

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 011 850**

51 Int. Cl.:

**C07D 285/36** (2006.01)  
**A61P 1/00** (2006.01)  
**A61P 3/06** (2006.01)  
**A61P 3/10** (2006.01)  
**A61K 31/554** (2006.01)  
**A61P 1/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.06.2019 PCT/SE2019/050602**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.12.2019 WO19245448**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2019 E 19734937 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2025 EP 3810581**

54 Título: **Modificaciones de cristales de odevixibat**

30 Prioridad:

**20.06.2018 SE 1850761**  
**20.06.2018 SE 1850762**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**08.04.2025**

73 Titular/es:

**ALBIRO AB (100.00%)**  
**Arvid Wallgrens Backe 20**  
**413 46 Göteborg, SE**

72 Inventor/es:

**LUNDQVIST, ROBERT;**  
**YMÉN, INGVAR;**  
**BOHLIN, MARTIN;**  
**BYRÖD, EVA;**  
**GILLBERG, PER-GÖRAN;**  
**TIVERT, ANNA-MARIA;**  
**BRYLAND, RIKARD;**  
**DAHLQUIST, ANN-CHARLOTTE;**  
**ELVERSSON, JESSICA y**  
**GUSTAFSSON, NILS OVE**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 3 011 850 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

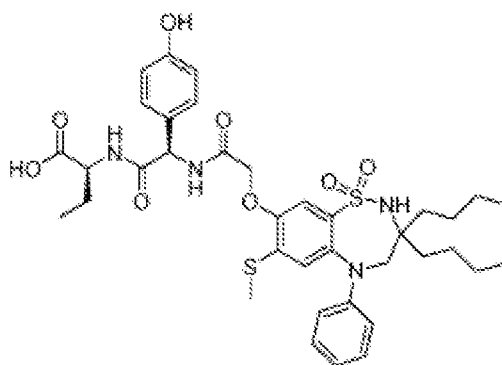
Modificaciones de cristales de odeixibat

## 5 CAMPO TÉCNICO

[0001] La presente invención se refiere a modificaciones de cristales de 1,1-dioxo-3,3-dibutil-5-fenil-7-metilio-8-(*N*-{(*R*)- $\alpha$ -[*N*-{(S)-1-carboxipropil}carbamoi]-4-hidroxibencil}carbamoi)metoxi)-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina (odeixibat), más específicamente la modificación de cristales 1 de odeixibat. La invención también se relaciona con un proceso para la preparación de la modificación de cristales 1 de odeixibat, con una composición farmacéutica que comprende la modificación de cristales 1, y con el uso de esta modificación cristalina en el tratamiento de varias condiciones según lo descrito adjunto.

## 15 FONDO

[0002] El compuesto 1,1-dioxo-3,3-dibutil-5-fenil-7-metilio-8-(*N*-{(*R*)- $\alpha$ -[*N*-{(S)-1-carboxipropil} carbamoi]-4-hidroxibencil}carbamoi)metoxi)-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina (odeixibat; también conocido como A4250) se describe en el documento WO 03/022286. A continuación se muestra la estructura del odeixibat.



[0003] Como inhibidor del mecanismo transportador ileal de ácidos biliares (IBAT), el odeixibat inhibe la reabsorción natural de ácidos biliares desde el íleon a 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 el suero y en el hígado. Por lo tanto, el odeixibat, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es útil en el tratamiento o la prevención de enfermedades como la dislipidemia, el estreñimiento, la diabetes y las enfermedades hepáticas, y especialmente las enfermedades hepáticas que se asocian a niveles elevados de ácidos biliares.

[0004] Según la sección experimental del documento WO 03/022286, la última etapa en la preparación de odeixibat implica la hidrólisis de un éster terc-butílico en condiciones ácidas. El compuesto bruto se obtuvo por evaporación del disolvente a presión reducida seguida de purificación del residuo por HPLC preparativa (Ejemplo 29). No se identificó material cristalino.

[0005] Los materiales amorfos pueden contener altos niveles de disolventes residuales, lo que es altamente indeseable para los materiales que deben utilizarse como productos farmacéuticos. Además, debido a su menor estabilidad química y física, en comparación con el material cristalino, los materiales amorfos pueden mostrar una descomposición más rápida y pueden formar espontáneamente cristales con un grado variable de cristalinidad. Esto puede dar lugar a índices de solubilidad irreproducibles y dificultades en el almacenamiento y la manipulación del material. En los preparados farmacéuticos, el ingrediente farmacéutico activo (API) se utiliza preferentemente en estado altamente cristalino. Por lo tanto, existe la necesidad de modificaciones de cristales de odeixibat que tengan propiedades mejoradas con respecto a la estabilidad, la manipulación a granel y la solubilidad. En particular, es un objeto de la presente invención proporcionar una modificación cristalina estable de odeixibat que no contenga altos niveles de disolventes residuales, que tenga una estabilidad química mejorada y pueda obtenerse en altos niveles de cristalinidad.

## 60 RESUMEN DE LA INVENCION

[0006] La invención proporciona modificaciones de cristales de odeixibat, según se define en el juego de reivindicaciones adjunto. En un primer aspecto, la modificación de cristales es un sesquihidrato, *es decir, que* contiene aproximadamente 1,5 moles de agua asociada al cristal por mol de odeixibat. En otro aspecto, que puede estar relacionado con el primer aspecto, la invención proporciona la modificación de cristales 1 de odeixibat. La modificación de cristales 1 es un hidrato cristalino estable que a una humedad relativa (RH) del 30% contiene aproximadamente 1,5 moles de agua por mol de odeixibat.

[0007] La invención proporciona además el uso de la modificación de cristales 1 de odevixibat en el tratamiento de una afección descrita en el presente documento, una composición farmacéutica que comprende la modificación de cristales 1 de odevixibat, así como un proceso para la preparación de la modificación de cristales 1 de odevixibat.

5

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0008]

10

FIG. 1 muestra el difractograma de rayos X en polvo de la modificación de cristales 1 seca.

FIG. 2 muestra el difractograma de rayos X en polvo de una muestra sobrehidratada de la modificación de cristales 1.

15

FIG. 3 muestra el secado de la modificación de cristales 1, con el difractograma de rayos X en polvo de una muestra sobrehidratada de la modificación de cristales 1 en la parte inferior y de una muestra seca en la parte superior (rango  $2\theta$  5-13°).

20

FIG. 4 muestra el secado de la modificación de cristales 1, con el difractograma de rayos X en polvo de una muestra sobrehidratada de la modificación de cristales 1 en la parte inferior y de una muestra seca en la parte superior (rango  $2\theta$  18 -25°).

25

FIG. 5 muestra la transformación de la modificación de cristales 2 (abajo), obtenida a partir de una mezcla de etanol (60-80 %v/v) y agua (20-40 %v/v), a la modificación de cristales 1 (arriba) a través de la modificación de cristales 12 (centro).

30

FIG. 6 muestra el difractograma de rayos X en polvo de la modificación de cristales 2A, obtenida a partir de una mezcla de etanol y agua (70:30 %v/v).

35

FIG. 7 muestra el difractograma de rayos X en polvo de la modificación de cristales 2A, obtenida a partir de una mezcla de acetona y agua (50:50 %v/v).

FIG. 8 muestra el difractograma de rayos X en polvo de la modificación de cristales 2A, obtenida a partir de una mezcla de 2-propanol y agua (50:50 %v/v).

40

FIG. 9 muestra el difractograma de rayos X en polvo de la modificación de cristales 2A, obtenida a partir de una mezcla de 1,4-dioxano y agua (50:50 %v/v).

FIG. 10 muestra el difractograma de rayos X en polvo de la modificación de cristales 2B, obtenida a partir de metanol. El agua necesaria para que cristalice la forma 2 se obtuvo del aire, debido a la higroscopicidad del metanol.

45

FIG. 11 muestra el difractograma de rayos X en polvo de la modificación de cristales 2B, obtenida a partir de una mezcla de acetonitrilo y agua (40:60 %v/v).

FIG. 12 muestra el difractograma de rayos X en polvo de la modificación de cristales 2C, obtenida a partir de una mezcla de DMSO y agua (50:50 %v/v).

50

FIG. 13 muestra el gráfico de cambio de masa del análisis termogravimétrico (TGA) para la modificación de cristales 1.

La Fig. 14 muestra el gráfico de cambio de masa del análisis termogravimétrico (TGA) para la modificación de cristales 2 producida por la exposición de la modificación de cristales 1 a la fase de vapor de una mezcla de etanol y agua. La Fig. 15 muestra el gráfico de cambio de masa de sorción dinámica de vapor (DVS) para la modificación de cristales 1.

55

FIG. 16 muestra la traza DSC de una muestra de odevixibat con aproximadamente un 50% de fracción cristalina (tras precalentamiento y enfriamiento).

60

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

65

[0009] La invención descrita en el presente documento se refiere a modificaciones de cristales que se descubrieron en estudios exhaustivos sobre el odevixibat, por lo que una modificación cristalina cubierta por el alcance de las reivindicaciones adjuntas forma parte de la invención, mientras que todas las demás modificaciones de cristales sólo de referencia. Se ha observado que el odevixibat puede cristalizar a partir de una variedad de disolventes orgánicos (o mezclas de disolventes) incorporando moléculas de solvato en su estructura, formando así diversos solvatos o solvatos

mixtos. Aunque la mayoría de estos solvatos (mixtos) son inestables en el aire y se vuelven amorfos al secarse, sorprendentemente se ha descubierto que ciertos solvatos mixtos de odeixibat podían secarse y transformarse en una forma cristalina estable de odeixibat. Es destacable que esta forma estable, en lo sucesivo denominada modificación de cristales 1 de odeixibat, puede formarse a partir de diferentes solvatos mixtos de odeixibat.

5 [0010] Así, en un primer aspecto, la invención se refiere a la modificación de cristales 1 de odeixibat tal como se reivindica. Esta modificación cristalina estable puede obtenerse a partir de una suspensión de odeixibat en una mezcla de agua y un disolvente orgánico como el etanol. En estas condiciones, se forma inicialmente un solvato mixto que contiene aproximadamente dos moles de agua y entre uno y tres moles de etanol por mol de odeixibat (por ejemplo, un dihidrato-dietanolato o un dihidrato-trietanolato). En algunas realizaciones, este solvato mixto se denomina modificación de cristales 2. Cuando el solvato mezclado se seca, pierde sus moléculas de disolvente orgánico y se convierte en la modificación de cristales 1. Sin querer atarse a la teoría, se cree que las moléculas de disolvente pueden eliminarse sin disolución y recristalización de los cristales.

15 [0011] La modificación de cristales 1 contiene volúmenes vacíos capaces de contener hasta aproximadamente 2 moles de agua asociada al cristal por mol de odeixibat, en función de la humedad relativa. Esta forma es, por tanto, formalmente un hidrato de canal. Sin embargo, a una humedad relativa de aproximadamente el 30%, la modificación de cristales 1 contiene una cantidad sustancialmente estequiométrica de aproximadamente 1,5 moles de agua por mol de compuesto orgánico y es, por tanto, 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 rango normal de humedad relativa de aproximadamente 30% a aproximadamente 70% RH. De hecho, a humedades normales, tales como entre aproximadamente 30 y aproximadamente 70% RH, la modificación de cristales 1 exhibe una higroscopicidad relativamente baja.

25 [0012] En una realización, la invención se refiere a la modificación de cristales 1 de odeixibat 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  $2\theta$   $5,6 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$  y  $12,1 \pm 0,2$ .

30 [0013] En una realización específica de la misma, la invención se refiere a la modificación de cristales 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , con picos específicos en las posiciones  $2\theta$   $5,6 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$  y  $12,1 \pm 0,2$  y uno o más de los picos característicos:  $4,1 \pm 0,2$ ,  $4,6 \pm 0,2$ ,  $9,3 \pm 0,2$ ,  $9,4 \pm 0,2$  y  $10,7 \pm 0,2$ .

35 [0014] En una realización más específica de la misma, la invención se refiere a la modificación de cristales 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , con picos específicos en las posiciones  $2\theta$   $4,6 \pm 0,2$ ,  $5,6 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$ ,  $9,3 \pm 0,2$ ,  $9,4 \pm 0,2$  y  $12,1 \pm 0,2$ .

40 [0015] En una realización aún más específica de la misma, la invención se refiere a la modificación de cristales 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , con picos característicos en las posiciones  $2\theta$   $4,1 \pm 0,2$ ,  $4,6 \pm 0,2$ ,  $5,6 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$ ,  $9,3 \pm 0,2$ ,  $9,4 \pm 0,2$ ,  $10,7 \pm 0,2$  y  $12,1 \pm 0,2$ , y uno o más de  $8,1 \pm 0,2$ ,  $8,6 \pm 0,2$ ,  $13,4 \pm 0,2$ ,  $13,8 \pm 0,2$ ,  $13,9 \pm 0,2$ ,  $16,6 \pm 0,2$ ,  $17,3 \pm 0,2$ ,  $17,7 \pm 0,2$ ,  $18,3 \pm 0,2$ ,  $18,9 \pm 0,2$ ,  $19,4 \pm 0,2$ ,  $19,7 \pm 0,2$ ,  $20,5 \pm 0,2$ ,  $20,8 \pm 0,2$ ,  $21,6 \pm 0,2$ ,  $23,2 \pm 0,2$ ,  $24,3 \pm 0,2$ ,  $29,8 \pm 0,2$  y  $30,6 \pm 0,2$ .

45 [0016] En una realización aún más específica de la misma, la invención se refiere a la modificación de cristales 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , con picos característicos en las posiciones  $2\theta$   $4,1 \pm 0,2$ ,  $4,6 \pm 0,2$ ,  $5,6 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$ ,  $8,1 \pm 0,2$ ,  $8,6 \pm 0,2$ ,  $9,3 \pm 0,2$ ,  $9,4 \pm 0,2$ ,  $10,7 \pm 0,2$ ,  $12,1 \pm 0,2$ ,  $13,4 \pm 0,2$ ,  $13,8 \pm 0,2$ ,  $13,9 \pm 0,2$ ,  $16,6 \pm 0,2$ ,  $17,3 \pm 0,2$ ,  $17,7 \pm 0,2$ ,  $18,3 \pm 0,2$ ,  $18,9 \pm 0,2$ ,  $19,4 \pm 0,2$ ,  $19,7 \pm 0,2$ ,  $20,5 \pm 0,2$ ,  $20,8 \pm 0,2$ ,  $21,6 \pm 0,2$ ,  $23,2 \pm 0,2$ ,  $24,3 \pm 0,2$ ,  $29,8 \pm 0,2$  y  $30,6 \pm 0,2$ .

