

FORMULACIÓN PARA ENTREGA ORAL DE PROTEINAS, PEPTIDOS Y
MOLECULAS PEQUEÑAS CON PERMEABILIDAD BAJA

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

- 5 **[0001]** Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de EE.UU. No. 62/832,508, presentada el 11 de abril de 2020, cuyo contenido completo se incorpora acá por referencia.

CAMPO DE LA DIVULGACION

- 10 **[0002]** Esta divulgación se relaciona con una formulación para entrega oral de proteínas, péptidos y moléculas pequeñas con permeabilidad baja. Más específicamente, esta divulgación se relaciona con una formulación farmacéutica destinada para la entrega oral de cualquier molécula sintética o natural con permeabilidad baja o sales o solvatos de ésta que tiene una actividad terapéutica.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 15 **[0003]** Las moléculas pobremente permeables son compuestos que tienen baja absorción a través de la membrana intestinal. Como tal, ellas son administradas intravenosamente o subcutáneamente. Debido a su absorción pobre a través de la membrana intestinal, su uso clínico está considerablemente restringido dada la necesidad a ser administrado IV y dosificado varias veces al día (por ejemplo,
- 20 insulina para diabéticos). Estos compuestos poco permeables son identificados como compuestos BCS clase III y clase IV en la clasificación propuesta por Amidon GL y otros en *Una base teórica para una clasificación de medicamento biofarmacéutico: la corrección de disolución de producto farmacéutico in vitro y biodisponibilidad in vivo* (Pharm Res. 1995 Mar; 12(3):413-20), el cual se incorpora
- 25 acá por referencia en su totalidad.

RESUMEN DE LA INVENCION

- [0004]** Los solicitantes han desarrollado formulaciones para moléculas administradas oralmente con poca permeabilidad. La molécula puede ser un

inhibidor de CGRP. Estas formulaciones son altamente beneficiosas para pacientes que requieren dosis varias veces al día. Con el fin de preparar dichas formulaciones para entrega oral de inhibidores de CGRP poco permeables, los Solicitantes tuvieron que superar por lo menos esta poca permeabilidad contra la membrana intestinal; y para algunos de esos inhibidores, en particular péptidos y proteínas, la inestabilidad química y física en el tracto gastrointestinal y específicamente, la pérdida de actividad debido a condiciones acídicas en el estómago; y la degradación enzimática a lo largo del intestino. En consecuencia, los Solicitantes han desarrollado una forma de dosis recubierta de liberación retardada que puede entregar inhibidores de CGRP poco permeables en el intestino con producción *in situ* de mejorador de permeación para aumentar su biodisponibilidad.

[0005] En la Patente No. US 9,259,389, los inventores encontraron que una emulsión inversa digestible puede aumentar la biodisponibilidad de oligosacáridos. De forma inesperada, los Solicitantes encontraron que una solución de excipientes lípidos con una molécula poco permeable dispersa como un polvo en la formulación puede permitir mejores resultados de biodisponibilidad para esta clase específica de moléculas (es decir, compuestos BCS Clase III y Clase IV en la clasificación propuesta por Amidon GL y otros (Pharm Res 1995 Mar;12(3):413-29)). Específicamente, los Solicitantes encontraron que, para moléculas poco permeables, específicamente compuestos de proteína y péptido BCS Clase III, la formulación sin adición de agua puede ser beneficiosa. Sin atarse por ninguna teoría, se considera que el agua tiende a hacer que esta clase de moléculas poco permeables se agreguen juntas. Más particularmente, los Solicitantes encontraron que cuando ellas no incluían agua en la formulación que comprende una solución de excipientes a base de lípido en la formulación, se lograron mayores resultados de biodisponibilidad para esta clase específica de moléculas. En contraste, la remoción de agua fue perjudicial para los sacáridos de la Patente No. US 9,259,389.

[0006] Adicionalmente, los Solicitantes pueden aumentar la carga de medicamento cuando el API se puede dispersar como un polvo sin la necesidad de solubilizar el ingrediente farmacéutico activo ("API") en agua, dado que no hay necesidad de solubilizar el API. Además, la formulación es inherentemente más físicamente estable debido a que los excipientes lípidos pueden estar en la solución como una fase simple. Así, no puede haber necesidad de adicionar un agente estabilizador tal como dióxido de silicio para estabilizar las fases. En algunas modalidades, se puede adicionar un espesante para propósitos de fabricación para mantener la homogeneidad del polvo API en la suspensión durante el proceso. En algunas modalidades, el espesante puede ser dióxido de silicio. Finalmente, en comparación con otras formulaciones encontradas en la literatura que utilizan excipientes tales como mejoradores de permeación, las formulaciones divulgadas acá pueden ser únicamente reconocidas generalmente como excipientes seguros o ingredientes ya comercializados.

[0007] En algunas modalidades, se divulga una formulación farmacéutica que comprende un inhibidor de CGRP sintético o natural poco permeable o sal o solvato de éste en una cantidad de 0.01 a 20% en peso del peso total de la formulación; una fase lipofílica que comprende triglicéridos de ácidos grasos en una cantidad de 50 a 80% en peso del peso total de la formulación; y por lo menos un tensoactivo lipofílico que comprende ésteres parciales de poliol y ácidos grasos en una cantidad de 10 a 50% en peso del peso total de la formulación. En algunas modalidades, el inhibidor de CGRP sintético o natural poco permeable o sal o solvato de éste es un anticuerpo CGRP, un anticuerpo receptor CGRP, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo CGRP o un anticuerpo receptor CGRP, una proteína inhibidora de infusión CGRP, un agente bionneutralizador CGRP, un antagonista receptor de CGP de molécula pequeña, un inhibidor de CGRP de molécula pequeña, o un inhibidor de CDRP de polipéptido. En algunas modalidades, el antagonista receptor de CGRP de molécula pequeña es (R)-N-(3-(7-metil-1H-indazol-5-il)-1-(4-(1-metilpiperidin-4-

il)piperazin-1-il)-1-oxopropan-2-il)-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida (BHV-3500). En algunas modalidades, la formulación comprende por lo menos un tensoactivo hidrófilo con un equilibrio lipofílico hidrófilo ("HLB") mayor a 10 en una cantidad de 1 a 30% en peso del peso total de la formulación. En algunas modalidades, el por lo menos un tensoactivo hidrófilo se selecciona del grupo que consiste de monooleato de polioxietileno (20), glicéridos caprílico/cáprico de PEG 8, glicéridos caprílico/cáprico de PEG 6, poli(oxietileno)(4)Lauril éter y mezclas de éstos. En algunas modalidades, los triglicéridos de ácidos grasos son ácidos grasos de cadena media. En algunas modalidades, el tensoactivo lipofílico comprende una mezcla de mono y diglicérido de ácidos grasos de cadena meda. En algunas modalidades, la formulación no incluye agua. En algunas modalidades, una forma de dosis farmacéutica de liberación retardada comprende cualquiera de las formulaciones descritas anteriormente, en donde la forma de dosis de liberación retardada es una forma de dosis recubierta cuya liberación es dependente del pH. En algunas modalidades, un método para tratar un paciente comprende administrar a una persona en necesidad de la misma una cantidad efectiva de cualquiera de las formulaciones descritas anteriormente.

[0008] Ventajas adicionales serán fácilmente evidentes para los expertos en la materia a partir de la siguiente descripción detallada. Los presentes ejemplos y descripciones se deben considerar como ilustrativos en naturaleza y no restrictivos.

[0009] Todas las publicaciones, incluyendo documentos de patente, artículos científicos y bases de datos, referidos en esta solicitud son incorporados por referencia en su totalidad para todos los propósitos en la misma medida como si cada publicación individual fuera incorporada individualmente por referencia. Si una definición indicada acá es contraria o inconsistente con una definición indicada en las patentes, solicitudes, solicitudes publicadas y otras publicaciones que son incorporadas acá por referencia, la definición indicada acá prevalece sobre la definición que es incorporada acá por referencia.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

[0010] Estos y/u otros aspectos serán evidentes y más fácilmente apreciados a partir de la siguiente descripción de las modalidades, tomada en conjunto con las figuras adjuntas, en las cuales:

5 [0011] La Figura 1 es un gráfico que muestra el perfil de concentración BHV-3500 promedio en plasma de perro para los Grupos 1 a 3 (Cápsula; 20 mg); y

[0012] La Figura 2 es un gráfico que muestra el perfil de concentración BHV-3500 promedio en plasma de perro para los Grupos 4 a 6 (Cápsula; 50 mg).

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

10 [0013] La presente divulgación se relaciona con formulaciones farmacéuticas destinadas para administración oral que contienen moléculas sintéticas o naturales poco permeables y que tienen una actividad terapéutica o una sal o solvato de adición farmacéuticamente aceptable de éstas. Estas formulaciones puede ser una formulación a base de lípido. Adicionalmente, estas formulaciones pueden ser una
15 forma de dosis de liberación retardada. En algunas modalidades, la forma de dosis puede ser una cápsula blanda de liberación retardada, una cápsula de cubierta dura o una combinación de éstos. En algunas modalidades, esta forma de liberación retardada puede ser una forma de dosificación liberada entérica.

[0014] Las formulaciones pueden incluir: (A) moléculas poco permeables
20 sintéticas o naturales; (B) una fase lipofílica; (C) por lo menos un tensoactivo lipofílico; y/o (D) por lo menos un tensoactivo hidrófilo. En algunas modalidades, las formulaciones pueden incluir un agente de estabilización químico y/o físico.

Moléculas Poco Permeables Sintéticas o Naturales

[0015] En algunas modalidades, la formulación puede incluir moléculas
25 sintéticas o naturales poco permeables o cualquier sal farmacéuticamente aceptable de estas moléculas poco permeables en una cantidad de hasta aproximadamente 1% en peso, aproximadamente 2% en peso, aproximadamente 5% en peso, aproximadamente 10% en peso, aproximadamente 15% en peso, o

aproximadamente 20% en peso del peso total de la formulación. En algunas modalidades, la formulación puede incluir moléculas sintéticas o naturales poco permeables o cualquier sal farmacéuticamente aceptable de estas moléculas poco permeables en una cantidad de aproximadamente 0.01 a 30% en peso, aproximadamente 0.1 a 30% en peso, aproximadamente 0.01 a 20% en peso, aproximadamente 0.1 a 20% en peso, aproximadamente 0.1 a 15% en peso, aproximadamente 0.1 a 10% en peso, aproximadamente 0.1 a 5% en peso, aproximadamente 0.1 a 2% en peso, aproximadamente 0.1 a 1% en peso, aproximadamente 0.1 a 0.5% en peso, o aproximadamente 0.5 a 1.5% en peso del peso total de la formulación.

[0016] La molécula sintética o natural poco permeable o sales farmacéuticamente aceptables de ésta pueden incluir: cualquier proteína, polipéptido, péptido, o molécula pequeña con permeabilidad pobre destinada para entrega oral en donde el componente activo de acuerdo con la invención puede ser, pero no se limita a, insulina, hormona de crecimiento humano, calcitonina (por ejemplo, calcitonina de salmón), un interferón tal como un α -, β -, o γ -interferón, glucagón, hormona de liberación de gonadotropina, encefalinas, vacunas, enzimas, análogos de hormona, inhibidores de enzima, anticuerpo y miméticos de anticuerpo. La molécula sintética o natural poco permeable o sales farmacéuticamente aceptables de ésta son aquellas identificadas como BCS Clase III y Clase IV en la clasificación propuesta por Amidon GL y otros en *Una base teórica para una clasificación de medicamento biofarmacéutico: la correlación de disolución de producto farmacéutico in vitro y biodisponibilidad in vivo* (Pharm Res. 1995 Mar;12(3):413-20).

