo, W114R) ^{2,9}
	Posición del aminoácido 129 (por ejemplo, C129Y) ²⁵
	Posición del aminoácido 135 (por ejemplo, E135K ¹³ /E135L ¹⁷)
	Posición del aminoácido 167 (por ejemplo, A167V ⁷ /A167T ^{9,17})
	Posición del aminoácido 182 (por ejemplo, I182K) ⁹
25	Posición del aminoácido 183 (por ejemplo, M183V ⁸ /M183T ⁹)
	Posición del aminoácido 225 (por ejemplo, T225P) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 226 (por ejemplo, S226L) ⁹
	Posición del aminoácido 232 (por ejemplo, L232Cfs*9) ⁹
	Posición del aminoácido 233 (por ejemplo, L233S) ⁸⁶
30	Posición del aminoácido 238 (por ejemplo, G238V) ^{2,7}
	Posición del aminoácido 242 (por ejemplo, T242I) ⁷
	Posición del aminoácido 245 (por ejemplo, I245Tfs*26) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 256 (por ejemplo, A256G) ⁹
	Posición del aminoácido 260 (por ejemplo, G260D) ⁵⁷
35	Posición del aminoácido 284 (por ejemplo, V284L) ⁷

5	Posición del aminoácido 297 (por ejemplo, E297G) ^{2,7}
	Posición del aminoácido 303 (por ejemplo, R303K ⁸ , R303M ⁶³ , R303fsX321 ⁸³)
	Posición del aminoácido 304 (por ejemplo, Y304X) ²⁶
	Posición del aminoácido 312 (por ejemplo, Q312H) ⁷
	Posición del aminoácido 313 (por ejemplo, R313S) ⁷
10	Posición del aminoácido 314 (por ejemplo, W314X) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 318 (por ejemplo, K318Rfs*26) ²⁹
	Posición del aminoácido 327 (por ejemplo, G327E) ⁷
	Posición del aminoácido 330 (por ejemplo, V330X) ²⁴
	Posición del aminoácido 336 (por ejemplo, C336S) ^{2,7}
15	Posición del aminoácido 337 (por ejemplo, Y337H) ²¹
	Posición del aminoácido 342 (por ejemplo, W342G) ⁵⁰
	Posición del aminoácido 354 (por ejemplo, R354X) ⁹
	Posición del aminoácido 361 (por ejemplo, Q361X) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 366 (por ejemplo, V366D) ⁵⁷
20	Posición del aminoácido 386 (por ejemplo, G386X) ³⁴
	Posiciones del aminoácido Δ 383-389 ⁵⁷
	Posición del aminoácido 387 (por ejemplo, R387H) ⁹
	Posición del aminoácido 390 (por ejemplo, A390P) ⁷
	Posición del aminoácido 410 (por ejemplo, G410D) ⁷
25	Posición del aminoácido 413 (por ejemplo, L413W) ⁷
	Posición del aminoácido 415 (por ejemplo, R415X) ⁴²
	Posición del aminoácido 420 (por ejemplo, I420T) ⁹
	Posición del aminoácido 454 (por ejemplo, V454X) ⁴⁹
	Posición del aminoácido 455 (por ejemplo, G455E) ⁹
30	Posición del aminoácido 461 (por ejemplo, K461E) ^{2,7}
	Posición del aminoácido 463 (por ejemplo, T463I) ⁷
	Posición del aminoácido 466 (por ejemplo, Q466K) ⁷
	Posición del aminoácido 470 (por ejemplo, R470Q ⁷ /R470X ⁹)
	Posición del aminoácido 472 (por ejemplo, Y472X ¹⁴ /Y472C ²⁷)
35	Posición del aminoácido 475 (por ejemplo, C475X) ²⁹
	Posición del aminoácido 481 (por ejemplo, V481E) ⁷
	Posición del aminoácido 482 (por ejemplo, D482G) ^{2,7}

5	Posición del aminoácido 484 (por ejemplo, H484Rfs*5) ⁹
	Posición del aminoácido 487 (por ejemplo, R487H ² /R487P ⁸⁴)
	Posición del aminoácido 490 (por ejemplo, N490D) ⁷
	Posición del aminoácido 493 (por ejemplo, W493X) ⁸
	Posición del aminoácido 498 (por ejemplo, I498T) ⁷
10	Posición del aminoácido 501 (por ejemplo, V501G) ⁶⁸
	Posición del aminoácido 512 (por ejemplo, I512T) ⁷
	Posición del aminoácido 515 (por ejemplo, N515T ⁷ /N515D ⁶⁴)
	Posición del aminoácido 516 (por ejemplo, I516M) ¹⁷
	Posición del aminoácido 517 (por ejemplo, R517H) ⁷
15	Posición del aminoácido 520 (por ejemplo, R520X) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 523 (por ejemplo, A523G) ¹³
	Posición del aminoácido 528 (por ejemplo, I528X) ⁹
	Posición del aminoácido 540 (por ejemplo, F540L) ⁴⁶
	Posición del aminoácido 541 (por ejemplo, I541L ⁷ /I541T ¹⁷)
20	Posición del aminoácido 548 (por ejemplo, F548Y) ⁷
	Posición del aminoácido 549 (por ejemplo, D549V) ⁹
	Posición del aminoácido 554 (por ejemplo, E554K) ²¹
	Posición del aminoácido 559 (por ejemplo, M559T) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 562 (por ejemplo, G562D) ⁷
25	Posición del aminoácido 570 (por ejemplo, A570T ⁷ /A570V ²⁶)
	Posición del aminoácido 575 (por ejemplo, R575X ² /R575Q ²¹)
	Posición del aminoácido 588 (por ejemplo, A588V) ⁷
	Posición del aminoácido 591 (por ejemplo, N591S) ^{9,17}
	Posición del aminoácido 593 (por ejemplo, S593R) ^{2,7}
30	Posición del aminoácido 597 (por ejemplo, V597V ⁹ /V597L ¹³)
	Posiciones del aminoácido 591 y 597 (por ejemplo, N591S+V597V) ⁹
	Posición del aminoácido 603 (por ejemplo, K603K) ⁵⁵
	Posición del aminoácido 609 (por ejemplo, H609Hfs*46) ²⁶
	Posición del aminoácido 610 (por ejemplo, I610Gfs*45) ⁹
35	Posición del aminoácido 615 (por ejemplo, H615R) ²⁶
	Posición del aminoácido 625 (por ejemplo, T625Nfs*5) ²⁶
	Posición del aminoácido 627 (por ejemplo, I627T) ⁷
	Posición del aminoácido 636 (por ejemplo, E636G) ²

5	Posición del aminoácido 669 (por ejemplo, I669V) ²⁶
	Posición del aminoácido 698 (por ejemplo, R609H) ⁹
	Posiciones del aminoácido 112 y 698 (por ejemplo, I112T+R698H) ⁹
	Posición del aminoácido 699 (por ejemplo, S699P) ⁹
	Posición del aminoácido 766 (por ejemplo, G766R) ²⁴
10	Posición del aminoácido 806 (por ejemplo, G806G) ⁵⁵
	Posición del aminoácido 824 (por ejemplo, G824E) ⁴²
	Posición del aminoácido 832 (por ejemplo, R832C ^{7,26} /R832H ⁴¹)
	Posición del aminoácido 842 (por ejemplo, D842G) ²
	Posición del aminoácido 859 (por ejemplo, T859R) ⁷
15	Posición del aminoácido 865 (por ejemplo, A865V) ⁴⁵
	Posición del aminoácido 877 (por ejemplo, G877R) ⁵⁶
	Posición del aminoácido 893 (por ejemplo, A893V) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 901 (por ejemplo, S901R) ¹⁷
	Posición del aminoácido 903 (por ejemplo, V903G) ⁵⁷
20	Posición del aminoácido Δ 919 ¹²
	Posición del aminoácido 928 (por ejemplo, R928X) ^{15,21}
	Posición del aminoácido 930 (por ejemplo, K930Efs*79 ¹⁰ , K930Efs*49 ²⁶)
	Posición del aminoácido 948 (por ejemplo, R948C) ^{7,26}
	Posición del aminoácido 979 (por ejemplo, N979D) ⁷
25	Posición del aminoácido 982 (por ejemplo, G982R) ^{2,7}
	Posiciones del aminoácido 444 y 982 (por ejemplo, V444A+G982R) ³⁸
	Posición del aminoácido 1001 (por ejemplo, R1001R) ⁹
	Posición del aminoácido 1003 (por ejemplo, G1003R) ²⁴
	Posición del aminoácido 1004 (por ejemplo, G1004D) ^{2,7}
30	Posición del aminoácido 1027 (por ejemplo, S1027R) ²⁶
	Posición del aminoácido 1028 (por ejemplo, A1028A) ¹⁰
	Posición del aminoácido 1032 (por ejemplo, G1032R) ¹²
	Posición del aminoácido 1041 (por ejemplo, Y1041X) ⁹
	Posición del aminoácido 1050 (por ejemplo, R1050C) ⁵⁷
35	Posición del aminoácido 1053 (por ejemplo, Q1053X) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 1055 (por ejemplo, L1055P) ³⁶
	Posición del aminoácido 1057 (por ejemplo, R1057X) ²