50 [0017] En una realización particular, la invención se refiere a la modificación de cristales 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , sustancialmente como se muestra en la Figura 1.

[0018] Mientras que la modificación de cristales 1 es un sesquihidrato que contiene aproximadamente un 3,5% (p/p) de agua a una humedad relativa de aproximadamente el 30% (basada en el peso total del cristal), se ha observado que el cristal puede absorber un 1,5% (p/p) de agua adicional cuando se aumenta la humedad hasta el 95% RH. La sorción y desorción de esta agua adicional es totalmente reversible (véase, por ejemplo, el ejemplo 10). El agua adicional puede adsorberse en la superficie o llenar aún más los canales de la estructura. En algunas realizaciones, el término "sobrehidratado" se refiere a la modificación de cristales 1 que contiene de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 4 moles de agua por mol de odeixibat, 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 odeixibat. En algunas realizaciones, el término "sobrehidratado" se refiere a la modificación de cristales 1 que contiene de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 moles de agua por mol de odeixibat, 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 2,5 moles de agua por mol de odeixibat.

65 [0019] Se ha observado que el patrón XRPD de la modificación cristalina sobrehidratada 1 cambia ligeramente cuando se seca, por ejemplo a  $50^\circ\text{C}$  en vacío. Se aprecia más claramente un pequeño desplazamiento de los picos en los rangos

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 por ejemplo hasta el 95% RH, hace que aparezca de nuevo el patrón XRPD de la modificación sobrehidratada. Los desplazamientos de los picos son el resultado de los cambios de volumen de la celda unitaria, que se producen cuando las moléculas de agua entran y salen de la estructura cristalina.

5 [0020] Por lo tanto, en otra realización, la invención se refiere a la modificación cristalina sobrehidratada 1 que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD), obtenido con radiación CuKα1, con al menos picos específicos en las posiciones  $2\theta$   $5,7 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$  y/o  $12,0 \pm 0,2$ .

10 [0021] En ciertas realizaciones, la invención se refiere a la modificación cristalina sobrehidratada 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, con picos específicos en las posiciones  $2\theta$   $5,7 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$  y  $12,0 \pm 0,2$  y uno o más de los picos característicos:  $4,0 \pm 0,2$ ,  $9,4 \pm 0,2$ ,  $9,6 \pm 0,2$  y  $10,8 \pm 0,2$ .

15 [0022] En una realización más particular, la invención se refiere a la modificación cristalina sobrehidratada 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, con picos específicos en las posiciones  $2\theta$   $4,0 \pm 0,2$ ,  $5,7 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$ ,  $9,4 \pm 0,2$ ,  $9,6 \pm 0,2$ ,  $10,8 \pm 0,2$  y  $12,1 \pm 0,2$ .

20 [0023] En otra realización, la invención se refiere a la modificación cristalina sobrehidratada 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, con picos característicos en las posiciones  $2\theta$   $4,0 \pm 0,2$ ,  $5,7 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$ ,  $9,4 \pm 0,2$ ,  $9,6 \pm 0,2$ ,  $10,8 \pm 0,2$  y  $12,1 \pm 0,2$ , y uno o más de  $4,7 \pm 0,2$ ,  $8,0 \pm 0,2$ ,  $8,6 \pm 0,2$ ,  $13,3 \pm 0,2$ ,  $14,1 \pm 0,2$ ,  $15,3 \pm 0,2$ ,  $16,5 \pm 0,2$ ,  $17,3 \pm 0,2$ ,  $19,3 \pm 0,2$ ,  $19,7 \pm 0,2$ ,  $19,9 \pm 0,2$ ,  $20,1 \pm 0,2$ ,  $20,8 \pm 0,2$ ,  $21,7 \pm 0,2$ ,  $23,6 \pm 0,2$ ,  $26,2 \pm 0,2$ ,  $26,5 \pm 0,2$ ,  $28,3 \pm 0,2$  y  $30,9 \pm 0,2$ .

25 [0024] En otra realización más, la invención se refiere a la modificación cristalina sobrehidratada 1 que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, con picos característicos en las posiciones  $2\theta$   $4,0 \pm 0,2$ ,  $4,7 \pm 0,2$ ,  $5,7 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$ ,  $8,0 \pm 0,2$ ,  $8,6 \pm 0,2$ ,  $9,4 \pm 0,2$ ,  $9,6 \pm 0,2$ ,  $10,8 \pm 0,2$ ,  $12,1 \pm 0,2$ ,  $13,3 \pm 0,2$ ,  $14,1 \pm 0,2$ ,  $15,3 \pm 0,2$ ,  $16,5 \pm 0,2$ ,  $17,3 \pm 0,2$ ,  $19,3 \pm 0,2$ ,  $19,7 \pm 0,2$ ,  $19,9 \pm 0,2$ ,  $20,1 \pm 0,2$ ,  $20,8 \pm 0,2$ ,  $21,7 \pm 0,2$ ,  $23,6 \pm 0,2$ ,  $26,2 \pm 0,2$ ,  $26,5 \pm 0,2$ ,  $28,3 \pm 0,2$  y  $30,9 \pm 0,2$ .

30 [0025] Se divulga además la modificación cristalina sobrehidratada 1 de odevixibat que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, sustancialmente como se muestra en la Figura 2.

35 [0026] En algunas realizaciones, la cristalinidad de la modificación de cristales 1 es superior a aproximadamente el 99%. La cristalinidad puede medirse por métodos de calorimetría diferencial de barrido (DSC), por ejemplo, como se describe en la sección experimental.

40 [0027] La modificación de cristales 1 presenta varias ventajas con respecto al odevixibat amorfo. La higroscopicidad relativamente baja de la modificación de cristales 1 a humedades normales, como 30-70% HR, facilita la manipulación y el almacenamiento de odevixibat. Además, la modificación de cristales 1 no contiene altos niveles de disolventes residuales. En cambio, se ha observado que los lotes de odevixibat bruto amorfo pueden contener disolventes residuales (como ácido fórmico) en niveles que superan con creces los límites reglamentarios.

45 [0028] Los experimentos de estabilidad han demostrado además que la modificación de cristales 1 del odevixibat presenta una estabilidad química superior a la del odevixibat amorfo.

50 [0029] La modificación de cristales 1 puede poseer una o más ventajas adicionales, como una mayor estabilidad física y termodinámica que el odevixibat amorfo; una solubilidad más reproducible que el odevixibat amorfo; o una mejor capacidad para procesarse en una formulación. Tales propiedades son muy relevantes para las formulaciones farmacéuticas de odevixibat.

55 [0030] También se divulga la modificación de cristales 2 de odevixibat. Esta modificación no está contemplada en el texto de las reivindicaciones, pero se considera útil para comprender la invención. Se ha descubierto que la modificación de cristales 2 puede obtenerse no sólo a partir de una mezcla de etanol y agua, como se ha descrito anteriormente, sino también a partir de metanol y algunas otras mezclas de disolvente y agua, incluidas mezclas de metanol y agua, 2-propanol y agua, acetona y agua, acetonitrilo y agua, 1,4-dioxano y agua, DMF y agua y DMSO y agua. La modificación de cristales 2 es un solvato mixto, que contiene aproximadamente dos moles de agua y entre uno y tres moles de disolvente orgánico por mol de odevixibat. En algunas realizaciones, el solvato mixto incluye aproximadamente 1,7 a aproximadamente 2,3, aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,2, aproximadamente 1,9 a aproximadamente 2,1 o aproximadamente 1,95 a aproximadamente 2,05 moles de agua asociados con cada mol de odevixibat en un cristal (excluyendo cualquier agua que pueda estar adsorbida a la superficie del cristal).

60 [0031] Curiosamente, los patrones XRPD para las modificaciones de cristales obtenidas a partir de estas diferentes mezclas son esencialmente los mismos (véanse las Figuras 6-12). Por lo tanto, se cree que la modificación de cristales 2 puede existir como diferentes solvatos *isoestructurales* (también conocidos como solvatos *isomórficos*). En estos disolventes isoestructurales, la modificación de cristales 2 admite diferentes disolventes (como mezcla con agua). La presencia de distintos disolventes provoca pequeños cambios de volumen en la celda unitaria, pero por lo demás no da

- lugar a ninguna distorsión significativa de la estructura cristalina de la modificación de cristales 2. No obstante, los patrones XRPD de los solvatos isoestructurales pueden ser ligeramente diferentes. Tres formas similares, aunque ligeramente diferentes, de la modificación de cristales 2 se denominan en el presente documento modificaciones de cristales 2A, 2B y 2C, y colectivamente "modificación de cristales 2". Significativamente, se ha descubierto que al secarse, las modificaciones de cristales 2A, 2B y 2C pueden formar la modificación de cristales 1, independientemente de la mezcla de disolventes a partir de la cual se cristalizó la modificación de cristales 2.
- [0032] En algunos casos, el solvato mixto cristalino es la modificación de cristales 2A, tal como se obtiene a partir de una mezcla de etanol y agua, acetona y agua, 1,4-dioxano y agua, DMF y agua o 2-propanol y agua, 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  $2\theta$   $5,0 \pm 0,2$ ,  $5,1 \pm 0,2$  y  $11,8 \pm 0,2$ .
- [0033] Se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2A, obtenida a partir de una mezcla de etanol y agua, acetona y agua, 1,4-dioxano y agua, DMF y agua o 2-propanol y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , con picos específicos en las posiciones  $2\theta$   $5,0 \pm 0,2$ ,  $5,1 \pm 0,2$  y  $11,8 \pm 0,2$  y uno o más de los picos característicos:  $6,4 \pm 0,2$ ,  $6,6 \pm 0,2$  y  $9,5 \pm 0,2$ .
- [0034] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2A, tal como se obtiene a partir de una mezcla de etanol y agua, acetona y agua, 1,4-dioxano y agua, DMF y agua o 2-propanol y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , con picos específicos en las posiciones  $2\theta$   $5,0 \pm 0,2$ ,  $5,1 \pm 0,2$ ,  $6,4 \pm 0,2$ ,  $6,6 \pm 0,2$ ,  $9,5 \pm 0,2$  y  $11,8 \pm 0,2$ .
- [0035] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2A, obtenida a partir de una mezcla de etanol y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , con picos característicos en  $2\theta$   $5,0 \pm 0,2$ ,  $5,1 \pm 0,2$ ,  $6,4 \pm 0,2$ ,  $6,6 \pm 0,2$ ,  $9,5 \pm 0,2$  y  $11,8 \pm 0,2$ , y uno o más de  $5,9 \pm 0,2$ ,  $8,8 \pm 0,2$ ,  $9,8 \pm 0,2$ ,  $10,1 \pm 0,2$ ,  $11,0 \pm 0,2$ ,  $11,2 \pm 0,2$ ,  $11,4 \pm 0,2$ ,  $12,7 \pm 0,2$ ,  $13,9 \pm 0,2$ ,  $14,7 \pm 0,2$ ,  $15,1 \pm 0,2$ ,  $15,8 \pm 0,2$ ,  $16,3 \pm 0,2$ ,  $17,2 \pm 0,2$ ,  $17,9 \pm 0,2$ ,  $19,7 \pm 0,2$ ,  $20,2 \pm 0,2$ ,  $20,7 \pm 0,2$ ,  $21,3 \pm 0,2$ ,  $22,1 \pm 0,2$ ,  $22,5 \pm 0,2$ ,  $22,9 \pm 0,2$ ,  $23,2 \pm 0,2$ ,  $23,6 \pm 0,2$ ,  $24,0 \pm 0,2$ ,  $24,1 \pm 0,2$ ,  $24,7 \pm 0,2$ ,  $25,3 \pm 0,2$ ,  $26,7 \pm 0,2$ ,  $26,9 \pm 0,2$ ,  $29,8 \pm 0,2$ ,  $30,4 \pm 0,2$ ,  $30,8 \pm 0,2$  y  $31,6 \pm 0,2$ .
- [0036] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2A, tal como se obtiene de una mezcla de etanol y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , con picos característicos en las posiciones  $2\theta$   $5,0 \pm 0,2$ ,  $5,1 \pm 0,2$ ,  $5,9 \pm 0,2$ ,  $6,4 \pm 0,2$ ,  $6,6 \pm 0,2$ ,  $8,8 \pm 0,2$ ,  $9,5 \pm 0,2$ ,  $9,8 \pm 0,2$ ,  $10,1 \pm 0,2$ ,  $11,0 \pm 0,2$ ,  $11,2 \pm 0,2$ ,  $11,4 \pm 0,2$ ,  $11,8 \pm 0,2$ ,  $12,7 \pm 0,2$ ,  $13,9 \pm 0,2$ ,  $14,7 \pm 0,2$ ,  $15,1 \pm 0,2$ ,  $15,8 \pm 0,2$ ,  $16,3 \pm 0,2$ ,  $17,2 \pm 0,2$ ,  $17,9 \pm 0,2$ ,  $19,7 \pm 0,2$ ,  $20,2 \pm 0,2$ ,  $20,7 \pm 0,2$ ,  $21,3 \pm 0,2$ ,  $22,1 \pm 0,2$ ,  $22,5 \pm 0,2$ ,  $22,9 \pm 0,2$ ,  $23,2 \pm 0,2$ ,  $23,6 \pm 0,2$ ,  $24,0 \pm 0,2$ ,  $24,1 \pm 0,2$ ,  $24,7 \pm 0,2$ ,  $25,3 \pm 0,2$ ,  $26,7 \pm 0,2$ ,  $26,9 \pm 0,2$ ,  $29,8 \pm 0,2$ ,  $30,4 \pm 0,2$ ,  $30,8 \pm 0,2$  y  $31,6 \pm 0,2$ .
- [0037] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2A, tal como se obtiene a partir de una mezcla de etanol y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , sustancialmente como se muestra en la figura 6.
- [0038] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2A, tal como se obtiene a partir de una mezcla de acetona y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , sustancialmente como se muestra en la Figura 7.
- [0039] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2A, tal como se obtiene a partir de una mezcla de 2-propanol y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , sustancialmente como se muestra en la Figura 8.
- [0040] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2A, tal como se obtiene a partir de una mezcla de 1,4-dioxano y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , sustancialmente como se muestra en la figura 9. En algunos casos, el solvato mixto cristalino es la modificación de cristales 2B, tal como se obtiene a partir de metanol o de una mezcla de metanol y agua o acetonitrilo y agua, 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  $2\theta$   $4,8 \pm 0,2$ ,  $5,1 \pm 0,2$  y  $11,6 \pm 0,2$ .
- [0041] Se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2B, obtenida a partir de metanol o a partir de una mezcla de metanol y agua o acetonitrilo y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , con picos específicos en las posiciones  $2\theta$   $4,8 \pm 0,2$ ,  $5,1 \pm 0,2$  y  $11,6 \pm 0,2$  y uno o más de los picos característicos:  $6,2 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$ ,  $9,5 \pm 0,2$  y  $20,3 \pm 0,2$ .
- [0042] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2B, obtenida a partir de metanol o de una mezcla de metanol y agua o acetonitrilo y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , con picos específicos en las posiciones  $2\theta$   $4,8 \pm 0,2$ ,  $5,1 \pm 0,2$ ,  $6,2 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$ ,  $9,5 \pm 0,2$ ,  $11,6 \pm 0,2$  y  $20,3 \pm 0,2$ .
- [0043] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2B, obtenida a partir de metanol y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación  $\text{CuK}\alpha_1$ , con picos característicos en las posiciones  $2\theta$   $4,8 \pm 0,2$ ,  $5,1 \pm$