Inhibidor de CGRP

[0017] La molécula poco permeable sintética o natural puede ser un inhibidor de péptido relacionado con gen de calcitonina (CGRP). Como se usa acá, el término “inhibidor de CGRP” se refiere a una entidad química que puede ser un inhibidor de

un ligando de CGRP o receptor de CGRP. Así, el término “inhibidor de CGRP” abarca inhibidores de receptor CGRP. El inhibidor de CGRP puede ser un inhibidor de CGRP o un inhibidor de receptor CGRP. CGRP (péptido relacionado con gen de calcitonina) es un neuropéptido de 37 aminoácidos, el cual pertenece a una familia de péptidos que incluye calcitonina, adrenomedulina y amilina. Se ha recolectado evidencia sustancial para mostrar que el CGRP está implicado en patofisiología de la migraña. Se realizaron pruebas clínicas para demostrar que los inhibidores de CGRP son efectivos para tratar migraña.

[0018] El inhibidor de CGRP puede ser un anticuerpo CGRP, un anticuerpo receptor CGRP, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo CGRP o un anticuerpo receptor CGRP, una proteína inhibidora de infusión de CGRP, un agente bionutralizador CGRP, un antagonista receptor de CGRP de molécula pequeña, un inhibidor de CGRP de molécula pequeña, o un inhibidor de CGRP polipéptido. En una modalidad, el inhibidor de CGRP puede ser un antagonista receptor de CGRP de molécula pequeña. El antagonista receptor de CGRP de molécula pequeña puede ser (R)-N-(3-(7-metil-1H-indazol-5-il)-1-(4-(1-metilpiperidin-4-il)piperazin-1-il)-1-oxopropan-2-il)-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida (BHV-3500).

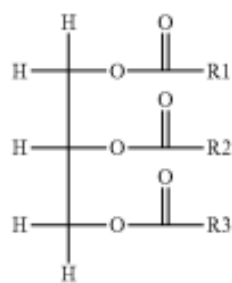
[0019] El inhibidor de CGRP puede ser administrado a una dosis de aproximadamente 1 a 1000 mg por día. En otro aspecto, el inhibidor de CGRP es administrado a una dosis de aproximadamente 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 250, 300, 400, 500, 750, o 1000 mg por día. La dosis diaria del inhibidor de CGRP puede variar entre cualquiera de los valores anteriores.

Fase Lipofílica

[0020] En algunas modalidades, la formulación puede incluir una fase lipofílica en una cantidad de hasta aproximadamente 50% en peso, aproximadamente 55% en peso, aproximadamente 60% en peso, aproximadamente 65% en peso, aproximadamente 70% en peso, o aproximadamente 80% en peso del peso total de

la formulación. En algunas modalidades, la formulación puede incluir una fase lipofílica en una cantidad de aproximadamente 50 a 80% en peso, aproximadamente 55 a 75% en peso, aproximadamente 60 a 70% en peso, aproximadamente 62 a 68% en peso, aproximadamente 64 a 66% en peso, o aproximadamente 65% en peso del peso total de la formulación.

[0021] En algunas modalidades, la fase lipofílica puede ser triglicéridos de ácidos grasos. Los triglicéridos de ácidos grasos pueden significar cualquier triglicérido de ácido graso saturado o insaturado los cuales son farmacéutica y oralmente aceptables. En algunas modalidades, los triglicéridos de ácido graso pueden tener la siguiente fórmula:



[0022] en la cual R1, R2, y R3 representan independientemente entre sí el grupo alquilo o alqueniilo del ácido graso parental.

[0023] El ácido graso puede ser saturado o insaturado. En particular, el ácido graso puede ser saturado dado que el ácido graso insaturado puede dar cinética de digestión más lenta y menores porcentajes de digestión. Algunos ácidos grasos saturados comunes se indican en la siguiente Tabla 1.

TABLA 1

Nombre común	Nombre IUPAC	Estructura química	Abrev.	Punto de fusión (°C)
Butírico	Ácido butanocio	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	C4:0	-8
Caproico	Ácido hexanoico	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH	C6:0	-3
Caprílico	Ácido octanoico	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH	C8:0	16-17
Cáprico	Ácido decanoico	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH	C10:0	31

Láurico	Ácido dodecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	C12:0	44-46
Mistórico	Ácido tetradecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	C14:0	58.8
Palmítico	Ácido hexadecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	C16:0	63-64
Estearico	Ácido octadecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	C18:0	69.9
Araquídico	Ácido eicosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	C20:0	75.5
Behénico	Ácido docosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	C22:0	74-78
Lignocérico	Ácido tetracosanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	C24:0	

[0024] R1, R2, y R3 pueden representar una cadena recta o ramificada. En algunas modalidades, R1, R2, y R3 pueden ser grupos alquilo o alquenilo C₃-C₂₃, grupos alquilo o alquenilo C₅-C₁₃, o grupos alquilo o alquenilo C₇-C₉. En algunas modalidades, los ácidos grasos son ácidos grasos insaturados y son ácidos grasos de cadena media. Como tal, la fase lipofílica puede ser triglicéridos de ácidos grasos de cadena larga (tal como, por ejemplo, aceite de soya y aceite de pescado), media o corta (tal como, por ejemplo, triacetato de glicerilo). En algunas modalidades, los triglicéridos pueden ser de ácido caprílico, ácido cáprico, o mezclas de éstos (tal como, por ejemplo, el producto comercial Miglyol 812®, Captex 355®, Estasan®, Neobee M5®, Labrafac CC®, y Captex 1000®). En algunas modalidades, los triglicéridos puede ser triglicéridos de ácidos grasos C₆-C₁₂ o ácidos grasos C₈-C₁₀.

Tensoactivo Lipofílico

[0025] En algunas modalidades, la formulación puede incluir por lo menos un tensoactivo lipofílico en una cantidad de hasta aproximadamente 1% en peso, aproximadamente 5% en peso, aproximadamente 10% en peso, aproximadamente 15% en peso, aproximadamente 20% en peso, aproximadamente 25% en peso, aproximadamente 30% en peso, aproximadamente 35% en peso, aproximadamente

40% en peso, aproximadamente 45% en peso, o aproximadamente 50% en peso del peso total de la formulación. En algunas modalidades, la formulación puede incluir por lo menos un tensoactivo lipofílico en una cantidad de aproximadamente 10 a 50% en peso, aproximadamente 15 a 35% en peso, aproximadamente 20 a 30% en peso, aproximadamente 22 a 28% en peso, aproximadamente 24 a 26% en peso, o aproximadamente 25% en peso del peso total de la formulación. Si la formulación incluye menos de aproximadamente 10% en peso del por lo menos un tensoactivo lipofílico, la digestión cinética puede no ser optimizada. Si la formulación incluye más de 50% en peso del por lo menos un tensoactivo lipofílico, la cantidad de fase lipofílica disponible para liberación de caprato de sodio puede no ser óptima.

[0026] En algunas modalidades, el por lo menos un tensoactivo lipofílico puede ser ésteres parciales de poliol y ácidos grasos. Los ésteres parciales de poliol y ácidos grasos pueden significar cualquier éster parcial obtenido por esterificación de polioles y ácidos grasos saturados o insaturados que son farmacéutica y oralmente aceptables. Los ácidos grasos saturados comunes son indicados en la anterior Tabla 1. Los ácidos grasos pueden ser ácidos grasos de cadena media, tal como ácidos grasos C₆-C₁₂, en particular ácido caprílico y/o cáprico. Los polioles pueden ser, por ejemplo, propilenglicol y glicerol. Por ejemplo, los ésteres parciales de poliol y ácidos grasos pueden ser mono- y/o di-ésteres de propilenglicol de ácidos grasos (tal como, el monolaurato de propilenglicol vendido bajo el nombre comercial Lauroglycol®, el monomiristato de propilenglicol vendido bajo el nombre comercial Mirpyl® o el dicaprilato/dicaprato de propilenglicol vendido bajo el nombre comercial Captex 200®, Miglyol 840®, o Neobee M-20®) y/o ésteres de poliglicerol de ácidos grasos (tal como, el oleato de poligliceril vendido bajo el nombre comercial Plurol Oleique® o Drewpol 10.10.10® o los ácidos grasos mezclados de poligliceril vendidos bajo el nombre comercial Caprol ET®).

[0027] El por lo menos un tensoactivo lipofílico puede ser ésteres parciales de propilenglicol y ácidos grasos (tal como, por ejemplo, el producto comercial Capryol

PGMC® y Capmul PG-8®). En algunas modalidades, el por lo menos un tensoactivo lipofílico puede ser una mezcla de mono y diglicérido de ácidos grasos, una mezcla de mono y diglicérido de ácidos grasos de cadena mediana, una mezcla de mono y diglicérido de ácido caprílico y/o cáprico (tal como, por ejemplo, el producto comercial Capmul MCM y Capmul MCM C8®, Imwitor 988®, Imwitor 742®), o una mezcla de mono o diglicérido de ácido cáprico (tal como, por ejemplo, el producto comercial Capmul MCM C100 o Imwitor 308®).

[0028] En algunas modalidades, el por lo menos un tensoactivo lipofílico puede ser una lecitina, por ejemplo, lecitina de soya, pero no limitado a lecitina de soya.

10 Tensoactivo Hidrófilo

[0029] En algunas modalidades, la formulación puede incluir por lo menos un tensoactivo hidrófilo en una cantidad de hasta aproximadamente 2% en peso, aproximadamente 5% en peso, aproximadamente 8% en peso, aproximadamente 10% en peso, aproximadamente 15% en peso, aproximadamente 20% en peso, aproximadamente 25% en peso, o aproximadamente 30% en peso del peso total de la formulación. En algunas modalidades, la formulación puede incluir por lo menos un tensoactivo hidrófilo en una cantidad de aproximadamente 0 a 30% en peso, aproximadamente 0 a 15% en peso, aproximadamente 0 a 10% en peso, aproximadamente 1 a 30% en peso, aproximadamente 5 a 15% en peso, aproximadamente 8 a 12% en peso, aproximadamente 9 a 11% en peso, o aproximadamente 10% en peso del peso total de la formulación. Si la cantidad del por lo menos un tensoactivo hidrófilo es mayor a 30% en peso de la formulación, la cantidad de fase lipofílica disponible para liberación de caprato de sodio se puede ver comprometida.

[0030] En algunas modalidades, el por lo menos un tensoactivo hidrófilo puede ser cualquier tensoactivo hidrófilo que tiene un valor de equilibrio lipofílico hidrófilo ("HLB") mayor a 10 el cual es farmacéutica y oralmente aceptable. El valor HLB es

un parámetro empírico comúnmente utilizado por un experto en la materia para caracterizar la hidrofiliidad e hidrofobicidad relativa de un tensoactivo no iónico.