5	Posición del aminoácido 1058 (por ejemplo, Q1058Hfs*38 ⁹ , Q1058fs*38 ¹⁷)
	Posición del aminoácido 1061 (por ejemplo, I1061Vfs*34) ⁹
	Posición del aminoácido 1083 (por ejemplo, C1083Y) ⁴⁷
	Posición del aminoácido 1090 (por ejemplo, R1090X) ²
	Posición del aminoácido 1099 (por ejemplo, L1099Lfs*38) ²⁶
10	Posición del aminoácido 1100 (por ejemplo, S1100Qfs*38) ¹³
	Posición del aminoácido 1110 (por ejemplo, A1110E) ⁷
	Posición del aminoácido 1116 (por ejemplo, G1116R ⁷ , G1116F ^{9,17} , G1116E ³⁶)
	Posición del aminoácido 1128 (por ejemplo, R1128C) ^{7,13}
	Posición del aminoácido 1131 (por ejemplo, D1131V) ²⁷
15	Posición del aminoácido 1144 (por ejemplo, S1144R) ⁷
	Posición del aminoácido 1153 (por ejemplo, R1153C ^{2,7} /R1153H ^{7,26})
	Posición del aminoácido 1154 (por ejemplo, S1154P) ⁷
	Posición del aminoácido 1173 (por ejemplo, N1173D) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 1192 (por ejemplo, A1192Efs*50) ⁹
20	Posición del aminoácido 1198 (por ejemplo, H1198R) ²⁷
	Posición del aminoácido 1210 (por ejemplo, T1210P ⁷ /T1210F ⁵⁷)
	Posición del aminoácido 1211 (por ejemplo, N1211D) ⁷
	Posición del aminoácido 1212 (por ejemplo, V1212F) ³⁶
	Posición del aminoácido 1231 (por ejemplo, R1231W ⁷ /R1223Q ⁷)
25	Posición del aminoácido 1232 (por ejemplo, A1232D) ¹⁷
	Posición del aminoácido 1235 (por ejemplo, R1235X) ¹²
	Posición del aminoácido 1242 (por ejemplo, L1242I) ⁷
	Posición del aminoácido 1256 (por ejemplo, T1256fs*1296) ⁸³
	Posición del aminoácido 1268 (por ejemplo, R1268Q) ^{2,7}
30	Posición del aminoácido 1302 (por ejemplo E1302X) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 1311 (por ejemplo, Y1311X) ⁵⁷
	Posición del aminoácido 1316 (por ejemplo, T1316Lfs*64) ¹⁵
	Intrón 4 ((+3)A>C) ¹
	Mutación del sitio de empalme IVS7+1G>A ¹⁴
35	IVS8+1G>C ⁷⁶
	Mutación del sitio de empalme IVS9+1G>T ¹⁴

5	Mutación del sitio de empalme IVS13del-13 [^] -8 ¹⁴
	Mutación del sitio de empalme IVS16-8T>G ¹⁴
	Mutación del sitio de empalme IVS18+1G>A ¹⁴
	Mutación del sitio de empalme IVS19+2T>C ¹⁴
	IVS 23-8 G-A ³⁶
10	IVS24+5G>A ⁵¹
	Mutación putativa de empalme 1198-1G>C ¹⁷
	Mutación putativa de empalme 1810-3C>G ¹⁷
	Mutación putativa de empalme 2178+1G>A ¹⁷
	Mutación putativa de empalme 2344-1G>T ¹⁷
15	Mutación putativa de empalme 3213+1_3213+2delinsA ¹⁷
	c.-24C>A ⁷⁸
	c.76 13 G>T ⁹
	c.77-19T>A ⁵²
	c.90_93delGAAA ¹⁸
20	c.124G>A ⁶⁹
	c.150 +3 A>C ¹⁰
	c.249_250insT ¹⁸
	c.611+1G>A ⁸⁴
	c.611+4A>G ³⁶
25	c.612-15_-6del10bp ⁵⁵
	c.625A>C ³¹
	c.627+5G>T ³¹
	c.625A>C/ c.627+5G>T ³¹
	c.886C>T ³¹
30	c.890A>G ⁵⁹
	c.908+1G>A ⁵⁷
	c.908+5G>A ⁵⁵
	c.908delG ⁵⁹
	1273 1bp delección ⁹¹
35	c.1084-2A>G ⁵⁷
	c.1445A>G ⁵⁹
	c.1587-1589delCTT ³¹
	c.1621A>C ⁵⁹

	1939delA ¹⁴
	c.2081T>A ³¹
	2098delA ¹⁶
5	c.2343+1 G>T ⁸⁰
	c.2178+1G>T ³⁶
	c.2417G>A ⁷⁸
	c.2620C>T ³²
	c.2815-8A>G ⁵⁵
10	c.3003A>G ³⁷
	c.3213 +4 A>G ^{9,37}
	c.3213 +5 G>A ⁹
	c.3268C>T ⁷⁵
	c.3382C>T ⁷⁵
15	c.3765(+1 +5)del5 ⁴²
	c.3767-3768insC ⁶
	1145delC ⁸
	Ex13_Ex17del ⁸²

^A Una mutación para 'X' denota un codón de terminación temprana

Referencias para las Tablas 3 y 4

- 20 ¹ Noe et al., J Hepatol. 2005, vol. 43(3), p. 536-543.
- ² Lam et al., Am J Physiol Cell Physiol. 2007, vol. 293(5), p. C1709-16.
- ³ Stindt et al., Liver Int. 2013, vol. 33(10), p. 1527-1735.
- ⁴ Gao et al., Shandong Yiyao 2012, vol. 52(10), p. 14-16.
- 25 ⁵ Strautnieks et al., Gastroenterology. 2008, vol. 134(4), p. 1203-1214.
- ⁶ Kagawa et al., Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008, vol. 294(1), p. G58-67.
- ⁷ Byrne et al., Hepatology. 2009, vol. 49(2), p. 553-567.
- ⁸ Chen et al., J Pediatr. 2008, vol. 153(6), p. 825-832.
- ⁹ Davit-Spraul et al., Hepatology 2010, vol. 51(5), p. 1645-1655.
- 30 ¹⁰ Dröge et al., Sci Rep. 2016, vol. 6: 24827.
- ¹¹ Lang et al., Pharmacogenet Genomics. 2007, vol. 17(1), p. 47-60.
- ¹² Ellinger et al., World J Gastroenterol. 2017, vol. 23(29), p. :5295-5303.
- ¹³ Vitale et al., J Gastroenterol. 2018, vol. 53(8), p. 945-958.
- ¹⁴ Knisely et al., Hepatology. 2006, vol. 44(2), p. 478-86.
- 35 ¹⁵ Ellis et al., Hepatology. 2018, vol. 67(4), p. 1531-1545.
- ¹⁶ Lam et al., J Hepatol. 2006, vol. 44(1), p. 240-242.

- 17 Varma et al., *Hepatology* 2015, vol. 62(1), p. 198-206.
- 18 Treepongkaruna et al., *World J Gastroenterol.* 2009, vol. 15(34), p. 4339-4342.
- 19 Zarenezhad et al., *Hepatitis Monthly*: 2017, vol. 17(2); e43500.
- 20 Hayashi et al., *Hepatol Res.* 2016, vol. 46(2), p. 192-200.
- 5 21 Guorui et al., *Linchuang Erke Zazhi* 2013, vol. 31(10), 905-909.
- 22 van Mil et al., *Gastroenterology.* 2004, vol. 127(2), p. 379-384.
- 23 Anzivino et al., *Dig Liver Dis.* 2013, vol. 45(3), p. 226-232.
- 24 Park et al., *World J Gastroenterol.* 2016, vol. 22(20), p. 4901-4907.
- 25 Imagawa et al., *J Hum Genet.* 2018, vol. 63(5), p. 569-577.
- 10 26 Giovannoni et al., *PLoS One.* 2015, vol. 10(12): e0145021.
- 27 Hu et al., *Mol Med Rep.* 2014, vol. 10(3), p. 1264-1274.
- 28 Lang et al., *Drug Metab Dispos.* 2006, vol. 34(9), p. 1582-1599.
- 29 Masahata et al., *Transplant Proc.* 2016, vol. 48(9), p. 3156-3162.
- 30 Holz et al., *Hepatol Commun.* 2018, vol. 2(2), p. 152-154.
- 15 31 Li et al., *Hepatology International* 2017, vol. 11, No. 1, Supp. Suplemento 1, pp. S180.
Número abstracto: OP284.
- 32 Francalanci et al., *Laboratory Investigation* 2011, vol. 91, Supp. SUPPL. 1, pp. 360A.
Número abstracto: 1526.
- 33 Francalanci et al., *Digestive and Liver Disease* 2010, vol. 42, Supp. SUPPL. 1, pp.
- 20 S16. Número abstracto: T.N.5.
- 34 Shah et al., *J Pediatr Genet.* 2017, vol. 6(2), p. 126-127.
- 35 Gao et al., *Hepatitis Monthly* 2017, vol. 17(10), e55087/1-e55087/6.
- 36 Evason et al., *Am J Surg Pathol.* 2011, vol. 35(5), p. 687-696.
- 37 Davit-Spraul et al., *Mol Genet Metab.* 2014, vol. 113(3), p. 225-229.
- 25 38 Maggiore et al., *J Hepatol.* 2010, vol. 53(5), p. 981-6.
- 39 McKay et al., *Version 2. F1000Res.* 2013; 2: 32. DOI: 10.12688/f1000research.2-32.v2
- 40 Liu et al., *Pediatr Int.* 2013, vol. 55(2), p. 138-144.
- 41 Waisbourd-Zinman et al., *Ann Hepatol.* 2017, vol. 16(3), p. 465-468.
- 42 Griffin, et al., *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2016, vol. 2016.
- 30 Número abstracto: A200. Información de la reunión: 2016 Canadian Digestive Diseases Week, CDDW 2016. Montreal, QC, Estados Unidos 26 Feb 2016-29 Feb 2016
- 43 Qiu et al., *Hepatology* 2017, vol. 65(5), p. 1655-1669.
- 44 Imagawa et al., *Sci Rep.* 2017, 7:41806.
- 45 Kang et al., *J Pathol Transl Med.* 2019 May 16. doi: 10.4132/jptm.2019.05.03.
- 35 [Publicación electrónica antes de la impresión]
- 46 Takahashi et al., *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007, vol. 19(11), p. 942-6.