0,2, 6,2 ± 0,2, 6,7 ± 0,2, 9,5 ± 0,2, 11,6 ± 0,2 y 20,3 ± 0,2, y una o más de las posiciones 5,8 ± 0,2, 8,7 ± 0,2, 9,7 ± 0,2, 10,1 ± 0,2, 10,7 ± 0,2, 11,5 ± 0,2, 13,4 ± 0,2, 13,5 ± 0,2, 14,4 ± 0,2, 14,5 ± 0,2, 15,2 ± 0,2, 16,5 ± 0,2, 16,8 ± 0,2, 19,4 ± 0,2, 20,6 ± 0,2, 21,2 ± 0,2, 21,5 ± 0,2, 23,8 ± 0,2, 23,9 ± 0,2, 25,4 ± 0,2, 26,3 ± 0,2, 26,7 ± 0,2, 30,1 ± 0,2 y 30,6 ± 0,2.

5 [0044] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2B, obtenida a partir de metanol y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, con picos característicos en las posiciones °2θ 4,8 ± 0,2, 5,1 ± 0,2, 5,8 ± 0,2, 6,2 ± 0,2, 6,7 ± 0,2, 8,7 ± 0,2, 9,5 ± 0,2, 9,7 ± 0,2, 10,1 ± 0,2, 10,7 ± 0,2, 11,5 ± 0,2, 11,6 ± 0,2, 13,4 ± 0,2, 13,5 ± 0,2, 14,4 ± 0,2, 14,5 ± 0,2, 15,2 ± 0,2, 16,5 ± 0,2, 16,8 ± 0,2, 19,4 ± 0,2, 20,3 ± 0,2, 20,6 ± 0,2, 21,2 ± 0,2, 21,5 ± 0,2, 23,8 ± 0,2, 23,9 ± 0,2, 25,4 ± 0,2, 26,3 ± 0,2, 26,7 ± 0,2, 30,1 ± 0,2 y 30,6 ± 0,2.

10 [0045] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2B, tal como se obtiene a partir de metanol, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, sustancialmente como se muestra en la Figura 10.

15 [0046] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2B, tal como se obtiene a partir de una mezcla de acetonitrilo y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, sustancialmente como se muestra en la figura 11.

20 [0047] En algunos casos, el solvato mixto cristalino es la modificación de cristales 2C, tal como se obtiene a partir de una mezcla de DMSO y agua, que tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD), obtenido con radiación CuKα1, con al menos picos específicos en las posiciones °2θ 5,0 ± 0,2, 6,2 ± 0,2, 9,4 ± 0,2 y 23,9 ± 0,2.

25 [0048] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2C, obtenida a partir de una mezcla de DMSO y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, con picos específicos en las posiciones °2θ 5,0 ± 0,2, 6,2 ± 0,2, 9,4 ± 0,2 y 23,9 ± 0,2 y uno o más de los picos característicos: 11,5 ± 0,2, 19,5 ± 0,2 y 20,2 ± 0,2.

[0049] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2C, tal como se obtiene a partir de una mezcla de DMSO y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, con picos específicos en las posiciones °2θ 5,0 ± 0,2, 6,2 ± 0,2, 9,4 ± 0,2, 11,5 ± 0,2, 19,5 ± 0,2, 20,2 ± 0,2 y 23,9 ± 0,2.

30 [0050] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2C, obtenida a partir de una mezcla de DMSO y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, con picos característicos en las posiciones °2θ 5,0 ± 0,2, 6,2 ± 0,2, 9,4 ± 0,2, 11,5 ± 0,2, 19,5 ± 0,2, 20,2 ± 0,2 y 23,9 ± 0,2, y una o más de las posiciones 4,9 ± 0,2, 5,8 ± 0,2, 6,6 ± 0,2, 8,6 ± 0,2, 9,7 ± 0,2, 10,0 ± 0,2, 10,8 ± 0,2, 13,5 ± 0,2, 15,1 ± 0,2, 17,7 ± 0,2, 17,9 ± 0,2, 19,0 ± 0,2, 19,3 ± 0,2, 20,7 ± 0,2, 21,1 ± 0,2, 21,2 ± 0,2, 21,2 ± 0,2, 22,8 ± 0,2, 25,3 ± 0,2, 26,6 ± 0,2, 27,3 ± 0,2, 27,4 ± 0,2, 28,6 ± 0,2, 30,1 ± 0,2 y 30,2 ± 0,2.

35 [0051] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2C, obtenida a partir de una mezcla de DMSO y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, con picos característicos en las posiciones °2θ 4,9 ± 0,2, 5,0 ± 0,2, 5,8 ± 0,2, 6,2 ± 0,2, 6,6 ± 0,2, 8,6 ± 0,2, 9,4 ± 0,2, 9,7 ± 0,2, 10,0 ± 0,2, 10,8 ± 0,2, 11,5 ± 0,2, 13,5 ± 0,2, 15,1 ± 0,2, 17,7 ± 0,2, 17,9 ± 0,2, 19,0 ± 0,2, 19,3 ± 0,2, 19,5 ± 0,2, 20,2 ± 0,2, 20,7 ± 0,2, 21,1 ± 0,2, 21,2 ± 0,2, 21,3 ± 0,2, 22,8 ± 0,2, 23,9 ± 0,2, 25,3 ± 0,2, 26,6 ± 0,2, 27,3 ± 0,2, 27,4 ± 0,2, 28,6 ± 0,2, 30,1 ± 0,2 y 30,2 ± 0,2.

40 [0052] También se divulga en el presente documento la modificación de cristales 2C, tal como se obtiene a partir de una mezcla de DMSO y agua, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuKα1, sustancialmente como se muestra en la Figura 12.

45 [0053] Como se entenderá de lo anterior, el aislamiento y caracterización de la modificación cristalina estable 1 no fue sencillo. Aunque se trata de un hidrato, la modificación de cristales 1 no puede obtenerse directamente por cristalización a partir del agua. En algunas realizaciones, la modificación de cristales 1 se obtiene indirectamente, por ejemplo, aislando y secando la modificación de cristales 2, que se forma por cristalización del odevixibat a partir de mezclas de agua y ciertos disolventes orgánicos. En algunas realizaciones, la modificación de cristales 1 se obtiene a partir de la modificación de cristales 2 tras la evaporación de las moléculas de disolvente. En algunas realizaciones, la transformación de la modificación de cristales 2 en la modificación de cristales 1 se produce a través de un intermediario cristalino, a saber, la modificación 12 (véase la figura 5). En algunas realizaciones, las moléculas de disolvente se eliminan de la modificación 2 sin disolución y recristalización de los cristales.

50 [0054] En otro aspecto más, la invención se refiere a un proceso para la preparación de la modificación de cristales 1 de odevixibat. Este proceso implica aislar la modificación de cristales 2A, 2B o 2C de odevixibat a partir de una solución de odevixibat en una mezcla de disolventes que comprende agua y un disolvente orgánico seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, 2-propanol, acetona, acetonitrilo, 1,4-dioxano, DMF y DMSO, y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el proceso implica aislar la modificación de cristales 2 de odevixibat a partir de una solución de odevixibat en una mezcla de disolventes que comprende agua y un disolvente orgánico seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, 2-propanol, acetona, acetonitrilo, 1,4-dioxano, DMF y DMSO.

65 [0055] En algunas realizaciones, la cristalinidad de la modificación de cristales 1 depende del proceso de secado. Como se muestra en la sección experimental, se ha observado que puede obtenerse una cristalinidad superior de la modificación

## ES 3 011 850 T3

de cristales 1 cuando la modificación de cristales 2 se seca al vacío (por ejemplo, a menos de 5 mbar) o bajo un flujo de nitrógeno. Se cree que el secado de la modificación de cristales 2 en estas condiciones da lugar a una forma deshidratada, que entonces absorbe rápidamente el agua del aire.

5 [0056] En algunas realizaciones, por lo tanto, el proceso para la preparación de la modificación de cristales 1 de odevixibat comprende las etapas de:

- 10 a) aislar la modificación de cristales 2 de odevixibat a partir de una solución de odevixibat en una mezcla de disolventes que comprenda agua y un disolvente orgánico seleccionado del grupo consistente en metanol, etanol, 2-propanol, acetona, acetonitrilo, 1,4-dioxano, DMF y DMSO; y  
b) secado del sólido al vacío o bajo un flujo de nitrógeno.

15 [0057] En una realización preferida, la modificación de cristales 2 de odevixibat es la modificación de cristales 2A de odevixibat. En una realización más preferida, la modificación de cristales 2A del odevixibat se obtiene a partir de una mezcla de agua y etanol.

[0058] En algunas realizaciones, el proceso para la preparación de la modificación de cristales 1 de odevixibat comprende las etapas de:

- 20 a) aislar la modificación de cristales 2A de odevixibat a partir de una solución de odevixibat en una mezcla de agua y etanol; y  
b) secado del sólido al vacío o bajo un flujo de nitrógeno.

25 [0059] En algunas realizaciones, la cristalinidad de la modificación de cristales 1 depende de la composición de la mezcla de agua y disolvente orgánico. Por ejemplo, puede obtenerse una cristalinidad superior de la modificación de cristales 1 a partir de muestras de la modificación de cristales 2A que se obtienen de una suspensión de odevixibat en una mezcla 60:40 (% v/v) de etanol y agua a 22°C. En una realización preferida, el contenido de etanol en la mezcla de disolventes es de aproximadamente 55 a aproximadamente 75% (v/v), tal como de aproximadamente 60 a aproximadamente 70% (v/v). En algunas realizaciones, el contenido de etanol en la mezcla de disolventes es de aproximadamente el 60% (v/v).  
30 En algunas realizaciones, el contenido de etanol en la mezcla de disolventes es de aproximadamente el 65% (v/v). En algunas realizaciones, el contenido de etanol en la mezcla de disolventes es de aproximadamente el 70% (v/v).

[0060] En algunas realizaciones, la cristalinidad de la modificación de cristales 2A aumenta cuando los cristales aislados se exponen a una atmósfera de etanol/agua que contiene de 40 a 60 % (v/v) de etanol durante un periodo de al menos 24 horas.  
35

[0061] En algunas realizaciones, el proceso comprende las etapas de:

- 40 a) preparar una solución saturada de odevixibat en una mezcla de agua y un disolvente orgánico seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, 2-propanol, acetona, acetonitrilo, 1,4-dioxano, DMF y DMSO;  
b) añadir un exceso de odevixibat a la solución saturada de la etapa a) para obtener una suspensión;  
c) mantener la agitación de la suspensión a una temperatura comprendida entre 0 y 25°C aproximadamente, durante un período de al menos 24 horas;  
45 d) recuperar el sólido obtenido en la etapa c);  
e) secar el sólido al vacío o bajo un flujo de nitrógeno.

[0062] En algunas realizaciones, el proceso comprende las etapas de:

- 50 a) preparar una solución saturada de odevixibat en una mezcla de agua y etanol;  
b) añadir un exceso de odevixibat a la solución saturada de la etapa a) para obtener una suspensión;  
c) mantener la agitación de la suspensión a una temperatura comprendida entre 20 y 25°C, preferentemente a unos 22°C, durante al menos 24 horas;  
d) recuperar el sólido obtenido en la etapa c);  
55 e) opcionalmente, exponer los cristales de la etapa d) a una atmósfera de etanol/agua; y  
f) secar el sólido al vacío o bajo un flujo de nitrógeno.

[0063] Alternativamente, la modificación de cristales 1 puede obtenerse añadiendo cristales semilla a una solución saturada de odevixibat en una mezcla de agua y un disolvente orgánico adecuado. Así, en otra realización, el proceso comprende las etapas de:

- 60 a) preparar una solución saturada de odevixibat en una mezcla de agua y un disolvente orgánico seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, 2-propanol, acetona, acetonitrilo, 1,4-dioxano, DMF y DMSO;  
b) Añadir cristales de siembra a la solución saturada de la etapa a);  
c) mantener la agitación de la suspensión a una temperatura comprendida entre 0 y 25°C aproximadamente, durante un período de al menos 24 horas;  
65 d) recuperar el sólido obtenido en la etapa c);

e) secar el sólido al vacío o bajo un flujo de nitrógeno.

[0064] En algunas realizaciones, el proceso comprende las etapas de:

- 5 a) preparar una solución saturada de odeixibat en una mezcla de agua y etanol;  
 b) Añadir cristales de siembra a la solución saturada de la etapa a);  
 c) mantener la agitación de la suspensión a una temperatura comprendida entre 20 y 25°C, preferiblemente 22°C,  
 durante al menos 24 horas;  
 d) recuperar el sólido obtenido en la etapa c);  
 10 e) opcionalmente, exponer los cristales de la etapa d) a una atmósfera de etanol/agua; y  
 f) secar el sólido al vacío o bajo un flujo de nitrógeno.