[0031] En algunas modalidades, el por lo menos un tensoactivo hidrófilo puede

ser fosfolípidos; derivados de ácidos grasos de sorbitan de polioxietileno, tal como

5 monolaurato de polioxietileno (20) (vendido bajo el nombre comercial Tween 20®),

monooleato de polioxietileno (20) (vendido bajo el nombre comercial Tween 80® y/o

Crillet 4®) o el monopalmitato de polioxietileno (20) (vendido bajo el nombre

comercial Montanox 40®); aceite de castor o etoxilados de aceite de castor

hidrogenado con un valor HLB mayor a 10, tal como aceite de castor de

10 polioxietileno (35) (vendido bajo el nombre comercial Cremophor EL®, aceite de

castor hidrogenado de polioxietileno (40) (vendido bajo el nombre comercial

Cremophor RH40®), aceite de castor de polioxietileno (40) (vendido bajo el nombre

comercial Etocas 40®) o aceite de castor hidrogenado de polioxietileno (60)

(vendido bajo el nombre comercial Nikkol HCO-60®); etoxilados de ácidos grasos

15 con un valor HLB mayor a 10, tal como estearato de polioxietileno (8) (vendido bajo

el nombre comercial Myrj 45®), monolaurato de polioxietileno (30) (vendido bajo el

nombre comercial Tagat L®), estearato de polioxietileno (20) (vendido bajo el

nombre comercial Marlosol 1820®) u oleato de polioxietileno (15) (vendido bajo el

nombre comercial Marlosol OL15®); etoxilados de alcohol con un valor HLB mayor

20 a 10, tal como éter oleílico de polioxietileno (10) (vendido bajo el nombre comercial

Brij 96®, éter oleílico de polioxietileno (15) Volpo 015®, éter oleílico de polioxietileno

(30) (vendido bajo el nombre comercial Marlowet OA30®) o éter graso C₁₂-C₁₄ de

polioxietileno (20) (vendido bajo el nombre comercial Marlowet IMA20®);

copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno y copolímeros de bloque con un valor

25 HLB mayor a 10, tal como los productos vendidos bajo el nombre comercial

Syperonic PE L44® con un valor HALB=16 o los productos vendidos bajo el nombre

comercial Syperonic F127® con un valor HLB=22; tensoactivos aniónicos, tal como

el sulfato de laurilo de sodio, el oleato de sodio o el dioctilsulfosuccinato de sodio o

tensoactivos de alquilfenol con un valor HLB mayor a 10, tal como el nonilfenol de polioxietileno (9-10) (vendido bajo el nombre comercial Triton N-101®) o el nonilfenol de polioxietileno (9) (vendido bajo el nombre comercial Synperonic NP9®); Vitamina E; Succinato de Polietilenglicol D-alfa-tocoferil (TPGS); o

5 Hidroxiestearato de PEG 15 (vendido bajo el nombre comercial Solutol HS15®).

[0032] En algunas modalidades, el por lo menos un tensoactivo hidrófilo es un tensoactivo polietoxilado. En algunas modalidades, el por lo menos un tensoactivo hidrófilo se selecciona del grupo que consiste de ésteres de ácido graso de sorbitan de polioxietileno, éteres de alquilo de polioxietileno, y ésteres de polioxietileno de

10 ácidos grasos tales como ésteres de polioxietileno de glicerol y ácidos grasos. En algunas modalidades, los ácidos grasos son saturados o insaturados. Los ácidos grasos saturados comunes son indicados en la Tabla 1 anterior. En algunas modalidades, los ácidos grasos son ácidos grasos de cadena media, tal como ácidos grasos C₆-C₁₂ (por ejemplo, ácido láurico, caprílico, y/o cáprico).

15 **[0033]** En algunas modalidades, el número de unidades de grupo de óxido de etileno en el tensoactivo puede estar entre 4 y 20. En algunas modalidades, el por lo menos un tensoactivo hidrófilo puede seleccionarse del grupo que consiste de monooleato de polioxietileno (20) (tal como, por ejemplo, el producto comercial Tween 80®), glicéridos caprílicos/cápricos de PEG 8 (tal como, por ejemplo, el

20 producto comercial Labrasol®), glicéridos caprílicos/cápricos de PEG 6 (tal como, por ejemplo, el producto comercial Softigel 767®), éteres de poli(oxietilen(4)Lauril (tal como, por ejemplo, el producto comercial Prij 30®) y mezclas de éstos.

Solvente Hidrófilo

[0034] En algunas modalidades, la formulación puede incluir por lo menos un

25 solvente hidrófilo anhidro en una cantidad de hasta aproximadamente 15% en peso, aproximadamente 10% en peso, aproximadamente 5% en peso, o aproximadamente 1% en peso de peso total de la formulación para ayudar en la solubilización del API. En algunas modalidades, la formulación está libre de por lo

menos un solvente hidrófilo. En algunas modalidades, se adiciona por lo menos un solvente hidrófilo, para solubilizar el espesante.

[0035] En algunas modalidades, el por lo menos un solvente hidrófilo puede ser seleccionado del grupo que consiste de propilenglicol, éter monoetílico de dietilenglicol de PEG 400, triacetato de glicerol, etanol, glicerol, dimetilisorbido, N-metil-2-pirrolidona, poloxámeros, y mezclas de éstos.

Agente de Estabilización Química y/o Física

[0036] En algunas modalidades, la formulación puede incluir por lo menos un agente de estabilización química y/o física en una cantidad de hasta aproximadamente 25% en peso del peso total de la formulación. En algunas modalidades, se puede adicionar el agente de estabilización física para mantener la uniformidad de la suspensión en polvo de API durante el procesamiento. Como se discute más adelante, la formulación placebo es físicamente estable dado que es una fase simple que consiste de excipientes lípidos en solución, pero dado que el polvo de API es dispersado como una suspensión, para mantener la homogeneidad, se adiciona un espesante.

[0037] El agente de estabilización química y/o física puede ser cualquier ingrediente farmacéutico que mejorará la estabilidad química de la molécula poco permeable en la formulación con el fin de cumplir con los requerimientos del Lineamiento Tripartita Harmonizado ICH Q3B (Impurezas en nuevos productos farmacéuticos) de la actual versión paso 4 con fecha del 2 de junio de 2006 o que mejorará la estabilidad física de formulación de la molécula poco permeable.

[0038] En algunas modalidades, un agente de estabilización química puede ser un tensoactivo lipofílico. Por ejemplo, el agente de estabilización química puede ser ésteres acéticos, succínicos, lácticos, cítricos y/o tartáricos de mono y/o diglicéridos de ácidos grasos tales como monoglicéridos acetilados destilados (vendidos bajo el nombre comercial Myvacet 9.45®), succinato de diglicerilo caprílico/cáprico (vendido bajo el nombre comercial Miglyol 829®), monoglicéridos mono/di-

succinilados (vendido bajo el nombre comercial Myverol SMG®), citrato de estearato de glicerilo (vendido bajo el nombre comercial Imwitor 370®), monoestearato/citrato/lactato de glicerilo (vendido bajo el nombre comercial Imwitor 375®) o ásteres tartáricos de diacetilo de monoglicéridos (vendido bajo el nombre comercial Cordatem T22®); extoxilados de éster ácido formados al reaccionar óxido de etileno con ácidos grasos o ésteres de glicerol de ácidos grasos con un valor HLB menor a 10, tal como ácido láurico de polioxietileno (4) (vendido bajo el nombre comercial Crodet 04®), ácido esteárico de polioxietileno (2) (vendido bajo el nombre comercial Cithrol 2MS®), ácido esteárico de polioxietileno (3) (vendido bajo el nombre comercial Marlosol 183®) o dioleato de glicerilo 12 EO (vendido bajo el nombre comercial Marlowet G12DO®); ésteres de sorbitan de ácidos grasos, tal como monolaurato de sorbitan (vendido bajo el nombre comercial Span 20® o Crill 1®) o mono-oleato de sorbitan (vendido bajo el nombre comercial Crill 4®); productos de transesterificación de triglicérido de aceite vegetal natural o hidrogenado y poliol de polialquileño con un valor HLB menor a 10, tal como aceite de aceite de semilla de albaricoque polioxietilado (vendido bajo el nombre comercial Labrafil M1944CS®), aceite de mais polioxietilado (vendido bajo el nombre comercial Labrafil M2125CS®) o aceite hidrogenado polioxietilado (vendido bajo el nombre comercial Gelucire 37/06®); o etoxilados de alcohol con un valor HLB menor a 10 tal como éter oleílico polioxietilado (3) (vendido bajo el nombre comercial Volpo N3®), éter oleílico polioxietilado (2) (vendido bajo el nombre comercial Brij 93®) o éter de laurilo polioxietilado (4) (vendido bajo el nombre comercial Marlowet LA4®).

[0039] En algunas modalidades, un agente de estabilización química puede ser un agente de amortiguación tal como amortiguadores de citrato, fosfato, o acetato y/o agentes espesantes, tal como aceites parcialmente hidrogenados, aceites hidrogenados, o monoésteres de ácidos grasos insaturados o saturados, derivado de polivinilpirrolidona, óxido de polietileno.

[0040] En algunas modalidades, un agente de estabilización física es dióxido de silicio. En algunas modalidades, el dióxido de silicio puede ser un dióxido de silicio coloidal. El dióxido de silicio coloidal también es conocido como dióxido de silicio pirógeno, humo de silicio o sílice pirogénico. Dichos dióxidos de silicio están
5 comercialmente disponibles bajo las marcas Aerosil® (Evonik industries), Cab-O-Sil® (Cabot Corporation) y Wacker HDK® (Waccker-Chemie GmbH).

[0041] En algunas modalidades, la formulación puede incluir un espesante lipídico. Ejemplos de espesantes lipídicos incluyen, pero no se limitan a, Akosoft 36, Geleol, Gelucire, Koliwax, aceites hidrogenados, o combinaciones de éstos. En
10 algunas modalidades, la formulación puede incluir un espesante lipídico en una cantidad de aproximadamente 5 a 25% en peso, aproximadamente 10 a 20% en peso, aproximadamente 12 a 18% en peso, aproximadamente 14 a 16% en peso, o aproximadamente 15% en peso del peso total de la formulación.

[0042] En algunas modalidades, la formulación puede incluir povidona. Ejemplos de povidona pueden incluir povidonas de diferentes grados, tal como K30 o K90. En algunas modalidades, la formulación puede incluir povidona en una
15 cantidad de aproximadamente 0.5 a 10% en peso, aproximadamente 1 a 10% en peso, aproximadamente 2 a 8% en peso, aproximadamente 4 a 6% en peso, o aproximadamente 5% en peso del peso total de la formulación.

20 Formación de la Formulación

[0043] En algunas modalidades, la formulación puede ser un líquido en la forma de una solución. En algunas modalidades, la formulación es una solución en la cual la molécula poco permeable (por ejemplo, el API) es suspendida en la formulación como un polvo. En algunas modalidades, la formulación puede ser una
25 microemulsión inversa libre de agua o una emulsión inversa libre de agua. En algunas modalidades, la formulación es homogénea. Una formulación homogénea puede ser cualquier formulación de fase simple o múltiple que puede ser usada en la fabricación de una formulación de llenado a granel en cumplimiento con el

Lineamiento de la FDA para la Industria ANDAS: Uniformidad de Mezclado, con fecha del 3 de agosto de 1999, y/o en la fabricación de una forma de dosificación farmacéutica final viable en cumplimiento con el criterio de Prueba de Uniformidad de Contenido (excluyendo evaluación de variación de masa – Farmacopea Europea Uniformidad de Unidades de Dosis 2.9.40, USP Capítulo General <905> y la Farmacopea Japonesa 6.02 Uniformidad de unidades de Dosis) y/o la cual puede cumplir con los resultados de ensayo de sustancia farmacéutica estable en muestras estratificadas tomadas a lo largo del proceso de fabricación.

[0044] Las formulaciones divulgadas acá pueden ser preparadas de acuerdo con los siguientes procesos. La formulación puede ser una mezcla de los diferentes excipientes. En algunas modalidades, los excipientes con las menores cantidades pueden ser adicionados primero y el espesante puede ser adicionado hacia el final antes que se adicione el API. En algunas modalidades, la formulación es una solución clara y el API (es decir, molécula poco permeable o sal de ésta) es suspendido en esta formulación como un polvo. El API puede ser un API cristalino puro, triturados, micronizado, liofilizado, rociado en seco o cualquier método conocido para el experto en la materia para obtener API sólido, tal como liofilización por pulverización atmosférica. Este también puede ser API mezclado con ingredientes sólidos para obtener un API sólido tal como derivado de glucósido, derivado de celulosa, o adsorberse en otro excipiente como sílice mesoporoso, nanotubos o cualquier material con propiedades de adsorción, o el API puede ser complejo tal como, pero no limitado, para hacer complejo con resina de intercambio de iones.