- ⁴⁷ Shimizu et al., *Am J Transplant*. 2011, vol. 11(2), p. 394-398.
- ⁴⁸ Krawczyk et al., *Ann Hepatol*. 2012, vol. 11(5), p. 710-744.
- ⁴⁹ Sharma et al., *BMC Gastroenterol*. 2018, vol. 18(1), p. 107.
- ⁵⁰ Sattler et al., *Journal of Hepatology* 2017, vol. 66, No. 1, Suppl. S, pp. S177.
- 5 Información de la reunión.: Congreso Internacional del Hígado/52ª Reunión Anual de la Asociación-Europea-para-el-Estudio-del-Hígado. Amsterdam, Países Bajos. Abril 19 -23, 2017. European Assoc Study Liver.
- ⁵¹ Jung et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007, vol. 44(4), p. 453-458.
- ⁵² Sciveres. *Digestive and Liver Disease* 2010, vol. 42, Suppl. SUPPL. 5, pp. S329.
- 10 Número abstracto: CO18. Información de la reunión: XVII Congreso Nacional SIGENP. Pescara, Italia. 07 Oct 2010-09 Oct 2010
- ⁵³ Sohn et al., *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2019, vol. 22(2), p. 201-206.
- ⁵⁴ Ho et al., *Pharmacogenet Genomics*. 2010, vol. 20(1), p. 45-57.
- ⁵⁵ Wang et al., *Hepatol Res*. 2018, vol. 48(7), p. 574-584.
- 15 ⁵⁶ Shaprio et al., *J Hum Genet*. 2010, vol. 55(5), p. 308-313.
- ⁵⁷ Bounford. University of Birmingham. *Dissertation Abstracts International*, (2016) Vol. 75, No. 1C. No. de orden: AAI10588329. ProQuest Dissertations & Theses.
- ⁵⁸ Stolz et al., *Aliment Pharmacol Ther*. 2019, vol. 49(9), p. 1195-1204.
- ⁵⁹ Jankowska et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014, vol. 58(1), p. 92-95.
- 20 ⁶⁰ Kim. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2016, vol. 62, Suppl. SUPPL. 1, pp. 620. Número abstracto: H-P-045. Información de la reunión: 49a Reunión Anual de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica, ESPGHAN 2016. Atenas, Grecia. 25 Mayo 2016-28 Mayo 2016.
- ⁶¹ Pauli-Magnus et al., *Hepatology* 2003, vol. 38, No. 4 Suppl. 1, pp. 518A. print.
- 25 Información de la reunión.: 54ª Reunión Anual de la Asociación Estadounidense para el Estudio de Enfermedades Hepáticas. Boston, MA, EE. UU. Octubre 24-28, 2003. American Association for the Study of Liver Diseases.
- ⁶² Li et al., *Hepatology International* 2017, vol. 11, No. 1, Suppl. Suplemento 1, pp. S362. Número abstracto: PP0347. Información de la reunión: 26a Conferencia Anual de la Asociación de Asia Pacífico para el Estudio del Hígado, APASL 2017. Shanghai, China. 15 Feb 2017-19 Feb 2017.
- 30 ⁶³ Rumbo et al., *Transplantation* 2018, vol. 102, No. 7, Suppl. Suplemento 1, pp. S848. Número abstracto: P.752. Información de la reunión: 27o Congreso Internacional de The Transplantation Society, TTS 2018. Madrid, España. 30 Jun 2018-05 Jul 2018.
- 35 ⁶⁴ Lee et al., *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2017, vol. 20(2), p. 114-123.
- ⁶⁵ Sherrif et al., *Liver international: official journal of the International Association for the*

Study of the Liver 2013, vol. 33, No. 8, pp. 1266-1270.

⁶⁶ Blackmore et al., J Clin Exp Hepatol. 2013, vol. 3(2), p. 159-161.

⁶⁷ Matte et al., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010, vol. 51(4), p. 488-493.

⁶⁸ Lin et al., Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi. 2018, vol. 20(9), p. 758-764.

5 ⁶⁹ Harmanci et al., Experimental and Clinical Transplantation 2015, vol. 13, Suppl. SUPPL. 2, pp. 76. Número abstracto: P62. Información de la reunión: 1er Congreso de la Turkic World Transplantation Society. Astana, Kazajstán. 20 Mayo 2015-22 Mayo 2015.

⁷⁰ Herbst et al., Mol Cell Probes. 2015, vol. 29(5), p. 291-298.

⁷¹ Moghadamrad et al., Hepatology. 2013, vol. 57(6), p. 2539-2541.

10 ⁷² Holz et al., Zeitschrift fur Gastroenterologie 2016, vol. 54, No. 8. Número abstracto: KV275. Información de la reunión: Viszeralmedizin 2016, 71. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft fur Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten mit Sektion Endoskopie - 10. Herbsttagung der Deutschen Gesellschaft fur Allgemein- und Viszeralchirurgie. Hamburg, Alemania. 21 Sep 2016-24 Sep 2016.

15 ⁷³ Wang et al., PLoS One. 2016; vol. 11(4): e0153114.

⁷⁴ Hao et al., International Journal of Clinical and Experimental Pathology 2017, vol. 10(3), p. 3480-3487.

⁷⁵ Arnell et al., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010, vol. 51(4), p. 494-499.

20 ⁷⁶ Sharma et al., Indian Journal of Gastroenterology 2017, vol. 36, No. 1, Suppl. Suplemento 1, pp. A99. Número abstracto: M-20. Información de la reunión: 58a Conferencia Anual de la Sociedad India de Gastroenterología, ISGCON 2017. Bhubaneswar, India. 14 Dec 2017-17 Dec 2017.

⁷⁷ Beauséjour et al., Can J Gastroenterol. 2011, vol. 25(6), p. 311-314.

25 ⁷⁸ Imagawa et al., Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2016, vol. 63, Suppl. Suplemento 2, pp. S51. Número abstracto: 166. Información de la reunión: Congreso Mundial de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica 2016. Montreal, QC, Canadaá 05 Oct 2016-08 Oct 2016.

⁷⁹ Peng et al., Zhonghua er ke za zhi (Chinese journal of pediatrics) 2018, vol. 56, No. 6, pp. 440-444.

30 ⁸⁰ Tibesar et al., Case Rep Pediatr. 2014, vol. 2014: 185923.

⁸¹ Ng et al., Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2018, vol. 66, Suppl. Suplemento 2, pp. 860. Número abstracto: H-P-127. Información de la reunión: 51a Reunión Anual de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica, ESPGHAN 2018. Geneva, Suiza 09 Mayo 2018-12 Mayo 2018.

35 ⁸² Wong et al., Clin Chem. 2008, vol. 54(7), p. 1141-1148.

⁸³ Pauli-Magnus et al., J Hepatol. 2005, vol. 43(2), p. 342-357.

⁸⁴ Jericho et al., *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 60, vol. 3, p. 368-374.

⁸⁵ Scheimann et al., *Gastroenterology* 2007, vol. 132, No. 4, Suppl. 2, pp. A452. Información de la reunión.: Reunión de la Semana de las Enfermedades Digestivas/108^a Reunión Anual de la Asociación Americana de Gastroenterología. Washington, DC, EE. UU. May 19 -24, 2007. Amer Gastroenterol Assoc; Amer Assoc Study Liver Dis; Amer Soc Gastrointestinal Endoscopy; Soc Surg Alimentary Tract.

⁸⁶ Jaquotot-Haerranz et al., *Rev Esp Enferm Dig*. 2013, vol. 105(1), p. 52-54.

⁸⁷ Khosla et al., *American Journal of Gastroenterology* 2015, vol. 110, No. Suppl. 1, pp. S397. Información de la reunión.: 80^a Reunión Científica Anual del American-College-of-Gastroenterology. Honolulu, HI, EE. UU. Octubre 16 -21, 2015.