[0065] Una muestra de suspensión de modificación de cristales 2 puede utilizarse como los cristales semilla. Como alternativa, puede utilizarse la modificación de cristales 1. Se cree que esta forma se transforma rápidamente en la modificación de cristales 2 cuando se añade a la mezcla de disolventes del proceso de cristalización.

[0066] La modificación de cristales 1 de odeixibat puede prepararse mediante un proceso que comprende las etapas de:

- 20 a) aislar la modificación de cristales 2 de odeixibat a partir de una solución de odeixibat en una mezcla de disolventes que comprenda agua y un disolvente orgánico seleccionado del grupo consistente en metanol, etanol, 2-propanol, acetona, acetonitrilo, 1,4-dioxano, DMF y DMSO; y  
 b) secado del sólido al vacío o bajo un flujo de nitrógeno.

[0067] En otro aspecto, la invención también se refiere a la modificación de cristales 1 de odeixibat como se describe en el presente documento para su uso en terapia.

[0068] El odeixibat es un inhibidor del transportador ileal de ácidos biliares (IBAT). El transportador ileal de ácidos biliares (IBAT) es el principal mecanismo de reabsorción de ácidos biliares del tracto gastrointestinal. El bloqueo parcial o total de ese mecanismo odeixibat dará lugar a una menor concentración de ácidos biliares en la pared del intestino delgado, la vena porta, el parénquima hepático, el árbol biliar intrahepático y el árbol biliar extrahepático, incluida la vesícula biliar. Las enfermedades que pueden beneficiarse del bloqueo parcial o total del mecanismo IBAT pueden ser aquellas que presentan, como defecto fisiopatológico primario, síntomas de concentración excesiva de ácidos biliares en el suero y en los órganos mencionados. La modificación de cristales 1 del odeixibat, tal como se describe en el presente documento, es por tanto útil en el tratamiento o prevención de afecciones, trastornos y enfermedades en los que es deseable la inhibición de la circulación de ácidos biliares, como las enfermedades y trastornos hepáticos.

[0069] Una enfermedad hepática, tal como se define en el presente documento, es cualquier enfermedad del hígado y de los órganos relacionados con él, como el páncreas, la vena porta, el parénquima hepático, el árbol biliar intrahepático, el árbol biliar extrahepático y la vesícula biliar. En algunas realizaciones, una enfermedad hepática es una enfermedad hepática dependiente de ácidos biliares. En algunas realizaciones, una enfermedad hepática implica niveles elevados de ácidos biliares en el suero y/o en el hígado. En algunas realizaciones, una enfermedad hepática es una enfermedad hepática colestásica. Las enfermedades y trastornos hepáticos incluyen, entre otros, un trastorno metabólico hereditario del hígado; errores congénitos de la síntesis de ácidos biliares; anomalías congénitas de las vías biliares; atresia biliar; atresia biliar post-Kasai; atresia biliar posttrasplante de hígado; hepatitis neonatal; colestasis neonatal; formas hereditarias de colestasis; xantomatosis cerebrotendinosa; un defecto secundario de la síntesis de BA; síndrome de Zellweger; enfermedad hepática asociada a la fibrosis quística; deficiencia de alfa1-antitripsina; síndrome de Alagilles (ALGS); síndrome de Byler; un defecto primario de la síntesis de ácidos biliares (BA); colestasis intrahepática familiar progresiva (PFIC), incluidas PFIC-1, PFIC-2, PFIC-3 y PFIC no especificada, PFIC post-desvío biliar y PFIC post-trasplante hepático; colestasis intrahepática recurrente benigna (BRIC), incluidas BRIC1, BRIC2 y BRIC no especificada, BRIC post-desvío biliar y BRIC post-trasplante hepático; hepatitis autoinmune; cirrosis biliar primaria (PBC); fibrosis hepática; enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD); esteatohepatitis no alcohólica (NASH); hipertensión portal; colestasis; colestasis del síndrome de Down; colestasis inducida por fármacos; colestasis intrahepática del embarazo (ictericia durante el embarazo); colestasis intrahepática; colestasis extrahepática; colestasis asociada a nutrición parenteral (PNAC); colestasis asociada a bajo contenido en fosfolípidos; síndrome de colestasis linfedematosa 1 (LCS1); colangitis esclerosante primaria (PSC); colangitis asociada a inmunoglobulina G4; colangitis biliar primaria; colelitiasis (cálculos biliares); litiasis biliar; coledocolitiasis; pancreatitis por cálculos biliares; enfermedad de Caroli; neoplasia maligna de las vías biliares; neoplasia maligna que causa obstrucción del árbol biliar; estenosis biliar; colangiopatía por AIDS; colangiopatía isquémica; prurito debido a colestasis o ictericia; pancreatitis; enfermedad hepática autoinmune crónica que provoca colestasis progresiva; esteatosis hepática; hepatitis alcohólica; hígado graso agudo; hígado graso del embarazo; Hepatitis inducida por fármacos; trastornos por sobrecarga de hierro; defecto congénito de la síntesis de ácidos biliares tipo 1 (defecto BAS tipo 1); lesión hepática inducida por fármacos (DILI); fibrosis hepática; fibrosis hepática congénita; cirrosis hepática; histiocitosis de células de Langerhans (LCH); colangitis esclerosante por ictiosis neonatal (NISCH); protoporfiria eritropoyética (EPP); ductopenia idiopática del adulto (IAD); hepatitis neonatal idiopática (INH); insuficiencia no sindrómica de los conductos biliares interlobulares (NS PILBD); cirrosis infantil de los indios norteamericanos (NAIC); sarcoidosis hepática; amiloidosis; enterocolitis necrotizante; toxicidades causadas por ácidos biliares séricos, incluidas alteraciones del ritmo cardíaco (por ej.g., fibrilación auricular) en el contexto de un perfil anormal de ácidos biliares séricos,

cardiomiopatía asociada a cirrosis hepática ("coleocardia") y atrofia muscular esquelética asociada a hepatopatía colestásica; hepatopatía poliquística; hepatitis vírica (incluidas hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis D y hepatitis E); carcinoma hepatocelular (hepatoma); colangiocarcinoma; cánceres gastrointestinales relacionados con los ácidos biliares; y colestasis causada por tumores y neoplasias del hígado, del tracto biliar y del páncreas. El tratamiento y la prevención de las enfermedades hepáticas también se han divulgado en el documento WO 2012/064266.

[0070] La atresia biliar es una enfermedad hepática pediátrica rara que implica una obstrucción parcial o total (o incluso ausencia) de grandes conductos biliares. Esta obstrucción o ausencia provoca colestasis que conduce a la acumulación de ácidos biliares que dañan el hígado. En algunas realizaciones, la acumulación de ácidos biliares se produce en el árbol biliar extrahepático. En algunas realizaciones, la acumulación de ácidos biliares se produce en el árbol biliar intrahepático. El tratamiento estándar actual es el procedimiento Kasai, una intervención quirúrgica que extirpa los conductos biliares obstruidos y conecta directamente una porción del intestino delgado con el hígado. Actualmente no existen tratamientos farmacológicos aprobados para este trastorno.

[0071] Aquí se proporciona la modificación cristalina I de odevixibat para su uso en el tratamiento de la atresia biliar. En algunas realizaciones, el sujeto se ha sometido al procedimiento Kasai antes de la administración de una modificación cristalina I de odevixibat. En algunas realizaciones, al sujeto se le administra la modificación cristalina I de odevixibat antes de someterse al procedimiento Kasai. En algunas realizaciones, el tratamiento de la atresia biliar disminuye el nivel de ácidos biliares séricos en el sujeto. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares séricos se determina mediante, por ejemplo, un ensayo enzimático ELISA o los ensayos para la medición de ácidos biliares totales descritos en Danese et al., PLoS One. 2017, vol. 12(6): e0179200. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares séricos puede disminuir, por ejemplo, del 10% al 40%, del 20% al 50%, del 30% al 60%, del 40% al 70%, del 50% al 80%, o en más del 90% del nivel de ácidos biliares séricos antes de la administración de la modificación cristalina I de odevixibat. En algunas realizaciones, el tratamiento de la atresia biliar incluye el tratamiento del prurito.

[0072] La PFIC es un trastorno genético raro 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.

[0073] Una manifestación de la PFIC es el prurito, que a menudo resulta en una calidad de vida gravemente disminuida. En algunos casos, la PFIC provoca cirrosis e insuficiencia hepática. Las terapias actuales incluyen la Derivación Biliar Externa Parcial (DEBP) y el trasplante de hígado; sin embargo, estas opciones pueden conllevar un riesgo sustancial de complicaciones posquirúrgicas, así como problemas psicológicos y sociales.

[0074] Se han identificado tres defectos genéticos alternativos que se correlacionan con tres subtipos distintos de PFIC conocidos como tipos 1, 2 y 3:

La PFIC, tipo 1, a veces denominada "enfermedad de Byler", está causada por una secreción biliar deficiente debida 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 de 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 hepatopatía terminal antes de finalizar la primera década de vida.

La PFIC tipo 2, a veces denominada "síndrome de Byler", está causada por un deterioro de la secreción de sales biliares debido a mutaciones en el gen ABCB11, que codifica una proteína, conocida como bomba de exportación de sales biliares, que desplaza los ácidos biliares fuera del hígado. Los sujetos con PFIC, tipo 2 suelen desarrollar 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 suele presentarse en los primeros años de la infancia con colestasis progresiva, está causada por mutaciones en el gen ABCB4, que codifica un transportador que desplaza los fosfolípidos a través de las membranas celulares.

[0075] Además, se ha propuesto que las mutaciones de los genes TJP2, NR1H4 o Myo5b son causas de la PFIC. Además, algunos sujetos con PFIC no presentan una mutación en ninguno de los genes ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o Myo5b. En estos casos, se desconoce la causa de la afección.

[0076] Las mutaciones ejemplares del gen ATP8B1 o de la proteína resultante se enumeran en las Tablas 1 y 2, con numeración basada en la proteína ATP8B1 humana de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID N°: 1) o gen (p. ej., SEQ ID N°: 2). Las mutaciones ejemplares del gen ABCB11 o de la proteína resultante se enumeran en las Tablas 3 y 4, con numeración basada en la proteína ABCB11 humana de tipo salvaje (p. ej., SEQ ID N°: 3) o gen (p. ej., SEQ ID N°: 4).

[0077] Como pueden apreciar los expertos en la materia, una posición de aminoácido en una secuencia de proteína de referencia que corresponde a una posición de aminoácido específica en SEQ ID N°: 1 ó 3 puede determinarse alineando la secuencia de la proteína de referencia con SEQ ID N°: 1 ó 3 (p. ej., utilizando un programa informático como ClustalW2). Los cambios en estos residuos (denominados en el presente documento "mutaciones") pueden incluir sustituciones

simples o múltiples de aminoácidos, inserciones dentro de las secuencias o flanqueándolas, y deleciones dentro de las secuencias o flanqueándolas. Como pueden apreciar los expertos en la materia, una posición de nucleótidos en una secuencia genética de referencia que corresponde a una posición de nucleótidos específica en SEQ ID N°: 2 ó 4 puede determinarse alineando la secuencia del gen de referencia con SEQ ID N°: 2 ó 4 (p. ej., utilizando un programa informático como ClustalW2). Los cambios en estos residuos (denominados en el presente documento "mutaciones") pueden incluir sustituciones simples o múltiples de nucleótidos, inserciones dentro de las secuencias o flanqueándolas, y deleciones dentro de las secuencias o flanqueándolas. Véase también Kooistra, et al., "KLIFS: A structural kinase-ligand interaction database", Nucleic Acids Res. 2016, vol. 44, n.º D1, pp. D365-D371.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

# ES 3 011 850 T3

Tabla 1. Mutaciones ejemplares de ATP8B1

5	Posición del aminoácido 3 (por ejemplo, T3K) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 23 (por ejemplo, P23L) <sup>8</sup>
	Posición del aminoácido 45 (por ejemplo, N45T) <sup>5,8,9</sup>
10	Posición del aminoácido 46 (por ejemplo, R46X) <sup>A,28</sup>
	Posición del aminoácido 62 (por ejemplo, C62R) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 63 (por ejemplo, T63T) <sup>41</sup>
15	Posición del aminoácido 70 (por ejemplo, D70N) <sup>1,6</sup>
	Posición del aminoácido 71 (por ejemplo, R71H) <sup>43</sup>
	Posición del aminoácido 78 (por ejemplo, H78Q) <sup>19</sup>
20	Posición del aminoácido 82 (por ejemplo, T82T) <sup>41</sup>
	Posición del aminoácido 92 (por ejemplo, Y92Y) <sup>41</sup>
	Posición del aminoácido 93 (por ejemplo, A93A) <sup>8</sup>
25	Posición del aminoácido 96 (por ejemplo, A96G) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 114 (por ejemplo, E114Q) <sup>8</sup>
	Posición del aminoácido 127 (por ejemplo, L127P <sup>6</sup> /L127V <sup>36</sup> )
30	Posición del aminoácido 177 (por ejemplo, T177T) <sup>8</sup>
	Posición del aminoácido 179 (por ejemplo, E179X) <sup>29</sup>
35	Posiciones del aminoácido Δ 185-282 <sup>44</sup>
	Posición del aminoácido 197 (por ejemplo, G197Lfs*10) <sup>22</sup>
	Posición del aminoácido 201 (por ejemplo, R201S <sup>27</sup> /R201H <sup>38</sup> )
40	Posición del aminoácido 203 (por ejemplo, K203E <sup>5,8</sup> , K203R <sup>9</sup> , K203fs <sup>25</sup> )
	Posición del aminoácido 205 (por ejemplo, N205fs <sup>6</sup> , N205Kfs*2 <sup>35</sup> )
45	Posición del aminoácido 209 (por ejemplo, P209T) <sup>4</sup>
	Posición del aminoácido 217 (por ejemplo, S217N) <sup>43</sup>
	Posición del aminoácido 232 (por ejemplo, D232D) <sup>30</sup>
50	Posición del aminoácido 233 (por ejemplo, G233R) <sup>38</sup>
	Posición del aminoácido 243 (por ejemplo, L243fs*28) <sup>33</sup>
	Posición del aminoácido 265 (por ejemplo, C265R) <sup>25</sup>
55	Posición del aminoácido 271 (por ejemplo, R271X <sup>13</sup> /R271R <sup>30</sup> )
	Posición del aminoácido 288 (por ejemplo, L288S) <sup>8</sup>
	Posición del aminoácido 294 (por ejemplo, L294S) <sup>43</sup>
60	Posición del aminoácido 296 (por ejemplo, R296C) <sup>11</sup>
	Posición del aminoácido 305 (por ejemplo, F305I) <sup>28</sup>
65	