[0045] Las formulaciones divulgadas acá pueden ser digestibles. Como tal, los glicéridos pueden ser desesterificados en 2-monoglicéridos y ácidos grasos libres por lipasa pancreática en los jugos GI. La formulación puede liberar caprato de sodio que puede actuar como mejorador de permeación para promover la absorción de la molécula poco permeable cargada en la formulación. La lipasa pancreática en la

presencia de colipasa puede catalizar la lipólisis (también denominada hidrólisis o desesterificación) de aceites emulsionados para producir ácidos grasos. La tasa de generación de ácido graso, y, por lo tanto, una medida de la tasa de lipólisis puede seguirse por medio de valoración continua con una estadística de pH como se describe en la Patente No. US 9,259,389 la cual se incorpora acá por referencia en su totalidad. El grado de digestión después de 120 minutos en una solución de pancreatina que contiene un extracto de pancreatina que tiene una actividad de aproximadamente 8 Unidades de Tributirina (TBU) por miligramo de polvo seco en agua destilada en la dosis de 250 mg/ml a 37.5°C +/- 0.5°C puede ser tal que por lo menos aproximadamente 1 mmol, aproximadamente 1.5 mmol, o aproximadamente 1.7 mmol del ácido graso libre total es liberado/g de la formulación divulgada acá.

[0046] En algunas modalidades, el grado de digestión después de 120 minutos en modelos CPS (y, por lo tanto, la tasa de digestión) es tal que por lo menos aproximadamente 0.2 mmol, aproximadamente 0.4 mmol, aproximadamente 0.6 mmol, o aproximadamente 0.7 mmol del ácido graso libre C₁₀ (es decir, ácido cáprico) es liberado/g de la formulación divulgada acá.

[0047] En algunas modalidades, la formulación divulgada acá es líquida o semisólida (es decir, que posee un rango de temperatura de fusión por encima de la temperatura ambiente) y puede ser administrada oralmente a un paciente en necesidad de la misma usando una forma de dosis farmacéutica bien conocida por un experto en la materia. Dicha forma de dosis farmacéutica puede ser una cápsula dura de gelatina o no gelatina o una cápsula blanda. Dichas cápsulas pueden incluir cápsulas duras de gelatina y cápsulas blandas de gelatina y una combinación de éstas (por ejemplo, una sobre encapsulación de una cápsula blanda de gelatina en una cápsula de gelatina dura o cápsulas sin gelatina blandas y/o duras). Esta formulación también puede ser pasada en una forma de dosis sólida convencional por medio de técnicas bien conocidas para el experto en la materia tal como

adsorción, granulación/recubrimiento de fusión en caliente y/o por medio de portadores, diluyentes, aditivos y/o aglutinantes seleccionados.

[0048] El sitio de absorción de la molécula poco permeable puede ser en el intestino. Como tal, es ventajoso co-entregar la formulación y la molécula poco permeable a su sitio de absorción y donde la formulación es digerida. En este caso, se debe evitar la dilución de la formulación en el estómago. Como consecuencia, en algunas modalidades, la forma de dosis farmacéutica es una forma de dosis de liberación retardada que contiene la formulación divulgada acá. se pueden contemplar varios sistemas de entrega de medicamento por parte de un experto en la materia con el fin de obtener una forma de dosis de liberación retardada. Varios materiales pueden permitir obtener un efecto de liberación retardada. Estos materiales pueden ser usados para obtener formas de matriz (tal como se describe en CA2439366) o formas recubiertas. Algunos resultados de liberación retardada y de protección se pueden obtener usando formas de dosificación recubiertas.

[0049] Los varios tipos de materiales que pueden ser usados para fabricar una forma de dosis de liberación retardada son los siguientes: polímeros sensibles a las enzimas intestinales, tales como esterasa y lipasa (por ejemplo, Salol, goma laca, compuestos lipídicos (ácido esteárico, glicéridos parciales), cera de carnauba, aceite de castor hidrogenado) o proteasa (por ejemplo, queratina, gluten, zein); polímeros solubles en pH intestinal (esta opción es la más ampliamente utilizada en la industria farmacéutica). Estos polímeros pueden ser: polisacáridos como pectina, celulosa o derivados de almidón. Por ejemplo, acetoftalato de celulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, acetohemisuccinato de celulosa, almidón y acetoftalato de amilosa; derivados vinílicos (por ejemplo, acetato de polivinilo, acetoftalato de polivinilo); derivados acrílicos (por ejemplo, Eudragit L, Eudragit FS30D); o copolímeros de ácido maleico.

[0050] La forma de dosis farmacéutica de liberación retardada puede ser dependiente del pH y, por lo tanto, puede utilizar polímeros solubles en pH intestinal.

En algunas modalidades, la forma de dosis farmacéutica de liberación retardada puede ser una forma de dosis recubierta entérica, en particular una cápsula recubierta entérica como una cápsula blanda de gelatina recubierta entérica o cápsula dura recubierta entérica, más particularmente una cápsula blanda de gelatina ovalada recubierta entérica, aún más particularmente una cápsula blanda de gelatina ovalada de 7.5 o menor recubierta entérica. En algunas modalidades, la cápsula de gelatina tiene una dureza entre 8 y 12 N de acuerdo con la prueba indicada más adelante, en particular de 9.5N. Formas de dosis más pequeñas pueden ser incluso más convenientes para entregar la molécula poco permeable en el intestino. La forma de dosis de liberación retardada con un tamaño de 3 mm o menos puede pasar a través del ingreso pilórico más rápido que formas de dosis más grandes y luego liberar más rápido la molécula poco permeable en el intestino después de la absorción por parte del paciente. En ese caso, la dosis para administración puede requerir una forma de dosis que comprende varias formas de dosis pequeñas ingeridas simultáneamente.

[0051] La fabricación de una formulación de cápsula blanda de gelatina recubierta entérica es bien conocida por un experto en la materia, tal como se describe en US 9,259,389, la cual se incorpora acá por referencia en su totalidad.

[0052] La forma de dosis farmacéutica final de liberación retardada puede ser monolítica o multiparticulada. Esto significa que tanto la forma de dosis final (cápsula dura, cápsula blanda, u otras formas de dosis) como los productos intermedios (bolas, gránulos...) pueden ser recubiertos. Una forma de dosis particular puede ser una forma multiparticulada (bolas recubiertas llenas en cápsulas duras, gránulos o bolas usados para formar varias tabletas pequeñas) con el fin de minimizar la variabilidad interindividual. Ejemplos de plastificantes para el recubrimiento entérico que puede estar asociado con los derivados acrílicos (tal como, Eudragit L) son los siguientes: glicerol, propilenglicol, sorbitol, mezclas de sorbitol/sorbitan, dietilftalato,

dibutilftalato, dibutilsebacato, trietilcitrato, triacetina, monoglicérido 9-45 acetilado, polietilenglicol.

Actividad Terapéutica

[0053] Las formulaciones divulgadas acá pueden tener la misma actividad terapéutica que la molécula poco permeable o una sal de ésta, la cual está contenida allí. Así, esta divulgación también se relaciona con una forma de dosis farmacéutica entérica divulgada acá para uso como un medicamento.

[0054] El término “cantidad terapéuticamente efectiva” como se usa acá se puede referir a una cantidad de un agente necesario para tratar, mejorar, o prevenir la condición o enfermedad objetivo, o para exhibir un efecto terapéutico o preventivo detectable. En general, la dosis terapéuticamente efectiva puede ser calculada con base en los datos disponibles para la administración parenteral del producto en humanos.

[0055] Las dosis efectivas de los compuestos divulgados acá pueden ser comprobadas por métodos convencionales. El nivel de dosis específico requerido para cualquier paciente particular dependerá de un número de factores; incluyendo severidad de la condición que está siendo tratada, la salud general del paciente (es decir, edad, peso y dieta), el género del paciente, el tiempo y frecuencia de administración, y la tolerancia/respuesta a terapia. En general, sin embargo, la dosis diaria (bien se administrada como una dosis única o como dosis divididas) estará en el rango de 1 a 1000 mg por día, y más usualmente de 5 a 200 mg por día. Alternativamente, las dosis pueden ser administradas por unidad de peso corporal y, en este caso, una dosis típica estará entre 0.01 µg/kg y 50 mg/kg, especialmente entre 10 µg/kg y 10 mg/kg, entre 50 µg/kg y 2 mg/kg.

Ejemplo 1

[0056] Las composiciones de ejemplo de las formulaciones divulgadas acá se pueden encontrar en la siguiente Tabla 2:

TABLA 2

	F1		F2		F3		F4	
	(g)	%w/w	(g)	%w/w	(g)	%w/w	(g)	%w/w
API	0.03	0.5	0.03	0.5	0.03	0.5	0.03	0.5
Miglyol 812N	3.18	63.55	3.24	64.7			2.27	44.8
Capmul MCM	1.09	21.55	1.24	24.8	1.54	29.9	1.25	24.9
Tween 80	0.48	9.78	0.50	10			0.51	10
Agua	0.25	4.62						
Trietilcitrate					1.00	19.8	1.00	19.8
Kolliphor EL					1.76	34.8		
PEG 400					0.25	5		
Propilenglicol					0.50	10		
Total	5.03	100	5.01	100	5.08	100	5.06	100

[0057] El API en las formulaciones anteriores fue un péptido con cinco aminoácidos con un peso molecular de aproximadamente 700 g/mol. En las formulaciones anteriores, Miglyol, Capmul, y Trietilcitrate son mejoradores de permeación, Tween y Kolliphor EL son tensoactivos para ayudar con la cinética de digestion y luego mejorar el efecto de Miglyol y Capmul. Agua y PEG 400 y propilenglicol solubilizan el API, pero no tienen actividad en la permeabilidad. Las formulaciones están diseñadas para actuar sobre la poca permeabilidad de las moléculas contra la membrana intestinal. La inestabilidad química y física del tracto gastrointestinal y la pérdida de actividad debido a condiciones acídicas en el estómago pueden ser manejadas por el recubrimiento.

[0058] Las formulaciones 1-4 (F1-F4) fueron preparadas como se describe en US 9,259,389 y son usadas como un comparador para ver la mejora de la biodisponibilidad suministrada por la invención divulgada acá:

[0059] Preparación de formulación 1: La cantidad de API primero es disuelta en agua, luego se adiciona el Tween 80. La mezcla resultante es agitada para obtener una solución homogénea. Luego, se adiciona una solución de Miglyol 812N y Capmul MCM en una relación definida (ver Tabla 2), a la mezcla anterior. La emulsión final es agitada a temperatura ambiente hasta que se obtiene una mezcla

homogénea (sin separación de fase, API completamente disuelto). Esta formulación debe ser estabilizada con dióxido de silicio.

[0060] Preparación de formulación 2: Esta formulación abarca una formulación inventiva. Capmul MCM y Miglyol 812N en la relación seleccionada se mezclan
5 juntos a temperatura ambiente. Luego, se adiciona Tween 80 en la cantidad definida a la solución. La mezcla resultante es homogenizada bajo agitación a temperatura ambiente. La cantidad de API es adicionada al final y la mezcla final es agitada hasta tener una suspensión homogénea (sin separación de fase, API bien disperso en el relleno).

10 **[0061]** Preparación de formulación 3: Esta formulación es otra solución del API con una digestibilidad relativamente baja, pero con un mejorador de permeación alternativo (trietilcitrato). La cantidad de API primero es disuelta en una solución de PEG400 y propilenglicol, luego se adiciona el trietilcitrato y Kolliphor EL. El Capmul MCM es adicionado al final. La mezcla resultante es agitada a temperatura ambiente
15 para obtener una solución homogénea (sin separación de fase, API completamente solubilizado).