⁸⁸ Dröge et al., *J Hepatol*. 2017, vol. 67(6), p. 1253-1264.

⁸⁹ Liu et al., *Liver International* 2010, vol. 30(6), p. 809-815.

⁹⁰ Chen et al., *Journal of Pediatrics* 2002, vol. 140(1), p. 119-124.

⁹¹ Patente de EE. UU. No. 9,295,677

En algunas modalidades, la mutación en ABCB11 se selecciona de A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C, y R1268Q.

Se proporcionan métodos para tratar PFIC (por ejemplo, PFIC-1 y PFIC-2) en un sujeto que incluye realizar un ensayo en una muestra obtenida del sujeto para determinar si el sujeto tiene una mutación asociada con PFIC (por ejemplo, un ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o mutación Myo5b), y administrar (por ejemplo, administrar específica o selectivamente) una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, al sujeto que se determina que tiene una mutación asociada con PFIC. En algunas modalidades, la mutación es una mutación ATP8B1 o ABCB11. Por ejemplo, una mutación como se proporciona en cualquiera de las Tablas 1-4. En algunas modalidades, la mutación en ATP8B1 se selecciona de L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X, y G1040R. En algunas modalidades, la mutación en ABCB11 se selecciona de A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C, y R1268Q.

También se proporcionan métodos para tratar PFIC (por ejemplo, PFIC-1 y PFIC-2) en necesidad de los mismos, el método comprende: (a) detectar una mutación asociada con PFIC (por ejemplo, una mutación ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o Myo5b) en el sujeto; y (b) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de la formulación descrita en este documento. En algunas modalidades, los métodos para tratar PFIC pueden incluir la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una

sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un sujeto que tiene una mutación asociada con PFIC (por ejemplo, un ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o mutación Myo5b). En algunas modalidades, la mutación es una mutación ATP8B1 o ABCB11. Por ejemplo, una mutación como se proporciona en cualquiera de las Tablas 1-4. En algunas modalidades, la mutación en ATP8B1 se selecciona de L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X, y G1040R. En algunas modalidades, la mutación en ABCB11 se selecciona de A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C, y R1268Q.

En algunas modalidades, se determina que el sujeto tiene una mutación asociada con PFIC en un sujeto o una muestra de biopsia del sujeto mediante el uso de cualquier prueba reconocida en la técnica, incluida la secuenciación de próxima generación (NGS). En algunas modalidades, se determina que el sujeto tiene una mutación asociada con PFIC utilizando una prueba o ensayo aprobado por una agencia reguladora, por ejemplo, aprobado por la FDA para identificar una mutación asociada con PFIC en un sujeto o una muestra de biopsia del sujeto o realizando cualquiera de los ejemplos no limitantes de ensayos descritos en este documento. Los métodos adicionales para diagnosticar PFIC se describen en Gunaydin, M. et al., *Hepat Med.* 2018, vol. 10, p. 95-104, incorporado como referencia en su totalidad en este documento.

En algunas modalidades, el tratamiento de PFIC (por ejemplo, PFIC-1 o PFIC-2) disminuye el nivel de ácidos biliares en suero en el sujeto. En algunas modalidades, el nivel de ácidos biliares en suero se determina mediante, por ejemplo, un ensayo enzimático ELISA o los ensayos para la medición de ácidos biliares totales como se describe en Danese et al., *PLoS One.* 2017, vol. 12(6): e0179200, que se incorpora en este documento como referencia en su totalidad. En algunas modalidades, el nivel de ácidos biliares séricos puede disminuir, por ejemplo, 10% a 40%, 20% a 50%, 30% a 60%, 40% a 70%, 50% a 80%, o en más del 90% del nivel de ácidos biliares en suero antes de la administración de la formulación descrita en este documento. En algunas modalidades, el tratamiento de la PFIC incluye el tratamiento del prurito.

En otro aspecto, la invención se refiere a un proceso para la preparación de la formulación farmacéutica como se describe en este documento, que comprende la etapa de preparar una suspensión acuosa homogénea de odevixibat. En una modalidad preferida, la suspensión de recubrimiento se prepara dispersando odevixibat en agua mediante molienda en húmedo.

En una modalidad más específica, el proceso comprende las etapas de:

- a) humedecer odevixibat en agua usando un homogeneizador; y
- b) dispersar el odevixibat humedecido en agua mediante molienda en húmedo, obteniendo así una suspensión acuosa homogénea de odevixibat.

En algunas modalidades, el odevixibat se tamiza antes de la humectación de la etapa a).

En algunas modalidades, el proceso comprende además la etapa de añadir un polímero formador de película a la suspensión. Un polímero formador de película puede facilitar una dispersión uniforme de odevixibat en la suspensión. El polímero formador de película se puede añadir antes o después de la etapa de molienda en húmedo. En algunas modalidades, la molienda en húmedo es más eficaz en ausencia del polímero filmógeno. En una modalidad preferida, por lo tanto, el polímero formador de película se añade a la suspensión acuosa homogénea de odevixibat obtenida en la etapa (b).

La homogeneidad de la suspensión de recubrimiento puede comprobarse antes o después de la adición del polímero formador de película. Cuando el tamaño de los aglomerados de odevixibat puede determinarse mediante microscopía óptica, como se describe en la sección experimental, la suspensión de recubrimiento no debe contener aglomerados mayores de 200 μm . La suspensión preferiblemente no contiene aglomerados mayores de 100 μm y más preferiblemente no contiene aglomerados mayores de 50 μm . Cuando el tamaño de los aglomerados se determina mediante técnicas de dispersión de luz, como LALLS, el valor d_{90} para la distribución del tamaño de partícula de la suspensión de recubrimiento es preferiblemente menor de 15 μm , tal como menor de 14 μm , tal como menor de 13 μm , tal como menor de 12 μm , tales como menor de 11 μm , o menor de 10 μm .

En otra modalidad preferida, la suspensión de recubrimiento no contiene tensioactivos.

En otro aspecto, la invención se refiere a la formulación obtenida mediante cualquiera de los procesos descritos en este documento.

Definiciones

Como se usa en este documento, los términos "tratamiento", "tratar" y "tratando" se refieren a revertir, aliviar, retrasar el inicio o inhibir el progreso de una enfermedad o trastorno, o uno o más síntomas del mismo, como se describe en este documento. En algunas modalidades, el tratamiento puede administrarse después de que se hayan desarrollado uno o más síntomas. En otras modalidades, el tratamiento puede administrarse en ausencia de síntomas. Por ejemplo, el tratamiento puede administrarse a un individuo susceptible antes de la aparición de los síntomas (por ejemplo, a la luz de un historial de síntomas y/o a la luz de factores genéticos u otros factores de susceptibilidad). El tratamiento también puede continuarse después de que los síntomas se hayan resuelto, por ejemplo, para prevenir o retrasar su recurrencia.

Como se usa en este documento, el término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son adecuadas para uso farmacéutico humano y que son generalmente seguras, no tóxicas y no

son biológicamente ni de otra manera indeseables.

Como se usa en este documento, el término "aproximadamente" se refiere a un valor o parámetro en este documento que incluye (y describe) modalidades que están dirigidas a ese valor o parámetro per se. Por ejemplo, la descripción que hace referencia a "aproximadamente 20" incluye la descripción de "20". Los intervalos numéricos incluyen los números que definen el intervalo. En términos generales, el término "aproximadamente" se refiere al valor indicado de la variable y a todos los valores de la variable que están dentro del error experimental del valor indicado (por ejemplo, dentro del intervalo de confianza del 95% para la media) o dentro del 10 por ciento del valor indicado, el que sea mayor.

El término "modificación de cristal" se refiere a una fase sólida cristalina de un compuesto orgánico. Una modificación de cristal puede ser un solvato o un ansolvato.

El término "solvato" se refiere a una fase sólida cristalina de un compuesto orgánico, que tiene un disolvente (es decir, moléculas de disolvente) incorporado en su estructura cristalina. Un "hidrato" es un solvato en donde el disolvente es agua.

El término "sesquihidrato" se refiere a un hidrato que contiene aproximadamente 1.5 moles de agua asociada con el cristal por mol de compuesto orgánico (es decir, un 1.5 de hidrato). Como se usa en este documento, un sesquihidrato incluye de aproximadamente 1.2 a aproximadamente 1.8, más preferiblemente de aproximadamente 1.3 a aproximadamente 1.7, más preferiblemente de aproximadamente 1.4 a aproximadamente 1.6 e incluso más preferiblemente de aproximadamente 1.45 a aproximadamente 1.55 moles de agua asociados con cada mol de odevixibat en un cristal. La cantidad de agua calculada en este documento excluye el agua adsorbida a la superficie del cristal.

El término "solvato mixto" se refiere a una fase sólida cristalina de un compuesto orgánico, que tiene dos o más moléculas de disolvente diferentes incorporadas en su estructura de cristal. Una de las al menos dos moléculas de disolvente puede ser agua.

El término "suspensión" se refiere a una solución saturada a la que se le agrega un exceso de sólido, formando así una mezcla de sólido y solución saturada.

Como se usa en este documento, el término "volúmenes vacíos" se refiere a canales, capas u otros vacíos más o menos aislados en la estructura de cristal.