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 306 (por ejemplo, C306R) <sup>25</sup>
	Posición del aminoácido 307 (por ejemplo, H307L) <sup>35</sup>
	Posición del aminoácido 308 (por ejemplo, G308V <sup>1</sup> , G308D <sup>9</sup> , G308S <sup>35</sup> )
10	Posición del aminoácido 314 (por ejemplo, G314S) <sup>13</sup>
	Posición del aminoácido 320 (por ejemplo, M320Vfs*13) <sup>11</sup>
	Posición del aminoácido 337 (por ejemplo, M337R) <sup>18</sup>
15	Posición del aminoácido 338 (por ejemplo, N338K) <sup>18</sup>
	Posición del aminoácido 340 (por ejemplo, M340V) <sup>18</sup>
	Posición del aminoácido 344 (por ejemplo, I344F) <sup>6,20</sup>
20	Posición del aminoácido 349 (por ejemplo, I349T) <sup>41</sup>
	Posición del aminoácido 358 (por ejemplo, G358R) <sup>25</sup>
	Posición del aminoácido 367 (por ejemplo, G367G) <sup>41</sup>
25	Posición del aminoácido 368 (por ejemplo, N368D) <sup>41</sup>
	Posición del aminoácido 393 (por ejemplo, I393V) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 403 (por ejemplo, S403Y) <sup>6</sup>
30	Posición del aminoácido 407 (por ejemplo, S407N) <sup>40</sup>
	Posición del aminoácido 412 (por ejemplo, R412P) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 415 (por ejemplo, Q415R) <sup>27</sup>
35	Posición del aminoácido 422 (por ejemplo, D422H) <sup>35</sup>
	Posición del aminoácido 429 (por ejemplo, E429A) <sup>6</sup>
40	Posición del aminoácido 446 (por ejemplo, G446R) <sup>4,11</sup>
	Posición del aminoácido 453 (por ejemplo, S453Y) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 454 (por ejemplo, D454G) <sup>6</sup>
45	Posición del aminoácido 455 (por ejemplo, K455N) <sup>43</sup>
	Posición del aminoácido 456 (por ejemplo, T456M <sup>2,6</sup> /T456K <sup>35</sup> )
	Posición del aminoácido 457 (por ejemplo, G457G <sup>9</sup> , G457fs*6 <sup>33</sup> )
50	Posición del aminoácido 469 (por ejemplo, C469G) <sup>41</sup>
	Posición del aminoácido 478 (por ejemplo, H478H) <sup>41</sup>
	Posición del aminoácido 500 (por ejemplo, Y500H) <sup>6</sup>
55	Posición del aminoácido 525 (por ejemplo, R525X) <sup>4</sup>
	Posición del aminoácido Δ 529 <sup>6</sup>
60	Posición del aminoácido 535 (por ejemplo, H535L <sup>6</sup> /H535N <sup>41</sup> )
	Posición del aminoácido 553 (por ejemplo, P553P) <sup>43</sup>
	Posición del aminoácido 554 (por ejemplo, D554N <sup>1,6</sup> /D554A <sup>35</sup> )

65

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posiciones del aminoácido Δ 556-628 <sup>44</sup>
	Posiciones del aminoácido Δ 559-563 <sup>35</sup>
	Posición del aminoácido 570 (por ejemplo, L570L) <sup>45</sup>
10	Posición del aminoácido 577 (por ejemplo, I577V) <sup>19</sup>
	Posición del aminoácido 581 (por ejemplo, E581K) <sup>35</sup>
	Posiciones del aminoácido 554 y 581 (por ejemplo, D554A+E581K) <sup>35</sup>
15	Posición del aminoácido 585 (por ejemplo, E585X) <sup>21</sup>
	Posición del aminoácido 600 (por ejemplo, R600W <sup>2,4</sup> /R600Q <sup>6</sup> )
	Posición del aminoácido 602 (por ejemplo, R602X) <sup>3,6</sup>
20	Posición del aminoácido 628 (por ejemplo, R628W) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 631 (por ejemplo, R631Q) <sup>26</sup>
	Posiciones del aminoácido Δ 645-699 <sup>4</sup>
25	Posición del aminoácido 661 (por ejemplo, I661T) <sup>1,4,6</sup>
	Posición del aminoácido 665 (por ejemplo, E665X) <sup>4,6</sup>
30	Posición del aminoácido 672 (por ejemplo, K672fs <sup>6</sup> , K672Vfs*1 <sup>35</sup> )
	Posición del aminoácido 674 (por ejemplo, M674T) <sup>19</sup>
	Posiciones del aminoácido 78 y 674 (por ejemplo, H78Q/M674T) <sup>19</sup>
35	Posición del aminoácido 684 (por ejemplo, D684D) <sup>41</sup>
	Posición del aminoácido 688 (por ejemplo, D688G) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 694 (por ejemplo, I694T <sup>9</sup> /I694N <sup>17</sup> )
40	Posición del aminoácido 695 (por ejemplo, E695K) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 709 (por ejemplo, K709fs <sup>6</sup> , K709Qfs*41 <sup>13</sup> )
	Posición del aminoácido 717 (por ejemplo, T717N) <sup>4</sup>
45	Posición del aminoácido 733 (por ejemplo, G733R) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 757 (por ejemplo, Y757X) <sup>4</sup>
	Posición del aminoácido 749 (por ejemplo, L749P) <sup>21</sup>
50	Posición del aminoácido 792 (por ejemplo, F792fs) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido Δ 795-797 <sup>6</sup>
55	Posición del aminoácido 809 (por ejemplo, I809L) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 814 (por ejemplo, K814N) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 833 (por ejemplo, R833Q <sup>27</sup> /R833W <sup>41</sup> )
60	Posición del aminoácido 835 (por ejemplo, K835Rfs*36) <sup>35</sup>
	Posición del aminoácido 845 (por ejemplo, K845fs) <sup>25</sup>
65	Posición del aminoácido 849 (por ejemplo, R849Q) <sup>24</sup>

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 853 (por ejemplo, F853S, F853fs) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 867 (por ejemplo, R867C <sup>1</sup> , R867fs <sup>6</sup> , R867H <sup>23</sup> )
	Posición del aminoácido 885 (por ejemplo, K885T) <sup>41</sup>
10	Posición del aminoácido 888 (por ejemplo, T888T) <sup>43</sup>
	Posición del aminoácido 892 (por ejemplo, G892R) <sup>6</sup>
15	Posición del aminoácido 912 (por ejemplo, G912R) <sup>26</sup>
	Posición del aminoácido 921 (por ejemplo, S921S) <sup>41</sup>
	Posición del aminoácido 924 (por ejemplo, Y924C) <sup>28</sup>
20	Posición del aminoácido 930 (por ejemplo, R930X <sup>6</sup> /R930Q <sup>28</sup> )
	Posición del aminoácido 941 (por ejemplo, R941X) <sup>25</sup>
	Posición del aminoácido 946 (por ejemplo, R946T) <sup>41</sup>
25	Posición del aminoácido 952 (por ejemplo, R952Q <sup>5,9,15</sup> , R952X <sup>6</sup> )
	Posición del aminoácido 958 (por ejemplo, N958fs) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 960 (por ejemplo, A960A) <sup>41</sup>
30	Posición del aminoácido Δ 971 <sup>43</sup>
	Posición del aminoácido 976 (por ejemplo, A976E <sup>41</sup> /A976A <sup>43</sup> )
35	Posición del aminoácido 981 (por ejemplo, E981K) <sup>20</sup>
	Posición del aminoácido 994 (por ejemplo, S994R) <sup>4</sup>
	Posición del aminoácido 1011 (por ejemplo, L1011fs*18) <sup>23</sup>
40	Posición del aminoácido 1012 (por ejemplo, S1012I) <sup>10</sup>
	Posición del aminoácido 1014 (por ejemplo, R1014X) <sup>6,11</sup>
	Posición del aminoácido 1015 (por ejemplo, F1015L) <sup>27</sup>
45	Posición del aminoácido 1023 (por ejemplo, Q1023fs) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 1040 (por ejemplo, G1040R) <sup>1,6</sup>
	Posición del aminoácido 1044 (por ejemplo, S0144L) <sup>24</sup>
50	Posición del aminoácido 1047 (por ejemplo, L1047fs) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 1050 (por ejemplo, I1050K) <sup>31</sup>
	Posición del aminoácido 1052 (por ejemplo, L1052R) <sup>28</sup>
55	Posición del aminoácido 1095 (por ejemplo, W1095X) <sup>11</sup>
	Posición del aminoácido 1098 (por ejemplo, V1098X) <sup>25</sup>
	Posición del aminoácido 1131 (por ejemplo, Q1131X) <sup>44</sup>
60	Posición del aminoácido 1142 (por ejemplo, A1142Tfs*35) <sup>43</sup>
	Posición del aminoácido 1144 (por ejemplo, Y1144Y) <sup>43</sup>
65	Posición del aminoácido 1150 (por ejemplo, I1150T) <sup>41</sup>

ES 3 011 850 T3

(continuación)

5

	Posición del aminoácido 1152 (por ejemplo, A1152T) <sup>32</sup>
	Posición del aminoácido 1159 (por ejemplo, P1159P) <sup>25,43</sup>
10	Posición del aminoácido 1164 (por ejemplo, R1164X) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 1193 (por ejemplo, R1193fs*39) <sup>33</sup>
	Posición del aminoácido 1197 (por ejemplo, V1197L) <sup>41</sup>
15	Posición del aminoácido 1208 (por ejemplo, A1208fs) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 1209 (por ejemplo, Y1209Lfs*28) <sup>4</sup>
20	Posición del aminoácido 1211 (por ejemplo, F1211L) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 1219 (por ejemplo, D1219H <sup>5</sup> /D1219G <sup>27</sup> )
	Posición del aminoácido 1223 (por ejemplo, S1223S) <sup>41</sup>
25	Posición del aminoácido 1233 (por ejemplo, P1233P) <sup>41</sup>
	Posición del aminoácido 1241 (por ejemplo, G1241fs) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 1248 (por ejemplo, T1248T) <sup>43</sup>
30	Mutación del sitio de empalme IVS3+1_ <sub>3</sub> delGTG <sup>6</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS3-2A>G <sup>6</sup>
	IVS6+5T>G <sup>17,26</sup>
35	Mutación del sitio de empalme IVS8+1G>T <sup>6</sup>
	IVS9-G>A <sup>26</sup>
40	IVS12+1G>A <sup>26</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS17-1G>A <sup>6</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS18+2T>C <sup>6</sup>
45	Mutación del sitio de empalme IVS20-4CT>AA
	Mutación del sitio de empalme IVS21+5G>A <sup>6</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS23-3C>A <sup>6</sup>
50	Mutación del sitio de empalme IVS26+2T>A <sup>6</sup>
	g.24774-42062del <sup>6</sup>
	c.-4C>G <sup>41</sup>
55	c.145C>T <sup>12</sup>
	c.181-72G>A <sup>9</sup>
	c.182-5T>A <sup>41</sup>
60	c.182-72G>A <sup>41</sup>
	c.246A>G <sup>9</sup>
	c.239G>A <sup>39</sup>
65	c.279+1_ <sub>279</sub> +3delGTG <sup>46</sup>

(continuación)

5	c.280-2A>G <sup>46</sup>
	c.625_62715delinsACAGTAAT <sup>48</sup>
	c.554+122C>T <sup>9</sup>
10	c.555-3T>C <sup>27</sup>
	c.625+5 G>T <sup>4</sup>
	Posición del aminoácido 209 (por ejemplo, P209T) y c.625+5 G>T <sup>4</sup>
15	c.628-30G>A <sup>41</sup>
	c.628-31C>T <sup>41</sup>
	c.698+1G>T <sup>46</sup>
20	c.698+20C>T <sup>41</sup>
	c.782-1G>A <sup>48</sup>
	c.782-34G>A <sup>41</sup>
25	Δ795-797 <sup>14</sup>
	c.782 -1G>A <sup>8</sup>
	c.852A>C <sup>27</sup>
30	c.941-1G>A <sup>48</sup>
	c.1014C>T <sup>9</sup>
35	c.1029+35G>A <sup>9</sup>
	c.1221-8C.G <sup>41</sup>
	1226delA <sup>16</sup>
40	c.1429+1G>A <sup>48</sup>
	c.1429+2T>G <sup>13</sup>
	c.1429+48G>A <sup>41</sup>
45	c.1430-42A>G <sup>41</sup>
	c.1493T>C <sup>12</sup>
50	c.1587_1589delCTT <sup>46</sup>
	c.1630+2T>G <sup>27</sup>
	c.1631-10T>A <sup>41</sup>
55	c.1637-37T>C <sup>41</sup>
	1660 G>A <sup>14</sup>
	1798 C>T <sup>14</sup>
60	1799 G>A <sup>14</sup>
	c.1819-39_41delAA <sup>9</sup>
65	c.1819+1G>A <sup>31</sup>

ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	c.1820-27G>A <sup>41</sup>
	c.1918+8C>T <sup>27</sup>
	c.1933-1G>AK46
10	c.2097+2T>C <sup>32</sup>
	c.2097+60T>G <sup>41</sup>
	c.2097+89T>C <sup>41</sup>
15	c.2097+97T>G <sup>41</sup>
	c.2210-114T>C <sup>9</sup>
	2210delA <sup>16</sup>
20	c.2210-45_50dupATAAAA <sup>9</sup>
	c.2285+29C.T <sup>41</sup>
	c.2285+32A>G <sup>41</sup>
25	c.2286-4_2286-3delinsAA <sup>46</sup>
	c.2418+5G>A <sup>46</sup>
	c.2707+3G>C <sup>27</sup>
30	c.2707+9T>G <sup>41</sup>
	c.2707+43A>G <sup>41</sup>
	c.2709-59T>C <sup>41</sup>
35	c.2931+9A>G <sup>41</sup>
	c.2931+59T>A <sup>41</sup>
40	c.2932-3C>A <sup>46</sup>
	c.2932+59T>A <sup>9</sup>
	c.2937A>C <sup>27</sup>
45	c.3016-9C>A <sup>21</sup>
	c.3033-3034del <sup>19</sup>
	3122delTCCTA/insACATCGATGTTGATGTTAGG <sup>46</sup>
50	3318 G>A <sup>14</sup>
	c.3400+2T>A <sup>46</sup>
	c.3401-175C>T <sup>9</sup>
55	c.3401-167C>T <sup>9</sup>
	c.3401-108C>T <sup>9</sup>
	c.3531+8G>T <sup>9,15</sup>
60	c.3532-15C>T <sup>9</sup>
	Δ Phe ex 15 <sup>4</sup>
65	