[0062] Preparación de formulación 4: Capmul MCM y Miglyol 812N en la relación seleccionada se mezclan juntos a temperatura ambiente. Tween 80 y trietilcitrato en la cantidad definida luego se adicionan secuencialmente a la solución. La mezcla
20 resultante es homogenizada bajo agitación a temperatura ambiente. La cantidad de API es adicionada al final y la mezcla final es agitada hasta obtener una suspensión homogénea (sin separación de fase, API bien disperso en el relleno).

[0063] Otros vehículos ejemplares para la entrega de API pueden incluir: Crodamol GMCC-SS/ Citrato de Trietilo/ Kolliphor EI/ PEG 400/ Propilenglicol,
25 Miglyol 812N/ Crodamol GMCC-SS/ Tween 80, Miglyol 812N/ Crodamol GMCC-SS/ Citrato de Trietilo/ Tween 80, Miglyol 812N/ Crodamol GMCC-SS/ Tween 80 con adición de agua.

[0064] Digestibilidad de las Formulaciones Divulgadas Acá

[0065] Con relación a la relación del ingrediente digestible (Miglyol 812N y Capmul MCM), más de 85%, las formulaciones 1 (emulsión inversa) y 2 (API en suspensión) son altamente digestibles. Después de 30 minutos de digestión, la formulación 1 liberó 2.3 mmol de ácido graso por gramo de formulación y la formulación 2 liberó 2.1 mmol de ácido graso por gramo de formulación. Después de 3 horas, la cantidad máxima de ácido graso liberado por la formulación 1 y 2 es aproximadamente 2.8 mmol por gramo de formulación, esta cantidad liberada es la liberación máxima posible para todas las cuatro formulaciones. Más de 75% del ácido graso es liberado en menos de 30 minutos en estas dos formulaciones. La formulación 3 (API en solución) sin triglicérido (Miglyol 812N) liberó la menor cantidad de ácido graso: 0.6 mmol de ácido graso por gramo de formulación después de 3 horas de digestión. Después de 30 minutos de digestión, únicamente 0.3 (50%) mmol de ácido graso por gramo de formulación son liberados. La formulación 4 liberó una cantidad total intermedia de ácido graso (2.0 mmol de ácido graso por gramo de formulación después de 3 horas de digestión) en comparación con las otras tres, dado que el nivel de ingredientes digestibles es aproximadamente 70%. 1.7 mmol de ácido graso son liberados después de 30 minutos lo que corresponde a aproximadamente 85% de liberación dentro de 30 minutos.

[0066] La siguiente Tabla 3 ilustra la biodisponibilidad de un péptido de cinco aminoácidos de aproximadamente 700 Da. Este péptido no fue sensible a degradación enzimática y se incluyó en una formulación divulgada acá después de administración a perros.

TABLA 3

Formulación	1	2	3	4
AUC promedio (n= 6)	17694	59321*	18786	32061
Desviación estándar	7317	10296	15547	14439
F (%)	11	37	12	20

*n=5

[0067] Se ha realizado un estudio farmacocinético después de administración intraduodenal de las formulaciones en perros utilizando perros Beagle macho no ingenuos (6.5 a 10 kg) para determinar la biodisponibilidad de la molécula poco permeable, cuando es entregada en una formulación de acuerdo con la presente invención. Para hacerlo, la formulación de relleno fue administrada por medio de un endoscopio bajo anestesia.

[0068] Los animales fueron anestesiados usando una inyección intramuscular de Rompun a 0.03 mL/kg seguido por una inyección intramuscular de Zoletil 100® a 0.1 ML/kg o cualquier medicamento similar.

[0069] La formulación de prueba fue entregada de forma intraduodenal (por lo menos 4 cm después del esfínter pilórico) usando una jeringa plástica ajustada con un catéter, la cual se pasa a través de un canal central de un endoscopio mientras que el animal era ubicado descansando sobre su lado izquierdo durante la endoscopia. La dosis de molécula poco permeable a administrar fue ajustada para el peso corporal de cada perro registrado en el día de la administración, de modo que cada perro recibió la misma dosis por kg de peso corporal de animal.

[0070] Antes de cada administración y entre cada animal, el catéter fue lavado con 5 mL de NaCl 0.9% y con por lo menos 20 mL de aire. Se recolectaron 1 mL de muestras sanguíneas en varios puntos de tiempo (usualmente antes de la administración; 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 horas después de la administración) de las venas safenas o cefálicas de animales sin anestesiarse, en tubos de citrato de sodio. El plasma sanguíneo fue recolectado después de centrifugación de las muestras (10 minutos, 3000 g +4°C) y se almacenaron a -20°C hasta el análisis.

[0071] Estudio Farmacocinético después de Administración Intravenosa:

[0072] La farmacocinética de la molécula poco permeable estudiada ha sido investigada después de la inyección intravenosa con el fin de calcular sus parámetros farmacocinéticos y la biodisponibilidad después de administración oral o intraduodenal.

[0073] Los perros se dejaron en ayunas por un periodo de 14 horas antes de cada administración intravenosa y se alimentaron 6 horas después de la administración (durante la medición de cinética). Para administración intravenosa, la molécula poco permeable fue administrada a los perros, como una inyección de bolo única en una vena periférica (vena safena o cefálica) usando una jeringa plástica.

[0074] La dosis de molécula poco permeable a administrar fue ajustada al peso corporal de cada perro registrado en el día de la administración, de modo que cada perro recibió la misma dosis por kg de peso corporal animal. Muestras sanguíneas de 1mL fueron recolectadas en varios puntos de tiempo (usualmente antes de la administración; 0.083, 0.166, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 h después de la administración) de venas safena o cefálica de animales sin anestesia, en tubos de citrato de sodio. Las muestras de plasma fueron preparadas como se detalló anteriormente (centrifugación y almacenamiento a -20°C, hasta análisis posterior).

Ejemplo 2

Las composiciones de ejemplo de las formulaciones divulgadas se pueden encontrar en la siguiente Tabla 4:

TABLA 4

	F5	F6	F7	F8
	%p/p	%p/p	%p/p	%p/p
API		3.0	6.0	12.0
Miglyol 812N	65	63.0	61.1	57.2
Capmul MCM	25	24.3	23.5	22
Tween 80	10	9.7	9.4	8.8
Total	100	100	100	100

[0075] El API fue un mimético de anticuerpo. La formulación F5 fue equivalente a la formulación placebo F2. Las formulaciones F6 a F8 fueron usadas para probar el aumento de carga de medicamento.

[0076] Digestibilidad de la formulación divulgada acá:

[0077] En la formulación placebo (F5), la liberación de ácidos grasos libres es rápida: más de 85% de parte digestible de la formulación es digerida en menos de 30 minutos liberando ácidos grasos libres (principalmente ácidos grasos C8 y C10) conocidos por aumentar la permeabilidad a través de la membrana intestinal.

5 [0078] Fabricación de la formulación:

[0079] La formulación placebo es preparada a temperatura ambiente mediante la adición de los tres excipientes juntos en una relación definida (ver Tabla 4) y mezclar bajo agitación magnética hasta que se logra una solución de fase única (es decir, sin separación de fase después de 24h sin agitación).

10 [0080] El API seleccionado para el Ejemplo 2 es una proteína de aproximadamente 12kDa y, más específicamente, es un mimético de anticuerpo. El API liofilizado fue triturado con un mortero y majadero antes de su adición en la formulación placebo. La cantidad seleccionada de API (ver Tabla 4) que corresponde a la formulación a ser fabricada, es adicionada lentamente a la solución placebo bajo agitación continua. Después de la adición de toda la cantidad de API, la mezcla resultante es homogenizada con agitación durante por lo menos 24h.

[0081] La siguiente Tabla 5 ilustra la biodisponibilidad de la proteína incluida en una formulación divulgada acá después de la administración a ratas (Formulaciones 6, 7, y 8) y perros (Formulación 7).

TABLA 5

Formulación	6	7		8
		Rata	Perro	
AUC promedio (n=4)	4954	9305	1863	3639
Desviación estándar	6045	5109	746	4022
F (%)	2.2	2.1	N/A	0.4

[0082] Las formulaciones 6, 7, y 8 son administradas a la rata por medio de una inyección directa en el procedimiento de duodeno. 250 mg de formulación fueron

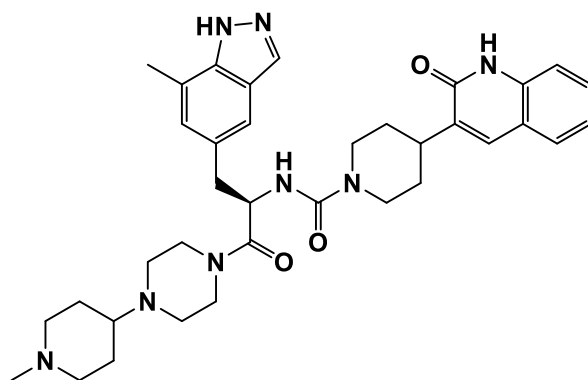
dosificados por rata (ratas Sprague Dawley, n=4). Esto corresponde respectivamente a 25, 50 y 100 mg/kg de pesos corporal de anticuerpo. Se recolectaron muestras de suero en t=0, 3, 8, 24, 24, 72, 120 y 168 horas después de la administración. La concentración de anticuerpo en las muestras de suero fue
5 cuantificada usando un sándwich ELISA específico de anticuerpo. El AUC, desviación estándar y biodisponibilidad (F%) se indican en la tabla anterior. Estos valores serán comparados con una biodisponibilidad equivalente a cero sin ninguna formulación (API en amortiguador PBS).

[0083] Se realizó un estudio en perros con la formulación 7 en cuatro perros

10 Beagle macho no ingenuos en ayunas. Los perros se dejaron en ayunas 15 a 16 horas antes de la administración de la dosis y se volvió a la comida aproximadamente 1 hora después de la dosis. Cada perro recibió cinco cápsulas por día por seis días consecutivos. La dosis fue aproximadamente 10mg/kg de anticuerpo animal por día. Se tomaron muestras de suero antes de la dosis en los
15 días 1, 2, 3, 4, 5 y 6, 2 h después de la dosis en los días 1, 2, 3, 4, 5, y 6, y 1, 2, 4, 8, 24, 48, 96 y 168 h después de la dosis en el día 6. Se cuantificó la concentración de anticuerpo en suero usando un sándwich ELISA específico de anticuerpo. Los resultados mostraron ingesta (absorción) de la molécula de anticuerpo en todos los cuatro animales con alguna variación entre animales contra no absorción cuando el
20 API fue simplemente disuelto en amortiguador PBS.

Ejemplo 3

[0084] BHV-3500 (vazegepant) es un antagonista de receptor CGRP de molécula pequeña de alta afinidad (CGRP humano $K_i = 0.023$ nM), selectivo y
25 estructuralmente único que tiene la siguiente fórmula I:

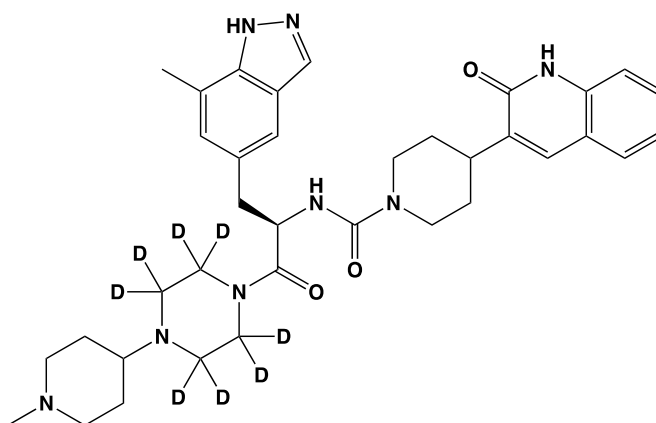


I

[0085] El nombre químico de BHV-3500 es (R)-N-(3-(7-metil-1H-indazol-5-il)-1-(4-(1-metilpiperidin-4-il)piperazin-1-il)-1-oxopropan-2-il)-4-(2-oxo-1,2-

5 dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida. BHV-3500 se describe, por ejemplo, en WO 03/104236 publicada el 18 de diciembre de 2003 y US 8,481,546 emitida el 9 de julio de 2013, las cuales se incorporan acá en su totalidad por referencia. BHV-3500 tiene permeabilidad baja y fue seleccionado como un objeto del presente estudio. BHV-3500-d8, el cual es un análogo octadeuterado de BHV-3500 tiene la

10 siguiente fórmula II:



II

[0086] Se investigó la farmacocinética (PK) de BHV-3500 después de una cápsula oral única de BHV-3500 en perros.