La cristalinidad de una muestra cristalina de odevixibat se puede medir, por ejemplo, por métodos de Difracción de Rayos X en Polvo (XRPD) o por métodos de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), tales como el método descrito en la sección experimental. Cuando se hace referencia en este documento a un compuesto cristalino, preferiblemente la cristalinidad medida por métodos de DSC es mayor de aproximadamente 70%, tal como mayor de aproximadamente 80%, particularmente mayor de aproximadamente 90%, más particularmente mayor de aproximadamente 95%. En algunas de las modalidades, el grado de cristalinidad medido por

métodos de DSC es superior a aproximadamente el 98%. En algunas de las modalidades, el grado de cristalinidad medido por métodos de DSC es superior a aproximadamente el 99%. El % de cristalinidad se refiere al porcentaje en peso de la masa total de la muestra que es cristalina.

- 5 La invención se describirá ahora mediante los siguientes ejemplos que no limitan la invención en ningún aspecto. Todos los documentos citados y las referencias mencionadas en este documento se incorporan como referencia en su totalidad.

Abreviaturas

10	DMF	dimetilformamida
	DMSO	dimetilsulfóxido
	EtOH	etanol
	MeOH	metanol
	HR	humedad relativa
15	2-PrOH	2-propanol

MÉTODOS EXPERIMENTALES

Análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD)

- Los análisis se realizaron a 22 °C en un difractómetro PANalytical X'Pert Pro equipado con un tubo largo de rayos X de foco fino de Cu y un detector PIXcel. Se utilizaron ranuras de divergencia automática y anti-dispersión junto con ranuras de Soller de 0.02 rad y un filtro de Ni. Las muestras secas se extendieron sobre soportes de fondo Silicon Zero (ZBH) cortados y se analizaron entre 2 y 40° en 2-theta con un tiempo de análisis de 17 minutos. Todas las muestras de suspensión se gotearon sobre sustratos de filtro de alúmina porosa templada y se analizaron dos veces mientras se secaban, primero con un escaneo de un minuto y 16 segundos (2 - 30° en 2-theta) y luego un escaneo de 7 minutos (2 - 30° en 2-theta). Se realizó un escaneo final de 17 minutos cuando la muestra se había secado durante varias horas.

Las muestras se centrifugaron durante el análisis para aumentar la aleatoriedad de las muestras. Se utilizaron los siguientes ajustes experimentales:

- 30 Tensión y corriente del tubo: 40 kV, 50 mA
 Longitud de onda alfa1 (CuK α 1): 1.5406 Å
 Longitud de onda alfa2 (CuK α 2): 1.5444 Å
 Longitud de onda alfa1 y alfa2 media (CuK α): 1.5418 Å

- Se sabe en la técnica que se puede obtener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más errores de medición dependiendo de las condiciones de medición (tales como equipo, preparación de la muestra o máquina usada). En particular, se sabe generalmente que

las intensidades en un patrón de XRPD pueden fluctuar dependiendo de las condiciones de medición y la preparación de la muestra. Por ejemplo, los expertos en la técnica de XRPD se darán cuenta de que las intensidades relativas de los picos pueden variar según la orientación de la muestra sometida a prueba y según el tipo y ajuste del instrumento utilizado. La persona experta también se dará cuenta de que la posición de los reflejos puede verse afectada por la altura precisa a la que se asienta la muestra en el difractómetro y la calibración cero del difractómetro. La planicidad de la superficie de la muestra también puede tener un pequeño efecto. Por lo tanto, una persona experta en la técnica apreciará que el patrón de difracción presentado en este documento no debe interpretarse como absoluto y cualquier forma cristalina que proporcione un patrón de difracción de polvo sustancialmente idéntico a los descritos en este documento cae dentro del alcance de la presente descripción (para más información, ver R. Jenkins and R.L. Snyder, "Introduction to X-ray powder diffractometry", John Wiley & Sons, 1996).

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los experimentos se realizaron utilizando un calorímetro de barrido diferencial Q2000 de TA Instruments. El crisol DCS utilizado fue un recipiente de aluminio TZero con un orificio (diámetro ≥ 0.2 mm) en la tapa. Se mantuvo una purga de nitrógeno seco a un caudal constante de 50 ml/min en la celda de DSC durante toda la medición.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Preparación de la formulación (pequeña escala)

Se recubrieron esferas de celulosa microcristalina con una de dos suspensiones de recubrimiento diferentes de odevixibat, como se indica en la Tabla 5 a continuación, para obtener partículas que contenían 0.5% p/p o 1.5% p/p de odevixibat.

Tabla 5

Ingrediente	Cantidad (g/lote)	Cantidad (g/lote)
<i>Núcleo:</i>		
Esferas de celulosa microcristalina 700 (Esfera 700 de Vivapur® MCC)	1500	1500
<i>Recubrimiento:</i>	7.5	22.5
Odevixibat	30.0	90.0
Hipromelosa 3 mPa.s (Methocel® E3 premium)		
Agua purificada ^a	337.5	1012.5

<i>Total (partículas recubiertas)</i>	1537.5	1612.5
---------------------------------------	--------	--------

^a El agua purificada se elimina durante el proceso de recubrimiento y secado.

Se utilizó odevixibat cristalino. Los valores típicos para la distribución del tamaño de partícula del material cristalino fueron $d_{10} = 0.9 \mu\text{m}$, $d_{50} = 4 \mu\text{m}$ y $d_{90} = 20 \mu\text{m}$, donde d_{10} , d_{50} y d_{90} se definen como los diámetros donde 10%, 50% y 90%, respectivamente, de la población de partículas se encuentra por debajo de estos valores.

Suspensión de recubrimiento

La suspensión de recubrimiento que contiene el fármaco odevixibat se preparó en tres etapas:

- 10 a) Suspensión de odevixibat: se tamizó el fármaco odevixibat a través de un tamiz de 0.5 mm, seguido de humedecimiento en una pequeña cantidad de agua usando un homogeneizador (Ultra Turrax T25; 15 minutos a aproximadamente 6600-7000 rpm). A continuación, el fármaco odevixibat humedecido resultante se dispersó en agua por medio de un molino coloidal (módulos IKA Magic Lab MKO o MK, 14600 rpm durante 20
- 15 minutos, tamaño de espacio de rotación 1.5) hasta que el nivel de aglomerados alcanzó los límites de aceptación de control en proceso.
- b) Dispersión de hipromelosa: Se dispersó hipromelosa (3 mPa.s) en agua caliente con mezcla, y la dispersión resultante se enfrió a temperatura ambiente.
- c) Suspensión de recubrimiento de odevixibat: La dispersión de hipromelosa se añadió a
- 20 la suspensión de odevixibat en el molino coloidal y la suspensión se mezcló durante 4 minutos a 10000 rpm. Se continuó la mezcla final a baja velocidad usando un agitador magnético. La suspensión de recubrimiento de odevixibat se filtró a través de un tamiz de 0.5 mm antes de su uso en el proceso de recubrimiento.

La dispersión de odevixibat en la suspensión de recubrimiento se controló mediante

25 microscopía óptica, usando un método basado en la Farmacopea Europea 9.0, monografía 2.9.37, que se ajustó para que fuera aplicable a la suspensión de recubrimiento de odevixibat. Se utilizó un microscopio Leica DMLB equipado con una cámara digital Leica DMC 2900 y un objetivo con un aumento de 10x.

Las muestras se prepararon colocando una pequeña gota de la suspensión de

30 recubrimiento (usando una pipeta Pasteur) en un objetivo de vidrio blanco en la parte superior de una cámara de recuento de rejilla de campos de prueba de 4x4. Se colocó un cubreobjetos (de aproximadamente 18 x 18 mm, del mismo tamaño que la rejilla) sobre la gota y se presionó ligeramente en el centro para obtener una muestra delgada y uniforme. El diámetro de la muestra fue comparable con el tamaño del cubreobjetos.

35 El objetivo se fijó con un aumento de x10 y la barra de escala se ajustó a 100 μm . Se

escanearon cinco réplicas. El tamaño de los aglomerados se comprobó comparándolos con la barra de escala en cuatro campos de prueba predeterminados para cada réplica. El número total de aglomerados se calculó a partir de 5 repeticiones $\times$ 4 campos de prueba, es decir, en total 20 campos de prueba. La suspensión de recubrimiento se aceptó si los 20 campos de prueba no contenían más de 5 aglomerados $\geq 50 \mu\text{m}$ y ningún aglomerado $\geq 200 \mu\text{m}$.

Proceso de recubrimiento

Se recubrieron esferas de celulosa microcristalina (MCC) usando la suspensión de recubrimiento de odeixibat en un recubridor de lecho fluido con inserto Wurster. La cantidad de suspensión de recubrimiento en las esferas de MCC se determina por ponderación. Las partículas recubiertas se tamizaron a través de un tamiz de 0.5 mm y 1.25 mm, respectivamente, con el fin de eliminar las partículas finas y las gemelas. A continuación, las partículas se transfirieron a contenedores a granel y se manipularon como un producto farmacéutico intermedio.