(continuación)

5	Ex1_Ex13del <sup>6</sup>
	Ex2_Ex6del <sup>33</sup>
	Ex12_Ex14del <sup>27</sup>
10	Exón 24 <sup>45</sup> omitido
	del5'UTR-ex18 <sup>11</sup>
	c.*11C>T <sup>41</sup>
15	c.*1101 + 366G > A <sup>7</sup>
	g.92918del565 <sup>31</sup>
20	GC que precede al exón 16 (por ejemplo, resulta en una delección de 4 pb) <sup>42</sup>
	Desplazamiento del marco desde el extremo 5 'del exón 16 <sup>42</sup>
25	Delección 5 ' 1.4 kb <sup>48</sup>

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

30	Posición del aminoácido 23 (por ejemplo, P23L) <sup>5</sup>
	Posición del aminoácido 78 (por ejemplo, H78Q) <sup>19</sup>
35	Posición del aminoácido 93 (por ejemplo, A93A) <sup>5</sup>
	Posición del aminoácido 96 (por ejemplo, A96G) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 127 (por ejemplo, L127P) <sup>6</sup>
40	Posición del aminoácido 197 (por ejemplo, G197Lfs*10) <sup>22</sup>
	Posición del aminoácido 205 (por ejemplo, N205fs) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 209 (por ejemplo, P209T) <sup>4</sup>
45	Posición del aminoácido 233 (por ejemplo, G233R) <sup>36</sup>
	Posición del aminoácido 243 (por ejemplo, L243fs*28) <sup>33</sup>
	Posición del aminoácido 288 (por ejemplo, L288S) <sup>6</sup>
50	Posición del aminoácido 296 (por ejemplo, R296C) <sup>11</sup>
	Posición del aminoácido 308 (por ejemplo, G308V <sup>3,6</sup> )
	Posición del aminoácido 320 (por ejemplo, M320Vfs*13) <sup>11</sup>
55	Posición del aminoácido 403 (por ejemplo, S403Y) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 407 (por ejemplo, S407N) <sup>46</sup>
	Posición del aminoácido 412 (por ejemplo, R412P) <sup>6</sup>
60	Posición del aminoácido 415 (por ejemplo, Q415R) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 429 (por ejemplo, E429A) <sup>6</sup>
65	Posición del aminoácido 446 (por ejemplo, G446R) <sup>4</sup>

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 456 (por ejemplo, T456M) <sup>3,6</sup>
	Posición del aminoácido 457 (por ejemplo, G457G <sup>9</sup> , G457fs*6 <sup>23</sup> )
	Posición del aminoácido 500 (por ejemplo, Y500H) <sup>6</sup>
10	Posición del aminoácido 525 (por ejemplo, R525X) <sup>4</sup>
	Posición del aminoácido Δ 529 <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 535 (por ejemplo, H535L) <sup>6</sup>
15	Posición del aminoácido 554 (por ejemplo, D554N) <sup>1,6</sup>
	Posición del aminoácido 577 (por ejemplo, I577V) <sup>19</sup>
	Posición del aminoácido 585 (por ejemplo, E585X) <sup>21</sup>
20	Posición del aminoácido 600 (por ejemplo, R600W) <sup>4</sup>
	Posición del aminoácido 602 (por ejemplo, R602X) <sup>3,6</sup>
	Posición del aminoácido 661 (por ejemplo, I661T) <sup>4,6</sup>
25	Posición del aminoácido 665 (por ejemplo, E665X) <sup>4,6</sup>
	Posiciones del aminoácido Δ 645-699 <sup>4</sup>
	Posición del aminoácido 672 (por ejemplo, K672fs) <sup>6</sup>
30	Posición del aminoácido 674 (por ejemplo, M674T) <sup>19</sup>
	Posiciones del aminoácido 78 y 674 (por ejemplo, H78Q/M674T) <sup>19</sup>
	Posición del aminoácido 688 (por ejemplo, D688G) <sup>6</sup>
35	Posición del aminoácido 694 (por ejemplo, I694N) <sup>17</sup>
	Posición del aminoácido 695 (por ejemplo, E695K) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 709 (por ejemplo, K709fs) <sup>6</sup>
40	Posición del aminoácido 717 (por ejemplo, T717N) <sup>4</sup>
	Posición del aminoácido 733 (por ejemplo, G733R) <sup>6</sup>
45	Posición del aminoácido 749 (por ejemplo, L749P) <sup>21</sup>
	Posición del aminoácido 757 (por ejemplo, Y757X) <sup>4</sup>
	Posición del aminoácido 792 (por ejemplo, P792fs) <sup>6</sup>
50	Posición del aminoácido 809 (por ejemplo, I809L) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 853 (por ejemplo, F853S, F853fs) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 867 (por ejemplo, R867fs) <sup>6</sup>
55	Posición del aminoácido 892 (por ejemplo, G892R) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 930 (por ejemplo, R930X <sup>5</sup> /R952Q <sup>15</sup> )
60	Posición del aminoácido 952 (por ejemplo, R952X) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 958 (por ejemplo, N958fs) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 981 (por ejemplo, E981K) <sup>20</sup>
65	

ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 994 (por ejemplo, S994R) <sup>4</sup>
	Posición del aminoácido 1014 (por ejemplo, R1014X) <sup>6,13</sup>
	Posición del aminoácido 1015 (por ejemplo, F1015L) <sup>27</sup>
10	Posición del aminoácido 1023 (por ejemplo, Q1023fs) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 1040 (por ejemplo, G1040R) <sup>1,6</sup>
	Posición del aminoácido 1047 (por ejemplo, L1047fs) <sup>6</sup>
15	Posición del aminoácido 1095 (por ejemplo, W1095X) <sup>11</sup>
	Posición del aminoácido 1208 (por ejemplo, A1208fs) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 1209 (por ejemplo, Y1209Lfs*28) <sup>4</sup>
20	Posición del aminoácido 1211 (por ejemplo, F1211L) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 1219 (por ejemplo, D1219H <sup>6</sup> /D1219G <sup>27</sup> )
	Mutación del sitio de empalme IVS3+1_+3delGTG <sup>6</sup>
25	Mutación del sitio de empalme IVS3-2A>G <sup>6</sup>
	IVS6+5T>G <sup>17</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS8+1G>T <sup>6</sup>
30	IVS9-G>A <sup>26</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS17-1G>A <sup>6</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS18+2T>C <sup>6</sup>
35	Mutación del sitio de empalme IVS21+5G>A <sup>6</sup>
	g.24774-42062del <sup>4</sup>
40	c.145C>T <sup>12</sup>
	c.239G>A <sup>38</sup>
	c.625+5 G>T <sup>4</sup>
45	Posición del aminoácido 209 (por ejemplo, P209T) y c.625+5 G>T <sup>4</sup>
	c.782 -1G>A <sup>8</sup>
	c.1493T>C <sup>12</sup>
50	c.1630+2T>G <sup>27</sup>
	1660 G>A <sup>14</sup>
	c.2707+3G>C <sup>27</sup>
55	c.2097+2T>C <sup>32</sup>
	c.3033-3034del <sup>19</sup>
60	3318 G>A <sup>14</sup>
	c.3158+8G>T <sup>15</sup>
	Δ Phe ex 15 <sup>4</sup>
65	

(continuación)

5	Ex1_Ex13del <sup>6</sup>
	Ex2_Ex6del <sup>33</sup>
	Ex12_Ex14del <sup>27</sup>
10	del5'UTR-ex18 <sup>11</sup>
	c.*1101 + 366G > A <sup>7</sup>
15	GC que precede al exón 16 (por ejemplo, resulta en una delección de 4 pb) <sup>12</sup>
	Desplazamiento del marco desde el extremo 5 'del exón 16 <sup>12</sup>

<sup>A</sup> Una mutación para 'X' denota un codón de terminación temprana

20 *Referencias de las Tablas 1 y 2*

[0078]

- 25 <sup>1</sup> Folmer et al., *Hepatology*. 2009, vol. 50(5), p. 1597-1605.
- <sup>2</sup> Hsu et al., *Hepatology*. 2009, vol. 39, p. 6).
- <sup>3</sup> Alvarez et al., *Hum Mol Genet*. 2004, vol. 13, p. 20).
- <sup>4</sup> Davit-Spraul et al., *Hepatology* 2010, vol. 51(5), p. 1645-1655.
- <sup>5</sup> Vitale et al., *J Gastroenterol*. 2018, vol. 53(8), p. 945-958.
- <sup>6</sup> Klomp et al., *Hepatology* 2004, vol. 40(1), p. 27-38.
- 30 <sup>7</sup> Zarenezhad et al., *Hepatitis Monthly*: 2017, vol. 17(2); e43500.
- <sup>8</sup> Dixon et al., *Scientific Reports* 2017, vol. 7, 11823.
- <sup>9</sup> Painter et al., *Eur J Hum Genet*. 2005, vol. 13, p. 4).
- <sup>10</sup> Deng et al., *World J Gastroenterol*. 2012, vol. 18, p. 44).
- <sup>11</sup> Giovannoni et al., *PLoS One*. 2015, vol. 10(12): e0145021.
- 35 <sup>12</sup> Li et al., *Hepatology International* 2017, vol. 11, N.º 1, Sup. Suplemento 1, pp. S180. Número de Resumen: OP284.
- <sup>13</sup> Togawa et al., *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2018, vol. 67, Sup. Suplemento 1, pp. S363. Número de Resumen: 615.
- <sup>14</sup> Miloh et al., *Gastroenterology* 2006, vol. 130, N.º 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, EE. UU.. 19 de mayo.
- <sup>15</sup> Dröge et al., *Zeitschrift für Gastroenterologie* 2015, vol. 53, N.º 12. Número de Resumen: A3-27. Info. Reunión: 32. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber. Düsseldorf, Alemania. 22 ene 2016-23 ene 2016
- 45 <sup>16</sup> Mizuochi et al., *Clin Chim Acta*. 2012, vol. 413, p. 15-16).
- <sup>17</sup> Liu et al., *Hepatology International* 2009, vol. 3, N.º 1, p. 184-185. Número de Resumen: PE405. Info. Reunión: 19ª Conferencia de la Asociación de Asia y el Pacífico para el Estudio del Hígado. Hong Kong, China. 13 feb 2009-16 feb 2009
- <sup>18</sup> McKay et al., *Version 2. F1000Res*. 2013; 2: 32. DOI: 10.12688/f1000research.2-32.v2
- 50 <sup>19</sup> Hasegawa et al., *Orphanet J Rare Dis*. 2014, vol. 9:89.
- <sup>20</sup> Stone et al., *J Biol Chem*. 2012, vol. 287(49), p. 41139-51.
- <sup>21</sup> Kang et al., *J Pathol Transl Med*. 2019 May 16. doi: 10.4132/jptm.2019.05.03. [Epub antes de impresión]
- <sup>22</sup> Sharma et al., *BMC Gastroenterol*. 2018, vol. 18(1), p. 107.
- <sup>23</sup> Uegaki et al., *Intern Med*. 2008, vol. 47(7), p. 599-602.
- 55 <sup>24</sup> Goldschmidt et al., *Hepatology*. 2016, vol. 46, p. 4).
- <sup>25</sup> Liu et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010, vol. 50, p. 2).
- <sup>26</sup> Jung et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007, vol. 44(4), p. 453-458.
- <sup>27</sup> Bounford. Universidad de Birmingham. *Dissertation Abstracts International*, (2016) Vol. 75, N.º 1C. N.º de pedido: AAI10588329. ProQuest Dissertations & Theses.
- 60 <sup>28</sup> Stolz et al., *Aliment Pharmacol Ther*. 2019, vol. 49(9), p. 1195-1204.
- <sup>29</sup> Ivashkin et al., *Hepatology International* 2016, vol. 10, N.º 1, Sup. SUPL. 1, pp. S461. Número de Resumen: LBO-38. Info. Reunión: 25ª Conferencia Anual de la Asociación de Asia y el Pacífico para el Estudio del Hígado, APASL 2016. Tokio, Japón. 20 feb 2016-24 feb 2016
- <sup>30</sup> Blackmore et al., *J Clin Exp Hepatol*. 2013, vol. 3(2), p. 159-161.
- 65 <sup>31</sup> Matte et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010, vol. 51(4), p. 488-493.
- <sup>32</sup> Squires et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017, vol. 64(3), p. 425-430.

<sup>33</sup> Hayshi et al., EBioMedicine. 2018, vol. 27, p. 187-199).

<sup>34</sup> Nagasaka et al., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007, vol. 45, p. 1).

<sup>35</sup> Wang et al., PLoS One. 2016; vol. 11(4): e0153114.

<sup>36</sup> Narchi et al., Saudi J Gastroenterol. 2017, vol. 23, p. 5).

5 <sup>37</sup> Alashkar et al., Blood 2015, vol. 126, n.º 23. Información de la reunión.: 57ª Reunión Anual de la Sociedad Americana de Hematología. Orlando, FL, EE. UU. Del 05 al 08 de diciembre de 2015. Amer Soc Hematol.

<sup>38</sup> Ferreira et al., Pediatric Transplantation 2013, vol. 17, Sup. SUPL. 1; pp 99. Número de Resumen: 239. Info. Reunión: IPTA 7º Congreso de Trasplante Pediátrico. Varsovia, Polonia. 13 jul 2013-16 jul 2013.

<sup>31</sup> Pauli-Magnus et al., J Hepatol. 2005, vol. 43(2), p. 342-357.

10 <sup>40</sup> Jericó et al., Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2015, vol. 60(3), p. 368-374.

<sup>41</sup> van der Woerd et al., PLoS One. 2013, vol. 8(11): e80553.