15

MATERIALES Y METODOS

1. Diseño Experimental y Administración

[0087] Para cada grupo, tres perros Beagle hembra fueron dosificados una vez con BHV-3500 como se muestra en la Tabla 6:

Tabla 6: Diseño Experimental

Grupo ^a	Artículo de Prueba	Ruta	Formulación	Dosis
1	BHV-3500	Oral (Cápsula)	Ninguna	20 mg
2	BHV-3500	Oral (Cápsula)	900 mg Formulación 6 ^c	20 mg
3	BHV-3500	Oral (Cápsula)	25 mg DDM ^b	20 mg
4	BHV-3500	Oral (Cápsula)	Ninguna	50 mg
5	BHV-3500	Oral (Cápsula)	900 mg Formulación 6	50 mg
6	BHV-3500	Oral (Cápsula)	25 mg DDM	50 mg
^a Cada grupo consistía de los mismos tres perros beagle; la dosificación ocurrió después de un periodo de lavado de por lo menos 48 horas. ^b <i>n</i> -dodecil β-D-maltosida ^c Una solución prefabricada de SEDSS (sistemas de entrega de medicamento auto emulsionante) excipientes (Miglyol [®] 812 N, Crodamol [™] GMCC-SS y Tween [®] 80)				

5

2. Recolección de Sangre

[0088]

Después de cada dosis, se obtuvieron muestras de sangre (aproximadamente 3 mL de la vena yugular) para determinación de niveles de plasma de BHV-3500 de cada perro en seis puntos de tiempo (antes de dosis; 15, 30, y 60 minutos y 2 y 4 horas después de la dosis). Se utilizó EDTA como el

10

anticoagulante. Las muestras de plasma fueron congeladas a aproximadamente -70°C hasta que se analizaron.

3. Estándares de Referencia e Internos y Preparación de Muestra de Plasma

[0089]

Los estándares de referencia para BHV-3500 y BHV-3500-d8 fueron

15

suministrados y almacenados a temperatura ambiente. Los estándares fueron usados sin purificación adicional para la preparación de muestras de estándares de

calibración y control de calidad (QC) para la determinación de concentraciones de BHV-3500 en muestras de sangre recolectadas durante este estudio.

[0090] Para la determinación de BHV-3500 en plasma, una alícuota de 50 µL de cada muestra fue transferida en un agujero adecuado de una placa de 96 agujeros a la cual se adicionó 10 µL de 50% de acetonitrilo (ACN) en agua, seguido por 250 µL de solución estándar interna (10 ng/mL BHV-3500-d8 en ACN). Después de sellar la placa y agitar por aproximadamente 5 minutos, la placa fue centrifugada a 4000 rpm por 10 minutos a 4±4°C. Una porción (100 µL) del sobrenadante resultante fue transferida en el agujero adecuado (que contiene 300 µL de 0.15% ácido fórmico en agua) de otra placa de 96 agujeros. Esta placa fue sellada y su contenido fue mezclado antes del análisis instrumental.

[0091] Las curvas estándar de BHV-3500 recién preparado y las muestras de QC fueron analizadas junto con las muestras de estudio. Calibradores de instrumento fueron preparados al adicionar 10 µL de una solución de BHV-3500 de inventario a 50 µL de plasma de perro virgen. El plasma de perro virgen fue obtenida de BioIVT (Hicksville, NY) y se almacenó congelado a -20°C. Las concentraciones de calibrador nominales variaron de 2.00 a 200 ng/mL. Las muestras QC fueron preparadas a concentraciones de 6.00, 50.0 y 150 ng/mL. Los calibradores y las muestras QC fueron procesadas para análisis después del proceso de extracción descrito anteriormente.

4. Equipo Analítico y Condiciones

[0092] El calibrador, las muestras QC y de estudio fueron analizadas bajo las condiciones de instrumento LC-MS/MS detalladas en la Tabla 7.

Tabla 7. Condiciones de Operación de Instrumento

SISTEMA:	Triple Quad 5500 LC-MS-MS (SCIEX; Framingham, MA) equipado con un Sistema Agilent 1100 Serie LC (Agilent Technologies, Wilmington, DE)
CONDICIONES HPLC	
Columna HPLC:	Kinetex C18; 50×2.1 mm; 5µm (Phenomenex, Torrance, CA)
Temperatura de Columna	25 °C

Volumen de Inyección:	5 µL																					
Tasa de Flujo:	400 µL/min																					
Fase Móvil A:	0.1% ácido fórmico en agua																					
Fase Móvil B:	0.1% ácido fórmico en acetonitrilo																					
Programa:	<table><tr><th><u>Tiempo</u> <u>(minutos)</u></th><th><u>Fase Móvil A</u> <u>(%)</u></th><th><u>Fase Móvil B</u> <u>(%)</u></th></tr><tr><td>0.00</td><td>80</td><td>20</td></tr><tr><td>0.30</td><td>80</td><td>20</td></tr><tr><td>1.50</td><td>40</td><td>60</td></tr><tr><td>3.50</td><td>40</td><td>60</td></tr><tr><td>4.00</td><td>80</td><td>20</td></tr><tr><td>7.00</td><td>80</td><td>20</td></tr></table>	<u>Tiempo</u> <u>(minutos)</u>	<u>Fase Móvil A</u> <u>(%)</u>	<u>Fase Móvil B</u> <u>(%)</u>	0.00	80	20	0.30	80	20	1.50	40	60	3.50	40	60	4.00	80	20	7.00	80	20
<u>Tiempo</u> <u>(minutos)</u>	<u>Fase Móvil A</u> <u>(%)</u>	<u>Fase Móvil B</u> <u>(%)</u>																				
0.00	80	20																				
0.30	80	20																				
1.50	40	60																				
3.50	40	60																				
4.00	80	20																				
7.00	80	20																				
Tiempo de Ejecución:	7 minutos																					
Tiempo de Retención:	BHV-3500 y BHV-3500- <i>d</i> ₈ : aproximadamente 0.9 minutos FC-10475: aproximadamente 2.6 minutos																					
CONDICIONES MS-MS																						
Tipo de Escaneo:	MRM																					
Fuente de Iones:	Turbo Spray ESI																					
Polaridad:	Positiva																					
Temperatura de Fuente de Iones:	500°C																					
Voltaje de Rociado de Iones:	5000 Voltios																					
Energía de Colisión:	BHV-3500 y BHV-3500- <i>d</i> ₈ : 26 Voltios																					
Iones monitoreados (Q1→Q3):	BHV-3500: 639.4→456.3 BHV-3500- <i>d</i> ₈ : 647.4→456.3																					
Resolución:	Unidad																					
Sistema de Datos:	Analyst® 1.6.3 (SCIEX; Framingham, MA)																					

[0093] Las curvas de calibración fueron calculadas a partir de la regresión lineal (factor de 1/x²) de las relaciones de analito a área pico estándar interna contra las concentraciones de analito. Las concentraciones de analito en las muestras fueron determinadas usando las relaciones de área pico y los parámetros de regresión de las curvas de calibración.

5. Farmacocinética

[0094] Los datos de concentración de BHV-3500 en plasma animal individual en tiempos de muestreo programados (nominales) fueron analizados usando el modelo no compartimental para administración extravascular con software Phoenix WinNonlin (Versión 8.1; Certera, Princeton, NJ).

[0095] Los valores constantes de tasa de eliminación (λ_z) fueron calculados por regresión logarítmica-lineal en puntos de datos de la fase terminal (usando la opción de Método de Cálculo Lambda Z de Mejor Ajuste de Phoenix WinNonlin) cuando se permitió por los datos; la vida media de eliminación de plasma ($t_{1/2}$) fue calculada como $\ln(2)/\lambda_z$. Los valores del área bajo la curva de concentración de plasma-tiempo desde el tiempo cero a la concentración en el punto de tiempo de 4 horas (AUC_{0-4hr}) fueron calculados por la regla trapezoidal lineal-arriba/logarítmica-abajo.

[0096] Los niveles de dosis nominal fueron usados para análisis PK. Los parámetros PK indicados más adelante fueron evaluados (como sea aplicable y cuando los datos permitieron).

- Vida media de eliminación ($t_{1/2}$)
- Tiempo de ocurrencia de concentración máxima de plasma (T_{max})
- Concentración máxima de plasma (C_{max})
- Área bajo la curva de concentración de plasma-tiempo [0 al punto de tiempo de 4 horas; AUC_{0-4hr}]

[0097] Las abreviaciones de PK y unidades de medida se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8. Definiciones de Parámetro PK y Abreviaciones

Parámetro	Unidad	Definición
Rs _q	N/A	Correlación de la línea que se ajusta a la fase terminal
$t_{1/2}$	hr	Vida media de eliminación, determinado por $\ln(2)/\lambda_z$
T_{max}	hr	Tiempo de ocurrencia de concentración máxima de plasma
C_{max}	ng/mL	Concentración máxima observada de medicamento en plasma
AUC _{0-4hr}	hr*ng/mL	Área bajo la curva de concentración de plasma-tiempo desde el tiempo cero al punto de tiempo de 4 horas

RESULTADOS

[0098] Las determinaciones de concentración de BHV-3500 se presentan en la Tabla 9, y se muestran gráficamente en las Figuras 1 y 2.

Tabla 9. Concentración de BHV-3500 en Plasma de Perro

Grupo	ID de Animal Hembra	Punto de Tiempo de Recolección de Sangre					
		Antes de Dosis	Horas Después de Dosis				
			0.25	0.5	1	2	4
		Concentración de BHV-3500 (ng/mL)					
Grupo 1 Oral (Cápsula) 20 mg BHV-3500; sin vehículo	01-PWS	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	05-GJU	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	06-VWU	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	Promedio:	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	STD:	-	-	-	-	-	-
	%RSD:	-	-	-	-	-	-
Grupo 2 Oral (Cápsula) 20 mg BHV-3500 en 900 mg de un vehículo divulgado en la Formulación 2 (Excipientes SEDDS)	01-PWS	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
	05-GJU	BQL	BQL	BQL	2.57	19.4	BQL
	06-VWU	BQL	BQL	BQL	BQL	8.94	3.09
	Promedio:	BQL	BQL	BQL	2.57	14.2	3.09
	STD:	-	-	-	-	7.4	-
	%RSD:	-	-	-	-	52	-
Grupo 3 Oral (Cápsula) 20 mg BHV-3500 en un vehículo de 25 mg de DDM	01-PWS	BQL	BQL	BQL	BQL	9.60	BQL
	05-GJU	BQL	BQL	14.0	3.56	BQL	BQL
	06-VWU	BQL	BQL	BQL	BQL	28.2	2.18
	Promedio:	BQL	BQL	14.0	3.56	18.9	2.18
	STD:	-	-	-	-	13	-
	%RSD:	-	-	-	-	70	-
BQL = por debajo del límite de cuantificación (2.0 ng/mL)							