Llenado de cápsulas

La cantidad calculada de partículas requerida para cada dosis unitaria se introdujo en cápsulas duras de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) (tamaño 0 o tamaño 3) utilizando un llenador automático de cápsulas, para proporcionar cuatro concentraciones diferentes: 200, 400, 600 y 1200 μg .

Las concentraciones de 200 y 600 μg son cápsulas blancas de tamaño 0 que contienen 40 mg de partículas que tienen una concentración de odeixibat de 0.5% p/p y 1.5% p/p, respectivamente. Estas concentraciones se utilizarán para pacientes con un rango de peso de 5.0 kg a $<19.5 \text{ kg}$ en los grupos de dosis baja (40 $\mu\text{g/kg}$) y alta (120 $\mu\text{g/kg}$) de los estudios clínicos de fase 3. Las cápsulas de tamaño 0 están diseñadas para abrirse de modo que el contenido se pueda esparcir en un vehículo alimenticio para su administración. Estas no están destinadas a ser tragadas intactas.

Las concentraciones de 400 μg y 1200 μg son cápsulas blancas de tamaño 3 que contienen 80 mg de partículas que tienen una concentración de odeixibat de 0.5% p/p y 1.5% p/p, respectivamente. Estas concentraciones se utilizarán para pacientes con un rango de peso de 19.5 kg a $> 55.5 \text{ kg}$ en los grupos de dosis baja (40 $\mu\text{g/kg}$) y alta (120 $\mu\text{g/kg}$) de los estudios clínicos de fase 3. Las cápsulas de tamaño 3 deben ingerirse intactas.

El peso de llenado, las cantidades de odeixibat y otros ingredientes y el tamaño de la cápsula para las diferentes concentraciones de la cápsula se muestran en la Tabla 6 a continuación.

Tabla 6

COMPONENTE	Concentración			
	200 µg	400 µg	600 µg	1200 µg
odevixibat concentración de partículas	0.5% p/p		1.5% p/p	
Peso de llenado (mg) (teórico)	40	80	40	80
<i>Partículas</i>				
Esferas de celulosa microcristalina 700 (Esfera 700 de Vivapur® MCC)	39	78	37	74
Odevixibat	0.200	0.400	0.600	1.200
Hipromelosa 3 mPa.s (Methocel® E3 premium)	0.8	1.6	2.4	4.8
<i>Cápsula</i>				
Cápsula de hipromelosa, blanca (Vcaps® Plus)	Tamaño 0	Tamaño 3	Tamaño 0	Tamaño 3

Ejemplo 2**Preparación de la formulación (mayor escala)**

Se recubrieron esferas de celulosa microcristalina con una de dos suspensiones de recubrimiento diferentes de odevixibat, como se indica en la Tabla 7 a continuación, para obtener partículas que contenían 0.5% p/p o 1.5% p/p de odevixibat.

Tabla 7

Ingrediente	Cantidad (kg/lote)	Cantidad (kg/lote)
<i>Núcleo:</i>		
Esferas de celulosa microcristalina 700 (Esfera 700 de Vivapur® MCC)	14.625	13.87
<i>Recubrimiento:</i>		5
Odevixibat	0.075	
Hipromelosa 3 mPa.s (Methocel® E3 premium)	0.300	0.225
		0.900
Agua purificada ^a	3.375	10.12
		5
<i>Total (partículas recubiertas)</i>	15.000	15.00
		0

^a El agua purificada se elimina durante el proceso de recubrimiento y secado.

Se utilizó odevixibat cristalino. Los valores típicos para la distribución del tamaño de partícula del material cristalino fueron $d_{10} = 0.9 \mu\text{m}$, $d_{50} = 4 \mu\text{m}$ y $d_{90} = 20 \mu\text{m}$, donde d_{10} , d_{50} y d_{90} se definen como los diámetros donde 10%, 50% y 90%, respectivamente, de la población de partículas se encuentra por debajo de estos valores.

Suspensión de recubrimiento

La suspensión de recubrimiento que contiene el fármaco odevixibat se preparó en tres etapas:

- 10 a) Suspensión de odevixibat: el fármaco odevixibat se humedeció en una pequeña cantidad de agua usando un homogeneizador (Ultra Turrax T25; 15 minutos a aproximadamente 6600-7000 rpm). A continuación, el fármaco odevixibat humedecido resultante se dispersó en agua por medio de un molino coloidal (módulos IKA Magic Lab MKO o MK, 14600 rpm durante 20 minutos, tamaño de espacio de rotación 1.5) hasta
- 15 que el nivel de aglomerados alcanzó los límites de aceptación de control en proceso, es decir, $d_{90} < 12 \mu\text{m}$ (determinado por dispersión de luz láser de ángulo bajo (LALLS)).
- b) dispersión de hipromelosa: Se dispersó hipromelosa (3 mPa.s) en agua caliente con mezcla, y la dispersión resultante se enfrió a temperatura ambiente.
- 20 c) suspensión de recubrimiento de odevixibat: Se añadió la dispersión de hipromelosa a la suspensión de odevixibat y se mezcló la suspensión. Se continuó la mezcla final a baja velocidad usando un agitador. La suspensión de recubrimiento de odevixibat se filtró a través de un tamiz de 0.5 mm antes de su uso en el proceso de recubrimiento.

Proceso de recubrimiento

- 25 La suspensión de recubrimiento de odevixibat obtenida se utilizó para recubrir esferas de celulosa microcristalina (MCC) de acuerdo con el proceso de recubrimiento descrito en el Ejemplo 1.

Llenado de cápsulas

- 30 Las cápsulas se prepararon de acuerdo con el Ejemplo 1. El peso de llenado, las cantidades de odevixibat y otros ingredientes y el tamaño de la cápsula para las diferentes concentraciones de la cápsula fueron los presentados en la Tabla 5 anterior.

Ejemplo 3

Preparación de la modificación de cristal 1

- 35 Se cargaron alcohol absoluto (100.42 kg) y odevixibat bruto (18.16 kg) en un GLR de 250 l con agitación en atmósfera de nitrógeno. Se añadió agua purificada (12.71 kg) y la masa

de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno a $25 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 15 minutos. Se continuó agitando a $25 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 3 a 60 minutos, hasta que se formó una solución transparente. La solución se filtró a través de un filtro de cartucho SS de $5,0\ \mu$, seguido de un filtro de cartucho del PP de $0,2\ \mu$ y luego se transfirió a un reactor limpio. Se añadió lentamente agua purificada (63.56 kg) durante un período de 2 a 3 horas a $25 \pm 5^\circ\text{C}$, y la solución se sembró con la modificación cristalina 1 de odevixibat. La solución se agitó a $25 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 12 horas. Durante este tiempo, la solución se volvió turbia. Los sólidos precipitados se filtraron a través de una centrífuga y el material se secó por centrifugación durante 30 minutos. A continuación, el material se secó al vacío en un filtro Nutsche durante 12 horas. A continuación, el material se secó en un secador de bandejas al vacío a $25 \pm 5^\circ\text{C}$ al vacío (550 mm Hg) durante 10 horas y luego a $30 \pm 5^\circ\text{C}$ al vacío (550 mm Hg) durante 16 horas. El material se aisló como un sólido cristalino blanquecino. El material cristalino aislado se molió y se almacenó en bolsas de LDPE.

Se analizó una muestra sobrehidratada con XRPD y el difractograma se muestra en la Figura 2. Otra muestra se secó a 50°C al vacío y luego se analizó con XRPD. El difractograma de la muestra seca se muestra en la Figura 1.

Los difractogramas para el secado de la muestra se muestran en las Figuras 3 y 4 para intervalos $2\theta\ 5 - 13^\circ$ y $18 - 25^\circ$, respectivamente (muestra sobrehidratada en la parte inferior y muestra seca en la parte superior).

Ejemplo 4

Preparación de la modificación de cristal 2 a partir de etanol y agua.

Se pesaron 105.9 mg de odevixibat en un recipiente Chromacol de 1 ml. Se añadieron una barra de agitación magnética y 1.0 ml de una mezcla de etanol: agua al 70:30% v/v y se cerró el recipiente con una tapa con rosca. Después, la suspensión resultante se dejó agitada a 25°C durante 1 semana.

La muestra húmeda se analizó con XRPD y el difractograma se muestra en la Figura 5. Al secarse la muestra, se transformó en una modificación de cristal 1.

Ejemplo 5

Determinación de la fracción cristalina por calorimetría diferencial de barrido

Este método cuantifica la fracción cristalina del fármaco odevixibat en muestras parcialmente cristalinas. La cuantificación se basa en el supuesto de que las muestras parcialmente cristalinas son mezclas binarias del hidrato cristalino y la fase amorfa de odevixibat. La fracción cristalina se cuantifica basándose en la entalpía de fusión de una forma anhidra. Esta forma anhidra es el hidrato deshidratado que se forma de forma espontánea y reproducible al secar el hidrato a temperatura elevada.

Se pesaron con precisión 5-6 mg de una muestra de una muestra cristalina o parcialmente cristalina de odevixibat en un crisol DSC que luego se cerró con una tapa perforada

utilizando una prensa adecuada. Se anotó el peso total del crisol DSC (recipiente + tapa + muestra) y se determinó nuevamente el peso total del crisol después de la prueba DSC. La pérdida de peso durante la prueba DSC no debe ser superior al 5%.