Grupo	ID de Animal Hembra	Punto de Tiempo de Recolección de Sangre					
		Antes de Dosis	Horas Después de Dosis				
			0.25	0.5	1	2	4
			Concentración de BHV-3500 (ng/mL)				
Grupo 4 Oral (Cápsula) 50 mg BHV-3500; Sin Vehículo	01-PWS	BQL	BQL	BQL	2.25	7.57	BQL
	05-GJU	BQL	BQL	BQL	4.25	4.35	BQL
	06-VWU	BQL	BQL	BQL	3.55	6.61	BQL
	Promedio:	BQL	BQL	BQL	3.35	6.18	BQL
	STD:	-	-	-	1.0	1.7	-
	%RSD:	-	-	-	30	27	-
Grupo 5 Oral (Cápsula) 50 mg BHV-3500 en 900 mg de un vehículo divulgado en la Formulación 2 (Excipientes SEDDS)	01-PWS	BQL	BQL	BQL	6.19	13.8	6.88
	05-GJU	BQL	BQL	BQL	5.55	6.90	2.62
	06-VWU	BQL	BQL	BQL	22.7	101	14.4
	Promedio:	BQL	BQL	BQL	11.5	40.6	7.97
	STD:	-	-	-	9.7	52	6.0
	%RSD:	-	-	-	85	129	75
Grupo 6 Oral (Cápsula) 50 mg BHV-3500 en un vehículo de 25 mg de DDM	01-PWS	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	5.34
	05-GJU	BQL	BQL	BQL	2.42	BQL	BQL
	06-VWU	BQL	BQL	BQL	BQL	6.05	12.0
	Promedio:	BQL	BQL	BQL	2.42	6.05	8.67
	STD:	-	-	-	-	-	4.7
	%RSD:	-	-	-	-	-	54
BQL = por debajo del límite de cuantificación (2.0 ng/mL)							

[0099] Los parámetros PK se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Resultados de Análisis de Parámetro PK: BHV-3500

Grupo	ID de Animal Hembra	Parámetro PK				
		Rsq	t _{1/2} (hr)	T _{max} (hr)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-4hr} (hr*ng/mL)
Grupo 1 Oral (Cápsula) 20 mg BHV-3500; sin vehículo	01-PWS	NC	NC	NC	NC	NC
	05-GJU	NC	NC	NC	NC	NC
	06-VWU	NC	NC	NC	NC	NC
	Media / Promedio:	-	-	-	-	-
	STD:	-	-	-	-	-
	%RSD:	-	-	-	-	-
Grupo 2 Oral (Cápsula) 20 mg BHV-3500 en 900 mg de un vehículo divulgado en la Formulación 2 (Excipientes SEDDS)	01-PWS	NC	NC	NC	NC	NC
	05-GJU	NC	NC	2	19.4	NC
	06-VWU	NC	NC	2	8.94	19.8
	Media / Promedio:	-	-	2	14.2	19.8
	STD:	-	-	-	7	-
	%RSD:	-	-	-	52	-
Grupo 3 Oral (Cápsula) 20 mg BHV-3500 en un vehículo de 25 mg de DDM	01-PWS	NC	NC	2	9.60	NC
	05-GJU	NC	NC	0.5	14.0	NC
	06-VWU	NC	NC	2	28.2	48.1
	Media / Promedio:	-	-	2	17.3	48.1
	STD:	-	-	-	10	-
	%RSD:	-	-	-	56	-
NOTAS: [1]. t _{1/2} y T _{max} son reportados como media; C _{max} y AUC _{0-4hr} son reportados como promedio [2]. NC = no calculable						

Grupo	ID de Animal Hembra	Parámetro PK				
		Rsq	t _{1/2} (hr)	T _{max} (hr)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-4hr} (hr*ng/mL)
Grupo 4 Oral (Cápsula) 50 mg BHV-3500; sin vehículo	01-PWS	NC	NC	2	7.57	NC
	05-GJU	NC	NC	2	4.35	NC
	06-VWU	NC	NC	2	6.61	NC
	Media / Promedio:	-	-	2	6.18	-
	STD:	-	-	-	1.7	-
	%RSD:	-	-	-	27	-
Grupo 5 Oral (Cápsula) 50 mg BHV-3500 en	01-PWS	NC	NC	2	13.8	32.8
	05-GJU	NC	NC	2	6.90	17.7
	06-VWU	NC	NC	2	101	161

900 mg de un vehículo divulgado en la Formulación 2 (Excipientes SEDDS)	Media / Promedio:	-	-	2	40.6	70.6
	STD:	-	-	-	52	79
	%RSD:	-	-	-	129	112
Grupo 6 Oral (Cápsula) 50 mg BHV-3500 en un vehículo de 25 mg de DDM	01-PWS	NC	NC	4	5.34	10.6
	05-GJU	NC	NC	1	2.42	NC
	06-VWU	NC	NC	4	12.0	24.0
	Media / Promedio:	-	-	4	6.59	17.3
	STD:	-	-	-	4.9	9
	%RSD:	-	-	-	75	55
NOTAS: [1]. $t_{1/2}$ y T_{max} son reportados como media; C_{max} y AUC_{0-4hr} son reportados como promedio [2]. NC = no calculable						

RESUMEN

[0100] Cuando BHV-3500 fue administrado sin vehículo a perros a 20 mg como una cápsula oral (Grupo 1, sin vehículo) los niveles de plasma estaban por debajo de los límites de cuantificación (BQL) en todos los puntos de tiempo. Únicamente cuando la dosis de 20 mg fue entregada en combinación con el Vehículo 6 y DDM (Grupos 2 y 3, respectivamente) fue BHV-3500 medible en plasma (ver Figura 1). En esta dosis de 20 mg, el BHV-3500 en plasma fue BQL en el punto de tiempo de 15 minutos más temprano para los Grupos 2 y 3, con las mayores concentraciones vistas en 2 horas después de la dosis con exposiciones medidas de 14.2 y 18.9 ng/mL, respectivamente, lo cual supera la afinidad de BHV-3500 para el receptor de CGRP humano (K_i = 0.023 nM) por 956x (22 nM) y 1,282x (29.5 nM), respectivamente. Cuando BHV-3500 fue administrado sin vehículo a perros a 50 mg como una cápsula oral (Grupo 4, sin vehículo), los niveles de plasma estaban BQL en los puntos de tiempo 15 y 30 min, con niveles medibles encontrados en 1 y 2, pero no 4 horas. Cuando la dosis de 50 mg fue entregada en combinación con el Vehículo 6 (Grupo 5), los niveles de plasma en 1 y 2 horas se aumentaron por 3.4x y 6.6x con exposiciones medias de 11.5 y 40.6 ng/mL, respectivamente, lo cual supera la afinidad de BHV-3500 por el receptor de CGRP humano (K_i = 0.023 nM)

por 782x (18 nM) y 2,763x (63.3 nM), respectivamente (ver Figura 2). Y con el Vehículo 6 los niveles de plasma medibles se encontraron en 4 horas con exposición media de 7.97 ng/mL (a diferencia de la condición sin vehículo (Grupo 4) donde los niveles de pasma de BHV-3500 fueron BQL en 4 horas). Cuando la dosis de 50 mg fue entregada en combinación con DDM (Grupo 6), los niveles de plasma en 1 y 2 horas fueron similares a la condición sin vehículo (Grupo 4). Con DDM (Grupo 6) en 4 horas (en contraste a la condición sin vehículo donde los niveles de plasma en 4 horas fueron BQL), los niveles de plasma medibles de BHV-3500 se encontraron a 4 horas con exposición media de 8.67 ng/mL, lo cual supera la afinidad de BHV-3500 por el receptor de CGRP humano ($K_i = 0.023$ nM) por 590x (13.5 nM).

[0101] El resumen de resultados de PK se muestra en la Tabla 11.

Tabla 11.

Grupo	Parámetro PK			
	t _{1/2} (hr)	T _{max} (hr)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-4hr} (hr*ng/mL)
BHV-3500				
Grupo 1 Oral (Cápsula) 20 mg BHV-3500; sin vehículo	X	X	X	X
Grupo 2 Oral (Cápsula) 20 mg BHV-3500 en 900 mg de un vehículo divulgado en la Formulación 2 (Exceipientes SEDDS)	NC	2	14.2 ± 7	19.8 ± 0
Grupo 3 Oral (Cápsula) 20 mg BHV-3500 en un vehículo de 25 mg de DDM	NC	2	17.3 ± 10	48.1 ± 0
Grupo 4 Oral (Cápsula) 50 mg BHV-3500; Sin Vehículo	NC	2	6.18 ± 1.7	NC
Grupo 5 Oral (Cápsula) 50 mg BHV-3500 en 900 mg de un vehículo divulgado en la Formulación 2 (Excipientes SEDDS)	NC	2	40.6 ± 52	70.6 ± 79
Grupo 6 Oral (Cápsula) 50 mg BHV-3500 en un vehhículo de 25 mg of DDM	NC	4	6.59 ± 4.9	17.3 ± 9
Nota: t _{1/2} y T _{max} se reportan como media; C _{max} y AUC _{0-4hr} se reportan como promedio± desviación estándar; N=3 (nominal); NC=no calculado; NA=no aplicable; X=sin exposición de plasma.				

DESCRIPCION DEL PROTOCOLO DE ESTUDIO

[0102] Título del Estudio: Estudio de cápsula oral de dosis única de BHV-3500 en perros.

[0103] Objetivo del Estudio: Determinar la farmacocinética de formulaciones en
5 cápsula de BHV-3500 después de una dosis única oral y sublingual en perros.

[0104] Duración del Estudio: 3 semanas.

[0105] Formulación de Artículo de Prueba:

[0106] *Identificación*. El artículo de prueba se identifica como BHV-3500. El artículo de prueba será suministrado como cápsulas.

10 **[0107]** *Peligro al Personal*. Se seguirán procedimientos de seguridad rutinarios usados para el manejo de químicos peligrosos y potencialmente peligrosos para asegurar la salud y la seguridad del personal que maneja el artículo de prueba.

[0108] *Caracterización del Artículo de Prueba*. Se suministrará un certificado de análisis (u otro documento adecuado) que verifica la identidad y pureza de los
15 artículos de prueba.

[0109] *Preparación de Dosis y Análisis*. No se realizará análisis en las formulaciones de dosificación.

[0110] *Almacenamiento*. Las cápsulas de BHV-3500 se almacenarán a temperatura ambiente.

20 **[0111]** *Disposición y Retención de Muestra*. Todas las cantidades de los artículos de prueba que son dispensados serán documentadas. Las muestras de retención no son requeridas para un estudio de esta duración.

[0112] *Base para la Selección de Dosis de los Artículos de Prueba*. Los niveles de dosis de los artículos de prueba fueron seleccionados sobre la base de estudios
25 de PK anteriores con los artículos de prueba.

[0113] *Ruta de Administración*. El artículo de prueba será administrado oralmente (cápsula), dado que esta es una de las rutas de administración destinadas en humanas, así como sublingualmente.

[0114] *Disposición del Artículo de Prueba.* Al completar el estudio, cualquier artículo de prueba restante será devuelto y descartado.

[0115] Diseño Experimental:

[0116] Ver la Tabla 6 anterior.

5 [0117] Sistema de Prueba:

[0118] *Animales de Prueba.* Tres (3) perros Beagle hembra son obtenidos de Ridgland Farms, Mount Horeb, WI para uso en este estudio. Todos los animales fueron inmunizados contra moquillo, adenovirus tipo 2, parainfluenza, Bordetella, rabia, virus de papiloma, y parvovirus por el proveedor. Los perros tendrán
10 aproximadamente un año de edad y pesan aproximadamente 8 a 12 kg al comienzo de la dosis. Los mismos 3 animales serán usados para todas las administraciones del artículo de prueba.

[0119] *Justificación.* El perro es una especie estándar usada para estudios no clínicos de toxicidad, y es aceptada por la Administración de Alimentos y
15 Medicamentos de EE.UU. como un sistema de modelo de animal grande (no roedor) para la evaluación de seguridad de farmacocinética de agentes farmacéuticos.

[0120] *Justificación para Número de Animales.* El número de animales usados es el mínimo necesario para obtener datos significativos. Al conocimiento del Patrocinador y el Director del Estudio, el conducto de este estudio no resultará en
20 duplicación innecesaria de datos existentes con relación a especie, artículo de prueba, dosis, ruta, y duración de administración.

[0121] *Vivienda.* Los perros se alojarán individualmente en jaulas equipadas con sistemas de agua automáticos. Las jaulas se limpiarán diariamente. Los perros se alojarán de acuerdo con los Estándares de Bienestar del Departamento de
25 Agricultura de EE.UU. (Título 9, Código de Regulación Federal, Parte 3, Revisión de 1991) y los estándares definidos en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (Consejo Nacional de Investigación, 2011).

[0122] *Alimento.* Dieta Canina Certificada #2021C (Harlan Teklad, Madison, WI).

Aproximadamente 400 g de alimento estarán disponibles para cada perro diariamente por un mínimo de 2 horas. Cada lote de dieta es analizado por contaminantes para asegurar que no hay ninguno presente en las concentraciones que se esperaría que interfieren con la realización o propósito de este estudio. Los datos analíticos de los lotes de dieta a ser usados en el estudio serán retenidos en archivo en la instalación de prueba. Los perros se dejarán en ayunas antes de la dosificación. El alimento será suministrado aproximadamente una hora después de la dosis.

[0123] *Agua.* Agua filtrada de la Ciudad de Chicago será suministrada *ad libitum* a todos los perros por medio de un sistema de agua automático. El agua es analizada periódicamente por contaminación bacteriana y composición química (por ejemplo, electrolitos, metales, etc.). Los registros del análisis de agua son retenidos en el archivo en la instalación de prueba. No se encontraron presentes en el agua contaminantes esperados por interferir con el estudio.

[0124] *Identificación del Animal.* Cada perro será identificado por un número de tatuaje de USDA en la oreja derecha o izquierda. A cada perro también le será asignado un número único dentro del estudio. Todas las jaulas serán identificadas por el Número de Proyecto, Número de Animal, y Sexo. Tarjetas de jaula serán codificadas con color de acuerdo con el grupo.

[0125] *Control Ambiental.* La temperatura y la humedad relativa en el cuarto del animal serán registrados manualmente cada día. Un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas (mantenido con un temporizador automático) será utilizado. Los cuartos de los animales se mantendrán dentro de los rangos de temperatura y humedad relativa de aproximadamente 20°C a 25°C y 30%-70%, respectivamente.

[0126] Métodos:

[0127] *Cuarentena.* Los animales comprados para este estudio fueron mantenidos en cuarentena por al menos dos semanas antes de la administración

del artículo de prueba. A lo largo del periodo de cuarentena, los animales serán observados por lo menos una vez al día por mortalidad o evidencia de morbilidad.

[0128] *Aleatorización.* Después que los animales han sido liberados de la cuarentena, los animales serán asignados aleatoriamente en grupos. Antes de la
5 aleatorización, cada perro recibirá una observación clínica detallada para asegurar su idoneidad como un animal de prueba.

[0129] *Administración.* Los animales en los grupos 1 a 2 recibirán una administración de cápsula oral única de BHV-3500 a 20 mg/perro. Los animales en los grupos 4 a 6 recibirán una administración oral (cápsula) única de BHV-3500 a
10 una dosis de 50 mg/perro. Cada grupo será seguido por un periodo de lavado de por lo menos 48 horas antes que el próximo grupo sea dosificado.

[0130] *Observaciones de Morbilidad/Mortalidad.* Antes del inicio de la dosificación, los animales serán observados por lo menos una vez al día por mortalidad o evidencia de morbilidad. Al iniciar la dosificación y luego a lo largo del
15 resto de los periodos de observación, todos los animales de estudio sobrevivientes serán observados por lo menos dos veces al día por mortalidad o evidencia de morbilidad y para evaluar su salud general. Cualquier señal clínica anormal será registrada. Las revisiones de morbilidad/mortalidad estarán separadas por un mínimo de cuatro horas.

20 **[0131]** *Animales Moribundos.* Durante las observaciones de morbilidad/mortalidad, cualquier animal juzgado como que probablemente no sobrevivirá hasta el próximo periodo de observación programado será, con consentimiento del Veterinario y el Director de Estudio, removido del estudio, pesado, sacrificado, y con necropsia. Estos animales serán registrados en el
25 cuaderno del estudio como que es sacrificado *in extremis*. Los animales muertos serán removidos inmediatamente para necropsia y la muerte será registrada en el cuaderno de estudio.

[0132] *Animales Heridos o Enfermos.* Los animales en la prueba serán tratados por cualquier enfermedad o lesión en conformidad con la práctica veterinaria estándar. Un registro completo de las circunstancias y la disposición de cualquier animal afectado será realizado en el cuaderno de estudio. Cualquier animal que posea una amenaza infecciosa potencial a otros estudios será aislado.

[0133] *Observaciones Clínicas.* La observación clínica se hará aproximadamente 1 hora después de cada administración de dosis.

[0134] *Manejo de Peso Corporal.* Los animales serán pesados antes de cada dosis.

[0135] *Medidas de Ingesta de Alimentos.* La ingesta de alimento animal individual no será medida en este estudio.

[0136] *Nivel de Medicamento en Plasma.* Muestras de sangre (aproximadamente 3 mL recolectados de la vena yugular) para determinación de los niveles de plasma de BHV-3500 serán obtenidas de cada perro en seis puntos de tiempo (antes de la dosis; 15, 30, y 60 minutos, 2 y 4 horas) después de cada dosis. Se utilizará EDTA como anticoagulante. Las muestras de plasma serán congeladas a aproximadamente -70°C hasta que sean analizadas en el centro de pruebas para concentración de BHV-3500. El modelado farmacocinético incluirá AUC, $t_{1/2}$, T_{max} , y C_{max} .

[0137] *Post mortem.* Este es un estudio no terminal. Los perros volverán a cuarentena después de la última recolección de sangre.

[0138] *Cuadernos de Datos.* Todos los datos en papel originales generados por el centro de pruebas serán mantenidos en cuadernos de hoja suelta. Los datos de papel a ser mantenidos en cuadernos de hoja suelta incluirán, pero no necesariamente se limitarán a, lo siguiente:

- el Protocolo firmado original y cualquier modificación y/o desviación;
- registros de recibo de animal;
- registros de cuidado de animal;

- datos de artículo de prueba;
- datos de recolección de sangre;
- datos TK.

Los datos capturados electrónicamente usando ToxData® (por ejemplo, administración de dosis, datos de morbilidad/mortalidad diaria y ambientales, observaciones clínicas, pesos corporales, etc.) serán mantenidos dentro de la base de datos del sistema de computación; copias electrónicas de los archivos ToxData®.htm también serán respaldados en CD-ROM y los discos serán mantenidos con los datos originales.

10 **[0139]** *Alteración de Diseño.* Las alteraciones en el Protocolo pueden ser a medida que el estudio progresa en la forma de una modificación de protocolo. No se harán cambios en el Protocolo sin el consentimiento escrito específico del Patrocinador.

15 **[0140]** *Estándares Regulatorios y Cumplimiento.* Debido a la naturaleza piloto de este estudio, el estudio no será realizado en cumplimiento con las regulaciones de Buena Práctica Laboral (GLP) definida por la FDA de EE.UU. (Título 21 del Código de Regulaciones Federales, Parte 38). El estudio será realizado de acuerdo con los procedimientos de operación estándar del centro de prueba.

20 **[0141]** *Reporte.* Una versión en borrador del reporte será preparada y presentada al Patrocinador para revisión. La información en el reporte incluirá, pero no necesariamente estará limitada a, la siguiente:

- Copia del protocolo aprobado, incluyendo cualquier modificación y/o desviación
- Especie y cepa de animal usado
- 25 • Datos de observación clínica
- Datos de peso corporal
- Datos de nivel de medicamento en plasma
- Datos farmacocinéticos

[0142] Después de la revisión del Patrocinador del reporte en borrador, un reporte final será presentado al Patrocinador.

[0143] *Retención de Datos.* Todos los datos originales generados como resultado de este estudio y una copia del reporte final del estudio serán archivados en el centro de pruebas por un periodo de un año a partir de la fecha de terminación del estudio. El Patrocinador será responsable por todos los costos asociados con el almacenamiento continuo de los materiales de archivo en los archivos del centro de pruebas o por el envío de estos materiales a otra instalación de almacenamiento. El centro de pruebas OAU mantendrá un registro completo de la disposición de todos los materiales de archivo.

[0144] *Personal.* Las hojas de vida de todo el personal del centro de pruebas involucrado en la ejecución del estudio están en archivo en el centro de pruebas.

[0145] *Aprobación de Protocolo.* Este protocolo cumple con los documentos específicos del Patrocinador.

Definiciones

[0146] A menos que se defina lo contrario, todos los términos de arte, notaciones y otros términos técnicos y científicos o terminología utilizada acá pretenden tener el mismo significado como es comúnmente entendido por un experto en la materia al cual le corresponde la materia objeto. En algunos casos, los términos con significados entendidos comúnmente se definen acá para claridad y/o para referencia lista, y la inclusión de dichas definiciones acá no necesariamente se debe considerar como que representa una diferencia sustancial sobre lo que se entiende generalmente en el arte.

[0147] Referencia a “aproximadamente” un valor o parámetro acá incluye (o describe) variaciones que están dirigidas a ese valor o parámetro como tal. Por ejemplo, la descripción que se refiere a “aproximadamente X” incluye la descripción de “X”. adicionalmente, la referencia a frases “menor a”, “mayor a”, “a lo sumo”, “por

lo menos”, “menor o igual a”, “mayor o igual a”, u otras frases similares seguidas por una serie de valores o parámetros significa que aplica la frase de cada valor o parámetro en la serie de valores o parámetros. Por ejemplo, una declaración que una formulación tiene a lo sumo aproximadamente 10% en peso, aproximadamente 15% en peso, o aproximadamente 20% en peso de un componente significa que la formulación tiene a lo sumo aproximadamente 10% en peso, a lo sumo aproximadamente 15% en peso, o a lo sumo aproximadamente 20% en peso de un componente.

[0148] Como se usa acá, las formas singulares “un”, “uno”, y “el” pretenden incluir también las formas plurales, a menos que el contexto claramente indique lo contrario. También se debe entender que el término “y/o” como es usado acá se refiere a o abarca cualquiera y todas las posibles combinaciones de uno o más de los artículos indicados asociados. Además, se debe entender que los términos “incluye”, “incluyendo”, “comprende”, y/o “comprendiendo”, cuando se usan acá, especifican la presencia de características, enteros, pasos, operaciones, elementos, componentes, y/o unidades definidas, pero no excluyen la presencia o adición de una o más características, enteros, pasos, operaciones, elementos, componentes, unidades, y/o grupos de éstos.

[0149] Esta solicitud divulga varios rangos números en el texto. Los rangos numéricos divulgados soportan inherentemente cualquier rango o valor dentro de los rangos numéricos divulgados, incluyendo los límites, aunque una limitación de rango preciso no está definida palabra a palabra en la descripción debido a que esta divulgación puede ser practicada a lo largo de los rangos numéricos divulgados.

[0150] La anterior descripción es presentada para permitir que un experto en la materia haga y utilice la divulgación, y está provista en el contexto de una solicitud particular y sus requerimientos. Varias modificaciones a las modalidades preferidas serán fácilmente evidentes para los expertos en la materia, y los principios genéricos definidos acá pueden ser aplicados a otras modalidades y aplicaciones sin salirse

del espíritu y el alcance de la divulgación. Por lo tanto, esta divulgación no pretende limitarse a las modalidades mostradas, sino que debe ser considerada con el alcance más amplio consistente con los principios y características divulgadas acá.