La prueba DSC consta de tres ciclos:

5 Ciclo 1: un aumento de la temperatura de 20 °C a 120 °C a una tasa de escaneo de 5 °C/min;

Ciclo 2: una disminución de la temperatura de 120 °C a 80 °C a una tasa de escaneo de 10 °C/min; y

10 Ciclo 3: un aumento de la temperatura de 80 °C a 200°C a una tasa de escaneo de 10 °C/min

El primer ciclo de escaneo seca la muestra y, por lo tanto, convierte la forma de hidrato en un hidrato deshidratado (una forma anhidra). En el segundo ciclo de escaneo, la muestra se enfría para obtener una línea de base estable en el calentamiento posterior para la integración de la señal. La entalpía de fusión se determina en el tercer ciclo de escaneo, donde la muestra se calienta mediante la fusión de la forma anhidra.

15 El evento endotérmico debido a la fusión aparece en el intervalo de temperatura de 140-165 °C. El pico debe integrarse sobre una línea base de tangente sigmoideal utilizando la función de integración Sig Tangent del software TA Universal Analysis. La integración debe comenzar a una temperatura entre 130 °C y 140 °C, y terminar a una temperatura entre 165 °C y 175 °C, dependiendo de la línea base real. La transición vítrea de la parte amorfa puede aparecer en el intervalo de temperatura de 120-130 °C, dependiendo de la fracción amorfa real (ver la Figura 6 para ver un ejemplo). Si una línea de base irregular no permite la integración, se debe evaluar si el secado de la muestra fue incompleto.

25 La evaluación de la entalpía de fusión se realiza utilizando el peso seco de la muestra, que se obtiene restando el peso total del crisol DSC (recipiente + tapa + muestra) después de la prueba DSC del peso total del crisol antes de la prueba. El porcentaje de pérdida de peso durante la exploración DSC, que es la diferencia entre el peso inicial y el peso seco dividido por el peso inicial, no debe ser superior al 5%; de lo contrario, no se puede calcular el contenido cristalino de la muestra.

30 La fracción cristalina expresada en porcentaje en peso debe calcularse a partir de la entalpía de fusión (ΔH_{sample}) basándose en la siguiente fórmula. El valor se dará en un número entero.

$$\% \text{ contenido cristalino} = \frac{\Delta H_{muestra} + 1.1626}{0.2815}$$

35 Ejemplo 6

Homogeneidad monitoreada por LALLS

Se estudió la homogeneidad de las suspensiones de recubrimiento de odevixibat utilizando dispersión de luz láser de ángulo bajo (LALLS). Se produjeron tres suspensiones de recubrimiento de odevixibat destinadas a partículas que contenían 0.5% p/p de odevixibat mediante la dispersión del fármaco odevixibat (16 g) en agua (200 g) con un homogeneizador Ultra Turrax durante 7 minutos. Cuando se dispersó el fármaco, se hizo funcionar el homogeneizador durante 8 minutos más. A continuación, se enjuagó el homogeneizador con agua (216 g), que se añadió a la suspensión.

Las suspensiones de odevixibat se dispersaron luego usando un molino en húmedo (IKA Magic Lab y módulo MK), usando los ajustes presentados en la Tabla 8. Se dispersó Methocel E3 en agua caliente (85-90 °C) mientras se mezclaba con un agitador de cabeza y luego se enfrió a temperatura ambiente. La concentración se ajustó al 17.4% p/p mediante la adición de agua.

Se cargaron 368 g del gel Methocel en la suspensión de odevixibat y se mezcló usando el molino en húmedo durante otros 4 minutos a 10000 rpm. Se comprobó la temperatura de la suspensión durante el proceso. La homogeneidad de la suspensión de odevixibat se controló con LALLS después de 0, 5, 10, 15 y 20 minutos de tiempo de recirculación. Los datos se presentan en la Tabla 9.

Tabla 8

Suspensión No.	1	2	3
Dispersión (Ultra Turrax)			
Tiempo (min)	15	15	15
Velocidad (rpm)	6800-8000	7600-8000	6600-8000
Dispersión (molino en húmedo)			
Brecha (rotaciones)	1.5	1.5	1.0
Tiempo (min)	20	20	20
Velocidad (rpm)	14600	14600	14600
Enfriamiento (módulo MK)			
Punto de ajuste (° C)	N/A	25	10
Temperatura (° C) de la suspensión de recubrimiento después de 20 min de molienda en húmedo	72	50	55

5

Tabla 9

10

15

20

25

30

Suspensión No.	Tiempo de recirculación (min)	LALLS (µm)			Comentarios
		d ₁₀	d ₅₀	d ₉₀	
1	0	1.5	5.5	17.9	
	5	1.1	3.9	10.5	
	10	1.2	3.9	9.3	
	15	2.4	5.2	11.3	
	20	1.8	4.1	8.8	Muestra tomada después de la adición de Methocel
	20	1.6	3.9	8.7	Muestra tomada después de 5 días de almacenamiento a temperatura ambiente con agitación magnética.
2	0	1.5	6.5	29.1	
	5	1.2	4.3	11.4	
	10	1.1	3.8	9.3	
	15	1.1	3.6	8.5	
	20	1.0	3.5	8.2	Muestra tomada al finalizar la molienda en húmedo
	20	1.1	3.7	8.6	Muestra tomada después de la adición de Methocel
3	0	n.d.	n.d.	n.d.	
	5	0.9	3.4	8.8	
	10	0.9	3.2	7.7	
	15	1.1	3.7	8.5	
	20	1.1	3.8	8.9	Muestra tomada al finalizar la molienda en húmedo
	20	1.0	3.4	8.0	Muestra tomada después de la adición de Methocel

Ejemplo 7

Uniformidad de contenido

Se prepararon peletizados de dos concentraciones diferentes, 0.5% p/p y 1.5% p/p, como se describe en el Ejemplo 1. Se determinó la cantidad de odevixibat en una cápsula para 30 cápsulas, utilizando cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (RP-HPLC). Fase móvil: 40:60 acetonitrilo: solución amortiguadora de acetato pH 5.5; caudal 1.5 ml/min;

columna: Zorbax SB-CN (50 x 4.6 mm, 3.5 μ m). La cantidad ensayada de odevixibat y la uniformidad del contenido se presentan en la Tabla 10.

5 **Tabla 10**

odevixibat concentración en partículas	0.5% p/p	1.5% p/p	0.5% p/p
Ensayo (mg/g)	4.98	14.2	4.88
Uniformidad de contenido: RSD% (n=30)	1.6	0.8	1.4

10 **Ejemplo 8**

Prueba de estabilidad a pH bajo

Se evaluó la compatibilidad entre las partículas recubiertas con odevixibat y yogur, compota de manzana o puré de frutas rociando aproximadamente 40 mg de partículas recubiertas que contenían 0.5% p/p de odevixibat (correspondiente al contenido de una cápsula de 200 μ g) en 1 cucharada de alimento y determinar la recuperación durante un período de 120 minutos. La recuperación de odevixibat se determinó mediante un método de cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa (RP-HPLC). Fase móvil: 40:60 acetonitrilo: solución amortiguadora de acetato pH 5.5; caudal 1.5 ml/min; columna: Zorbax SB-CN (50 x 4.6 mm, 3.5 μ m).

La recuperación de todas las muestras de alimentos varió entre el 95% y el 101% sin cambios con el tiempo. La inspección visual concluyó que las partículas estaban intactas hasta por 6 horas para todas las muestras; no se observaron diferencias de color ni partículas disueltas. Los resultados verifican que los pacientes que rocían las partículas sobre los alimentos recibirán la dosis deseada. En la Tabla 11 se presenta un sumario de los alimentos probados, y los resultados de las pruebas de recuperación se presentan en la Tabla 12 (salsa de manzana), la Tabla 13 (batido de yogur) y la Tabla 14 (puré de frutas).

30 **Tabla 11**

Alimento	Marca	pH	Ingredientes
Salsa de manzana	Eldorado	3.7	Manzana 92%, azúcar 7%, antioxidante (ácido ascórbico), conservantes (E202)
Batido de yogur	Semper	3.9	Plátano 42%, fresa 30%, yogur (tratado térmicamente) 20%, agua, almidón de maíz, concentrado de jugo de bayas

5

			silvestres, concentrado de jugo de limón, antioxidante (ácido ascórbico)
Pure de fruta	Semper	3.9	Agua, jugo de naranja (de concentrado) 23%, manzana 20%, plátano 15%, almidón de arroz, vitamina C, hierro

Tabla 12

10

15

20

Tiempo (min)	Peso de partícula añadida (mg)	Cantidad nominal de odevixibat (µg)	Ensayo de odevixibat (µg)	Recuperación (%)	Media (%)
0	39.58	201.07	199.35	99.1	99
	42.35	215.14	212.28	98.7	
15	40.37	205.08	187.29	91.3	96
	40.37	205.08	205.37	100.1	
30	41.21	209.35	206.45	98.6	98
	39.97	203.05	197.70	97.4	
60	40.50	205.74	198.14	96.3	97
	40.20	204.22	199.99	97.9	
120	39.61	201.22	199.22	99.0	98
	40.12	203.81	199.65	98.0	

Tabla 13

25

30

35

Tiempo (min)	Peso de partícula añadida (mg)	Cantidad nominal de odevixibat (µg)	Ensayo de odevixibat (µg)	Recuperación (%)	Media (%)
0	42.07	213.72	213.60	99.9	99
	42.38	215.29	209.17	97.2	
15	41.24	209.50	206.01	98.3	97
	40.42	205.33	195.58	95.2	
30	40.70	206.76	199.48	96.5	96
	41.96	213.16	203.30	95.4	
60	40.39	205.18	197.33	96.2	96
	39.38	200.05	192.06	96.0	
120	40.99	208.23	199.05	95.6	96

	39.42	200.25	192.38	96.1	
--	-------	--------	--------	------	--

Tabla 14

5	Tiempo (min)	Peso de partícula añadida (mg)	Cantidad nominal de odevixibat (µg)	Ensayo de odevixibat (µg)	Recuperación (%)	Media (%)
	0	43.57	221.34	188.05	85.0	95
		37.79	191.97	200.25	104.3	
10	15	39.74	201.88	194.86	96.5	101
		39.34	199.85	209.63	104.9	
	30	41.72	211.94	203.61	96.1	101
		41.77	212.19	226.27	106.6	
	60	42.25	214.63	208.02	96.9	96
		43.39	220.42	210.74	95.6	
15	120	39.05	198.37	196.18	98.9	97
		40.33	204.88	196.19	95.8	

La principal vía de degradación esperada para las partículas de odevixibat, cuando se mezcla con los vehículos alimentarios especificados para su administración, es la hidrólisis ácida del resto dipéptido. Para evaluar la estabilidad química de las partículas de odevixibat, se añadió 1 ml de solución amortiguadora de fosfato pH 3,0 a aproximadamente 200 mg de partículas que contenían 0.5% p/p de odevixibat (es decir, el contenido de cinco cápsulas de 200 µg) y se dejó a temperatura ambiente durante 2 horas. No se observó degradación

Ejemplo 9

Prueba de estabilidad a largo plazo

Las cápsulas de odevixibat de tamaño 0 y tamaño 3, preparadas de acuerdo con el Ejemplo 1, se almacenaron en un frasco de HDPE con tapón de HDPE y se mantuvieron a 25 °C y 60% de humedad relativa como condición de almacenamiento a largo plazo, y a 40 °C y 75% de humedad relativa como condición acelerada. Las cantidades de odevixibat, sustancias relacionadas y agua se determinaron después de 1, 3, 6, 9 y 12 meses para muestras almacenadas a 25 °C/60% RH, y después de 1, 3 y 6 meses para muestras almacenadas a 40 °C/75% de HR. Los resultados para las cápsulas con una concentración de 200 µg (tamaño 0) se presentan en la Tabla 15; para cápsulas de concentración 600 µg (tamaño 0) en la Tabla 16;

para cápsulas de concentración 400 µg (tamaño 3) en la Tabla 17; y para cápsulas de 1200 µg de concentración (tamaño 3) en la Tabla 18.

5 **Tabla 15.** Datos de estabilidad para cápsulas de 200 µg de concentración.

Prueba	Criterios de aceptación	Condiciones de almacenamiento	Período de almacenamiento (meses)					
			0	1	3	6	9	12
Descripción	Cápsula dura oblonga blanca que contiene peletizados de color blanco a blanquecino	25°C/60% HR	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
		40°C/75% HR		Cumple	Cumple	Cumple		
Ensayo	180-220 µg/cápsula	25°C/60% HR	207	205	206	204	209	207
		40°C/75% HR		206	206	205		
Sustancias relacionadas, Total	≤4.0%	25°C/60% HR	0.53	0.51	0.48	0.47	0.55	0.57
		40°C/75% HR		0.44	0.63	0.90		
Disolución	Q= 75% a 45 min	25°C/60% HR	104	101	102	102	106	106
		40°C/75% HR		99	102	101		
Contenido de agua	Reporte (%)	25°C/60% HR	3.3	NT	NT	3.5	NT	4.3
		40°C/75% HR		NT	NT	4.5		

Tabla 16. Datos de estabilidad para cápsulas de 600 µg de concentración.

Prueba	Criterios de aceptación	Condiciones de almacenamiento	Período de almacenamiento (meses)					
			0	1	3	6	9	12
Descripción	Cápsula dura oblonga blanca que contiene peletizados de color blanco a blanquecino	25°C/60% HR	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
		40°C/75% HR		Cumple	Cumple	Cumple		
Ensayo	540-660 µg/cápsula	25°C/60% HR	576	600	596	597	603	599
		40°C/75% HR		599	612	601		
Sustancias relacionadas, Total	≤4.0%	25°C/60% HR	0.53	0.52	0.47	0.44	0.43	0.41
		40°C/75% HR		0.45	0.48	0.73		
Disolución	Q=75% a 45 min	25°C/60% HR	99	99	100	97	102	106
		40°C/75% HR		100	99	96		
Contenido de agua	Reporte (%)	25°C/60% HR	3.4	NT	NT	3.3	NT	4.4
		40°C/75% HR		NT	NT	4.4		

Tabla 17. Datos de estabilidad para cápsulas de 400 µg de concentración.

Prueba	Criterios de aceptación	Condiciones de almacenamiento	Período de almacenamiento (meses)					
			0	1	3	6	9	12

5

10

15

20

25

30

Descripción	Cápsula dura oblonga blanca que contiene peletizados de color blanco a blanquecino	25°C/60% HR	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
		40°C/75% HR		Cumple	Cumple	Cumple		
Ensayo	360-440 µg/cápsula	25°C/60% HR	397	395	397	400	396	399
		40°C/75% HR		394	392	398		
Sustancias relacionadas, Total	≤4.0%	25°C/60% HR	0.63	0.51	0.47	0.57	0.57	0.59
		40°C/75% HR		0.42	0.55	0.83		
Disolución	Q= 75% a 45 min	25°C/60% HR	100	99	99	99	102	99
		40°C/75% HR		100	101	99		
Contenido de agua	Reporte (%)	25°C/60% HR	3.7	NT	NT	3.1	NT	4.2
		40°C/75% HR		NT	NT	4.3		

35

Tabla 18. Datos de estabilidad para cápsulas de 1200 µg de concentración.

Prueba	Criterios de aceptación	Condiciones de almacenamiento	Período de almacenamiento (meses)					
			0	1	3	6	9	12
Descripción	Cápsula dura oblonga blanca que contiene peletizados de color blanco a blanquecino	25°C/60% HR	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
		40°C/75% HR		Cumple	Cumple	Cumple		
Ensayo	1080-1320 µg/cápsula	25°C/60% HR	1191	1194	1174	1169	1196	1175
		40°C/75% HR		1200	1192	1191		
Sustancias relacionadas, Total	≤4.0%	25°C/60% HR	0.53	0.51	0.48	0.46	0.44	0.51
		40°C/75% HR		0.55	0.51	0.63		
Disolución	Q=75% a 45 min	25°C/60% HR	99	97	99	99	98	98
		40°C/75% HR		101	100	98		
Contenido de agua	Reporte (%)	25°C/60% HR	3.5	NT	NT	3.0	NT	4.1
		40°C/75% HR		NT	NT	4.3		

Ejemplo 10**Mezcla de uniformidad de peletizados**

Se prepararon partículas de dos concentraciones diferentes, 0.5% p/p y 1.5% p/p, como se describe en el Ejemplo 2. Los peletizados tamizados se recogieron en un tambor de 55 l, revestido con una bolsa de PE. Se tomaron muestras de los peletizados de 10 ubicaciones diferentes del tambor con una punta de extracción de muestras de 0.25 ml. La muestra promedio de cada ubicación fue de 80 mg, correspondiente al contenido de dos cápsulas de tamaño 0 de 200 µg o 600 µg, o una cápsula de tamaño 3 de 400 µg o 1200 µg. El contenido de odevixibat se determinó mediante RP-UPLC: Fase móvil A: Solución amortiguadora de acetato de amonio 80:20 pH 5.7/acetonitrilo; Fase móvil B: Solución amortiguadora de acetato de amonio 20:80 pH 5.7/acetonitrilo; tasa de flujo 0.40 ml/min; columna: Waters Acquity BEH C8 100 x 2.1 mm, 1.7 mm; Gradiente: 0 min: 60% A: 40% B, 12 min: 20% A: 80% B, 13.5 min: 20% A: 80% B, 13.6 min: 60% A: 40% B, 15 min: 60% A: 40% B. La cantidad ensayada de odevixibat y la uniformidad del contenido se presentan en la Tabla 19.

Tabla 19

Muestra	Ensayo para odevixibat (% de lo que se afirma en la etiqueta)	
	0.5% p/p	1.5% p/p
1	101.7	99.5
2	97.6	101.7
3	98.8	101.1
4	100.8	101.5
5	100.4	97.7
6	99.7	98.5
7	100.4	102.7
8	99.5	103.5
9	98.4	102.5
10	99.5	100.6
Media	99.7	100.9
Min	97.6	97.7
Max	101.7	103.5
RSD (%)	1.2	1.9