<sup>42</sup> Copeland et al., J Gastroenterol Hepatol. 2013, vol. 28, p. 3).

<sup>43</sup> Dröge et al., J Hepatol. 2017, vol. 67(6), p. 1253-1264.

<sup>44</sup> Chen et al., Journal of Pediatrics 2002, vol. 140(1), p. 119-124.

15 <sup>45</sup> Jirsa et al., Hepatol Res. 2004, vol. 30, p. 1).

<sup>46</sup> Van der Woerd et al., Hepatology 2015, vol. 61(4), p. 1382-1391.

[0079] En algunas realizaciones, la mutación en ATP8B1 se selecciona entre L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X, y G1040R.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Tabla 3. Mutaciones Ejemplares de ABCB11

5	Posición del aminoácido 1 (por ejemplo, M1V) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 4 (por ejemplo, S4X) <sup>A,64</sup>
10	Posición del aminoácido 8 (por ejemplo, R8X) <sup>88</sup>
	Posición del aminoácido 19 (por ejemplo, G19R) <sup>56</sup>
	Posición del aminoácido 24 (por ejemplo, K24X) <sup>35</sup>
15	Posición del aminoácido 25 (por ejemplo, S25X) <sup>6,14</sup>
	Posición del aminoácido 26 (por ejemplo, Y26Ifs*7) <sup>38</sup>
	Posición del aminoácido 36 (por ejemplo, D36D) <sup>27</sup>
20	Posición del aminoácido 38 (por ejemplo, K38Rfs*24) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 43 (por ejemplo, V43I) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 49 (por ejemplo, Q49X) <sup>73</sup>
25	Posición del aminoácido 50 (por ejemplo, L50S, L50W) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 52 (por ejemplo, R52W <sup>26</sup> /R52R <sup>28</sup> )
	Posición del aminoácido 56 (por ejemplo, S56L) <sup>68</sup>
30	Posición del aminoácido 58 (por ejemplo, D58N) <sup>62</sup>
	Posición del aminoácido 62 (por ejemplo, M62K) <sup>9</sup>
35	Posición del aminoácido 66 (por ejemplo, S66N) <sup>17</sup>
	Posición del aminoácido 68 (por ejemplo, C68Y) <sup>41</sup>
	Posición del aminoácido 50 (por ejemplo, L50S) <sup>6,7</sup>
40	Posición del aminoácido 71 (por ejemplo, L71H) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 74 (por ejemplo, I74R) <sup>71</sup>
	Posición del aminoácido 77 (por ejemplo, P77A) <sup>73</sup>
45	Posición del aminoácido 87 (por ejemplo, T87R) <sup>87</sup>
	Posición del aminoácido 90 (por ejemplo, F90F) <sup>7,27</sup>
	Posición del aminoácido 93 (por ejemplo, Y93S <sup>13</sup> /Y93X <sup>66</sup> )
50	Posición del aminoácido 96 (por ejemplo, E96X) <sup>88</sup>

55

60

65

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 97 (por ejemplo, L97X) <sup>38</sup>
	Posición del aminoácido 101 (por ejemplo, Q101Dfs*8) <sup>3</sup>
10	Posición del aminoácido 107 (por ejemplo, C107R) <sup>38</sup>
	Posición del aminoácido 112 (por ejemplo, I112T) <sup>8</sup>
	Posición del aminoácido 114 (por ejemplo, W114R) <sup>2,9</sup>
15	Posición del aminoácido 123 (por ejemplo M123T) <sup>67</sup>
	Posición del aminoácido 127 (por ejemplo, T127Hfs*6) <sup>5</sup>
	Posición del aminoácido 129 (por ejemplo, C129Y) <sup>25</sup>
20	Posición del aminoácido 130 (por ejemplo, G130G) <sup>77</sup>
	Posición del aminoácido 134 (por ejemplo, I134I) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 135 (por ejemplo, E135K <sup>7,13</sup> /E135L <sup>17</sup> )
25	Posición del aminoácido 137 (por ejemplo, E137K) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 157 (por ejemplo, Y157C) <sup>5</sup>
	Posición del aminoácido 161 (por ejemplo, C161X) <sup>38</sup>
30	Posición del aminoácido 164 (por ejemplo, V164Gfs*7 <sup>30</sup> , V164I <sup>30</sup> )
	Posición del aminoácido 167 (por ejemplo, A167S <sup>4</sup> , A167V <sup>7</sup> , A167T <sup>9,17</sup> )
35	Posición del aminoácido 181 (por ejemplo, R181I) <sup>38</sup>
	Posición del aminoácido 182 (por ejemplo, I182K) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 183 (por ejemplo, M183V <sup>8</sup> /M183T <sup>9</sup> )
40	Posición del aminoácido 185 (por ejemplo, M185I) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 186 (por ejemplo, E186G) <sup>2,7,22</sup>
	Posición del aminoácido 188 (por ejemplo, G188W) <sup>73</sup>
45	Posición del aminoácido 194 (por ejemplo, S194P) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 198 (por ejemplo, L198P) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 199 (por ejemplo, N199Ifs*15X) <sup>8888</sup>
50	Posición del aminoácido 206 (por ejemplo, I206V) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 212 (por ejemplo, A212T) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 217 (por ejemplo, M217R) <sup>38</sup>
55	Posición del aminoácido 225 (por ejemplo, T225P) <sup>67</sup>
	Posición del aminoácido 226 (por ejemplo, S226L) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 232 (por ejemplo, L232Cfs*9) <sup>9</sup>
60	Posición del aminoácido 233 (por ejemplo, L233S) <sup>66</sup>
	Posición del aminoácido 238 (por ejemplo, G238V) <sup>2,7</sup>
65	Posición del aminoácido 242 (por ejemplo, T242I) <sup>5,7</sup>

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 245 (por ejemplo, I245Tfs*26) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 256 (por ejemplo, A256G) <sup>58</sup>
	Posición del aminoácido 260 (por ejemplo, G260D) <sup>7</sup>
10	Posición del aminoácido 269 (por ejemplo, Y269Y) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 277 (por ejemplo, A277E) <sup>77</sup>
15	Posición del aminoácido 283 (por ejemplo, E283D) <sup>73</sup>
	Posiciones del aminoácido 212 y 283 (por ejemplo, A212T+E283D) <sup>73</sup>
20	Posición del aminoácido 284 (por ejemplo, V284L <sup>7,39</sup> , V284A <sup>7</sup> , V284D <sup>23</sup> )
	Posición del aminoácido 297 (por ejemplo, E297G <sup>1,2,5,7</sup> , E297K <sup>7</sup> )
	Posición del aminoácido 299 (por ejemplo, R299K) <sup>28</sup>
25	Posición del aminoácido 303 (por ejemplo, R303K <sup>8</sup> , R303M <sup>63</sup> , R303fsX321 <sup>83</sup> )
	Posición del aminoácido 304 (por ejemplo, Y304X) <sup>28</sup>
30	Posición del aminoácido 312 (por ejemplo, Q312H) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 313 (por ejemplo, R313S) <sup>5,7</sup>
35	Posición del aminoácido 314 (por ejemplo, W314X) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 318 (por ejemplo, K318Rfs*26) <sup>23</sup>
	Posición del aminoácido 319 (por ejemplo, G319G) <sup>7</sup>
40	Posición del aminoácido 327 (por ejemplo, G327E) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 330 (por ejemplo, W330X) <sup>24</sup>
	Posición del aminoácido 336 (por ejemplo, C336S) <sup>2,7</sup>
45	Posición del aminoácido 337 (por ejemplo, Y337H) <sup>21,27</sup>
	Posición del aminoácido 342 (por ejemplo, W342G) <sup>63</sup>
	Posición del aminoácido 354 (por ejemplo, R354X) <sup>6</sup>
50	Posición del aminoácido 361 (por ejemplo, Q361X <sup>57</sup> /Q361R <sup>74</sup> )
	Posición del aminoácido 366 (por ejemplo, V366V <sup>26</sup> /V366D <sup>57</sup> )
55	Posición del aminoácido 368 (por ejemplo, V368Rfs*27) <sup>5</sup>
	Posición del aminoácido 374 (por ejemplo, G374S) <sup>3</sup>
	Posición del aminoácido 380 (por ejemplo, L380Wfs*18) <sup>5</sup>
60	Posición del aminoácido 382 (por ejemplo, A382G) <sup>88</sup>
	Posiciones del aminoácido Δ 382-388 <sup>5</sup>
	Posiciones del aminoácido Δ 383-389 <sup>57</sup>
65	Posición del aminoácido 387 (por ejemplo, R387H) <sup>3</sup>

ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 390 (por ejemplo, A390P) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 395 (por ejemplo, E395E) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 404 (por ejemplo, D404G) <sup>9</sup>
10	Posición del aminoácido 410 (por ejemplo, G410D) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 413 (por ejemplo, L413W) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 415 (por ejemplo, R415X) <sup>42</sup>
15	Posición del aminoácido 416 (por ejemplo, I416I) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 420 (por ejemplo, I420T) <sup>8</sup>
	Posición del aminoácido 423 (por ejemplo, H423R) <sup>13</sup>
20	Posición del aminoácido 432 (por ejemplo, R432T) <sup>1,2,7</sup>
	Posición del aminoácido 436 (por ejemplo, K436N) <sup>40</sup>
	Posición del aminoácido 440 (por ejemplo, D440E) <sup>68</sup>
25	Posición del aminoácido 444 (por ejemplo, V444A) <sup>2</sup>
	Posición del aminoácido 454 (por ejemplo, V454X) <sup>49</sup>
30	Posición del aminoácido 455 (por ejemplo, G455E) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 457 (por ejemplo, S457Vfs*23) <sup>68</sup>
	Posición del aminoácido 461 (por ejemplo, K461E) <sup>2,7</sup>
35	Posición del aminoácido 462 (por ejemplo, S462R) <sup>68</sup>
	Posición del aminoácido 463 (por ejemplo, T463I) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 466 (por ejemplo, Q466K) <sup>5,7</sup>
40	Posición del aminoácido 470 (por ejemplo, R470Q <sup>5,7</sup> /R470X <sup>9</sup> )
	Posición del aminoácido 471 (por ejemplo, Y472X) <sup>5</sup>
	Posición del aminoácido 472 (por ejemplo, Y472C <sup>5,27</sup> /Y472X <sup>14</sup> )
45	Posición del aminoácido 473 (por ejemplo, D473Q <sup>35</sup> /D473V <sup>28</sup> )
	Posición del aminoácido 475 (por ejemplo, C475X) <sup>29</sup>
50	Posición del aminoácido 481 (por ejemplo, V481E) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 482 (por ejemplo, D482G) <sup>2,5,7</sup>
	Posición del aminoácido 484 (por ejemplo, H484Rfs*5) <sup>5</sup>
55	Posición del aminoácido 487 (por ejemplo, R487H <sup>2</sup> /R487P <sup>5</sup> )
	Posición del aminoácido 490 (por ejemplo, N490D) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 493 (por ejemplo, W493X) <sup>8</sup>
60	Posición del aminoácido 496 (por ejemplo, D496V) <sup>68</sup>
	Posición del aminoácido 498 (por ejemplo, I498T) <sup>2,7</sup>
65	Posición del aminoácido 499 (por ejemplo, G499E) <sup>73</sup>

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 501 (por ejemplo, V501G) <sup>68</sup>
	Posición del aminoácido 504 (por ejemplo, E504K) <sup>78</sup>
	Posición del aminoácido 510 (por ejemplo, T510T) <sup>7</sup>
10	Posición del aminoácido 512 (por ejemplo, I512T) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 515 (por ejemplo, N515T <sup>5,7</sup> /N515D <sup>64</sup> )
	Posición del aminoácido 516 (por ejemplo, I516M) <sup>17</sup>
15	Posición del aminoácido 517 (por ejemplo, R517H) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 520 (por ejemplo, R520X) <sup>5</sup>
	Posición del aminoácido 523 (por ejemplo, A523G) <sup>13</sup>
20	Posición del aminoácido 528 (por ejemplo, I528Sfs*21 <sup>5</sup> , I528X <sup>8</sup> , I528T <sup>73</sup> )
	Posición del aminoácido 535 (por ejemplo, A535A <sup>7</sup> /A535X <sup>89</sup> )
25	Posición del aminoácido 540 (por ejemplo, F540L) <sup>68</sup>
	Posición del aminoácido 541 (por ejemplo, I541L <sup>5,7</sup> /I541T <sup>5,17</sup> )
	Posición del aminoácido 546 (por ejemplo, Q546K <sup>69</sup> /Q546H <sup>73</sup> )
30	Posición del aminoácido 548 (por ejemplo, F548Y) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 549 (por ejemplo, D549V) <sup>9</sup>
35	Posición del aminoácido 554 (por ejemplo, E554K) <sup>21</sup>
	Posición del aminoácido 556 (por ejemplo, G556R) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 558 (por ejemplo, Q558H) <sup>23</sup>
40	Posición del aminoácido 559 (por ejemplo, M559T) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 562 (por ejemplo, G562D <sup>5,7</sup> /G562S <sup>73</sup> )
	Posición del aminoácido 570 (por ejemplo, A570T <sup>2,5,7</sup> , A570V <sup>26</sup> )
45	Posición del aminoácido 575 (por ejemplo, R575X <sup>2,5</sup> /R575Q <sup>21</sup> )
	Posición del aminoácido 580 (por ejemplo, L580P) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 586 (por ejemplo, T586I) <sup>7</sup>
50	Posición del aminoácido 587 (por ejemplo, S587X) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 588 (por ejemplo, A588V <sup>5,7</sup> /A588P <sup>73</sup> )
	Posición del aminoácido 591 (por ejemplo, N591S) <sup>7,7</sup>
55	Posición del aminoácido 593 (por ejemplo, S593R) <sup>2,7</sup>
	Posición del aminoácido 597 (por ejemplo, V597V <sup>9</sup> /V597L <sup>13</sup> )
60	Posición del aminoácido 603 (por ejemplo, K603K) <sup>65</sup>
	Posición del aminoácido 609 (por ejemplo, H609Hfs*46) <sup>26</sup>
65	Posición del aminoácido 610 (por ejemplo, I610Gfs*45 <sup>9</sup> , I610T <sup>57</sup> ) <sup>8</sup>

ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 615 (por ejemplo, H615R) <sup>26</sup>
	Posición del aminoácido 616 (por ejemplo, R616G <sup>28</sup> /R616H <sup>73</sup> )
	Posición del aminoácido 619 (por ejemplo, T619A) <sup>28</sup>
10	Posición del aminoácido 623 (por ejemplo, A623A) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 625 (por ejemplo, T625Nfs*5) <sup>26</sup>
	Posición del aminoácido 627 (por ejemplo, I627T) <sup>7</sup>
15	Posición del aminoácido 628 (por ejemplo, G628Wfs*3) <sup>70</sup>
	Posición del aminoácido 636 (por ejemplo, E636G) <sup>2</sup>
	Posición del aminoácido 648 (por ejemplo, G648Vfs*6 <sup>5</sup> , G648V <sup>80</sup> )
20	Posición del aminoácido 655 (por ejemplo, T655I) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 669 (por ejemplo, I669V) <sup>26</sup>
	Posición del aminoácido 676 (por ejemplo, D676Y) <sup>11</sup>
25	Posición del aminoácido 677 (por ejemplo, M677V) <sup>7,13</sup>
	Posición del aminoácido 679 (por ejemplo, A679V) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 685 (por ejemplo, G685W) <sup>80</sup>
30	Posición del aminoácido 696 (por ejemplo, R696W <sup>27</sup> /R696Q <sup>58</sup> )
	Posición del aminoácido 698 (por ejemplo, R698H <sup>7,8</sup> , R698K <sup>81</sup> , R698C <sup>88</sup> )
35	Posición del aminoácido 699 (por ejemplo, S699P) <sup>8</sup>
	Posición del aminoácido 701 (por ejemplo, S701P) <sup>88</sup>
40	Posición del aminoácido 702 (por ejemplo, Q702X) <sup>88</sup>
	Posición del aminoácido 709 (por ejemplo, E709K) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 710 (por ejemplo, P710P) <sup>7</sup>
45	Posición del aminoácido 712 (por ejemplo, L712L) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 721 (por ejemplo, Y721C) <sup>88</sup>
	Posición del aminoácido 729 (por ejemplo, D724N) <sup>28</sup>
50	Posición del aminoácido 731 (por ejemplo, P731S) <sup>23</sup>
	Posición del aminoácido 740 (por ejemplo, P740Qfs*6) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 758 (por ejemplo, G758R) <sup>5</sup>
55	Posición del aminoácido 766 (por ejemplo, G766R) <sup>5,24</sup>
	Posición del aminoácido 772 (por ejemplo, Y772X) <sup>5</sup>
	Posición del aminoácido 804 (por ejemplo, A804A) <sup>7</sup>
60	Posición del aminoácido 806 (por ejemplo, G806D <sup>44</sup> /G806G <sup>55</sup> )
	Posición del aminoácido 809 (por ejemplo, S809F) <sup>81</sup>
65	

ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 817 (por ejemplo, G817G) <sup>88</sup>
	Posición del aminoácido 818 (por ejemplo, Y818F) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 824 (por ejemplo, G824E) <sup>42</sup>
10	Posición del aminoácido 825 (por ejemplo, G825G) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 830 (por ejemplo, R830Gfs*28) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 832 (por ejemplo, R832C <sup>7,26</sup> /R832H <sup>41</sup> )
15	Posición del aminoácido 842 (por ejemplo, D842G) <sup>2</sup>
	Posición del aminoácido 848 (por ejemplo, D848N) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 855 (por ejemplo, G855R) <sup>11</sup>
20	Posición del aminoácido 859 (por ejemplo, T859R) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 865 (por ejemplo, A865V) <sup>27</sup>
25	Posición del aminoácido 866 (por ejemplo, S866A) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 868 (por ejemplo, V868D) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 869 (por ejemplo, Q869P) <sup>73</sup>
30	Posición del aminoácido 875 (por ejemplo, Q875X) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 877 (por ejemplo, G877R) <sup>58</sup>
	Posición del aminoácido 879 (por ejemplo, I879R) <sup>58</sup>
35	Posición del aminoácido 893 (por ejemplo, A893V) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 901 (por ejemplo, S901R <sup>17</sup> /S901I <sup>73</sup> )
	Posición del aminoácido 903 (por ejemplo, V903G) <sup>57</sup>
40	Posición del aminoácido Δ 919 <sup>12</sup>
	Posición del aminoácido 923 (por ejemplo, T923P) <sup>2,7</sup>
	Posición del aminoácido 926 (por ejemplo, A926P) <sup>2,7</sup>
45	Posición del aminoácido 928 (por ejemplo, R928X <sup>15</sup> /R928Q <sup>40</sup> )
	Posición del aminoácido 930 (por ejemplo, K930X <sup>5</sup> , K930Efs*79 <sup>5,10</sup> , K930Efs*49 <sup>26</sup> )
50	Posición del aminoácido 931 (por ejemplo, Q931P) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 945 (por ejemplo, S945N) <sup>57</sup>
55	Posición del aminoácido 948 (por ejemplo, R948C) <sup>5,7,26</sup>
	Posición del aminoácido 958 (por ejemplo, R958Q) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 969 (por ejemplo, K969K) <sup>58</sup>
60	Posiciones del aminoácido Δ 969-972 <sup>5</sup>
	Posición del aminoácido 973 (por ejemplo, T973I) <sup>57</sup>
65	Posición del aminoácido 976 (por ejemplo, Q976R <sup>58</sup> /Q976X <sup>58</sup> )

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 979 (por ejemplo, N979D) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 981 (por ejemplo, Y981Y) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 982 (por ejemplo, G982R) <sup>2,5,7</sup>
10	Posiciones del aminoácido 444 y 982 (por ejemplo, V444A+G982R) <sup>38</sup>
	Posición del aminoácido 995 (por ejemplo, A995A) <sup>28</sup>
15	Posición del aminoácido 1001 (por ejemplo, R1001R) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 1003 (por ejemplo, G1003R) <sup>24</sup>
	Posición del aminoácido 1004 (por ejemplo, G1004D) <sup>2,7</sup>
20	Posición del aminoácido 1027 (por ejemplo, S1027R) <sup>26</sup>
	Posición del aminoácido 1028 (por ejemplo, A1028A <sup>7,10,88</sup> , A1028E <sup>88</sup> )
	Posición del aminoácido 1029 (por ejemplo, T1029K) <sup>5</sup>
25	Posición del aminoácido 1032 (por ejemplo, G1032R) <sup>12</sup>
	Posición del aminoácido 1041 (por ejemplo, Y1041X) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 1044 (por ejemplo, A1044P) <sup>68</sup>
30	Posición del aminoácido 1050 (por ejemplo, R1050C) <sup>2,7,57</sup>
	Posición del aminoácido 1053 (por ejemplo, Q1053X) <sup>67</sup>
35	Posición del aminoácido 1055 (por ejemplo, L1055P) <sup>35</sup>
	Posición del aminoácido 1057 (por ejemplo, R1057X <sup>4</sup> /R1057Q <sup>58</sup> )
40	Posición del aminoácido 1058 (por ejemplo, Q1058Hfs*38 <sup>9</sup> , Q1058fs*38 <sup>17</sup> , Q1058X <sup>73</sup> )
	Posición del aminoácido 1061 (por ejemplo, I1061Vfs*34) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 1083 (por ejemplo, C1083Y) <sup>47</sup>
45	Posición del aminoácido 1086 (por ejemplo, T1086T) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 1090 (por ejemplo, R1090X) <sup>2,5</sup>
	Posición del aminoácido 1099 (por ejemplo, L1099Lfs*38) <sup>26</sup>
50	Posición del aminoácido 1100 (por ejemplo, S1100Qfs*38) <sup>13</sup>
	Posición del aminoácido 1110 (por ejemplo, A1110E) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 1112 (por ejemplo, V1112F) <sup>70</sup>
55	Posición del aminoácido 1116 (por ejemplo, G1116R <sup>7</sup> , G1116F <sup>9,17</sup> , G1116E <sup>36</sup> )
	Posición del aminoácido 1120 (por ejemplo, S1120N) <sup>68</sup>
60	Posición del aminoácido 1128 (por ejemplo, R1128H <sup>2,7</sup> , R1128C <sup>5,7,13</sup> )
	Posición del aminoácido 1131 (por ejemplo, D1131V) <sup>27</sup>
65	Posición del aminoácido 1144 (por ejemplo, S1144R) <sup>7</sup>

(continuación)

5	Posición del aminoácido 1147 (por ejemplo, V1147X) <sup>5</sup>
	Posición del aminoácido 1153 (por ejemplo, R1153C <sup>2,5,7</sup> , R1153H <sup>6</sup> )
	Posición del aminoácido 1154 (por ejemplo, S1154P) <sup>5,7</sup>
10	Posición del aminoácido 1162 (por ejemplo, E1162X) <sup>39</sup>
	Posición del aminoácido Δ 1165 <sup>68</sup>
	Posición del aminoácido 1164 (por ejemplo, V1164Gfs*7)
15	Posición del aminoácido 1173 (por ejemplo, N1173D) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 1175 (por ejemplo, K1175T) <sup>68</sup>
	Posición del aminoácido 1186 (por ejemplo, E1186K) <sup>7</sup>
20	Posición del aminoácido 1192 (por ejemplo, A1192Efs*50) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 1196 (por ejemplo, Q1196X) <sup>68</sup>
	Posición del aminoácido 1197 (por ejemplo, L1197G) <sup>7</sup>
25	Posición del aminoácido 1198 (por ejemplo, H1198R) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 1204 (por ejemplo, L1204P) <sup>68</sup>
30	Posición del aminoácido 1208 (por ejemplo Y1208C) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 1210 (por ejemplo, T1210P <sup>5,7</sup> /T1210F <sup>57</sup> )
	Posición del aminoácido 1211 (por ejemplo, N1211D) <sup>7</sup>
35	Posición del aminoácido 1212 (por ejemplo, V1212F) <sup>36</sup>
	Posición del aminoácido 1215 (por ejemplo, Q1215X) <sup>5</sup>
	Posición del aminoácido 1221 (por ejemplo, R1221K) <sup>63</sup>
40	Posición del aminoácido 1223 (por ejemplo, E1223D) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 1226 (por ejemplo, R1226P) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 1228 (por ejemplo, A1228V) <sup>7</sup>
45	Posición del aminoácido 1231 (por ejemplo, R1231W <sup>5,7</sup> /R1231Q <sup>5,7</sup> )
	Posición del aminoácido 1232 (por ejemplo, A1232D) <sup>17</sup>
50	Posición del aminoácido 1235 (por ejemplo, R1235X) <sup>5,12</sup>
	Posición del aminoácido 1242 (por ejemplo, L1242I) <sup>5,7</sup>
	Posición del aminoácido 1243 (por ejemplo, D1243G) <sup>67</sup>
55	Posición del aminoácido 1249 (por ejemplo, L1249X) <sup>73</sup>
	Posición del aminoácido 1256 (por ejemplo, T1256fs*1296) <sup>63</sup>
	Posición del aminoácido 1268 (por ejemplo, R1268Q) <sup>5,7</sup>
60	Posición del aminoácido 1276 (por ejemplo, R1276H) <sup>30</sup>
	Posición del aminoácido 1283 (por ejemplo, A1283A <sup>26</sup> /A1283V <sup>68</sup> )
65	Posición del aminoácido 1292 (por ejemplo, G1292V) <sup>73</sup>

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 1298 (por ejemplo, G1298R) <sup>65</sup>
	Posición del aminoácido 1302 (por ejemplo, E1302X) <sup>65</sup>
	Posición del aminoácido 1311 (por ejemplo, Y1311X) <sup>67</sup>
10	Posición del aminoácido 1316 (por ejemplo, T1316Lfs*64) <sup>15</sup>
	Posición del aminoácido 1321 (por ejemplo, S1321N) <sup>67</sup>
	Intrón 4 ((+3)A>C) <sup>1</sup>
15	IVS4-74A>T <sup>89</sup>
	Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 5 c.3901G>A <sup>5</sup>
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 7 c.6111G>A <sup>5</sup>
20	Mutación del sitio de empalme IVS7+1G>A <sup>14</sup>
	IVS7+5G>A <sup>40</sup>
	IVS8+1G>C <sup>78</sup>
25	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 9 c.9081delG <sup>5</sup>
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 9 c.9081G>T <sup>5</sup>
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 9 c.9081G>A <sup>5</sup>
30	Mutación del sitio de empalme IVS9+1G>T <sup>14</sup>
	Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 13 c.143513_1435-8del <sup>6</sup>
35	Mutación del sitio de empalme IVS13del-13 <sup>6</sup> -8 <sup>14</sup>
	Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 16 c.20128T>G <sup>5</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS16-8T>G <sup>14</sup>
40	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 18 c.21781G>T <sup>5</sup>
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 18 c.21781G>A <sup>5</sup>
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 18 c.21781G>C <sup>5</sup>
45	Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 18 c.21792A>G <sup>5</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS18+1G>A <sup>14</sup>
	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 19 c.2343+1G>T <sup>5</sup>
50	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 19 c.2343+2T>C <sup>5</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS19+2T>C <sup>14</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS19+1G>A <sup>22</sup>
55	Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 21 c.26112A>T <sup>5</sup>
	IVS22+3A>G <sup>89</sup>
60	IVS 23-8 G-A <sup>36</sup>
	IVS24+5G>A <sup>51</sup>
65	Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 24 c.32131delG <sup>5</sup>

ES 3 011 850 T3

(continuación)

	IVS35-8C>G <sup>88</sup>
5	Mutación putativa de empalme 1198-1G>C <sup>17</sup>
	Mutación putativa de empalme 1810-3C>G <sup>17</sup>
10	Mutación putativa de empalme 2178+1G>A <sup>17</sup>
	Mutación putativa de empalme 2344-1G>T <sup>17</sup>
	Mutación putativa de empalme c.2611-2A>T <sup>39</sup>
15	Mutación putativa de empalme 3213+1_3213+2delinsA <sup>17</sup>
	c.-24C>A <sup>44,78</sup>
	c.76_13 G>T <sup>9</sup>
20	c.77-19T>A <sup>32</sup>
	c.90_93delGAAA <sup>18</sup>
	c.124G>A <sup>69</sup>
25	c.150 +3 A>C <sup>10</sup>
	174C>T <sup>54</sup>
	c.245T>C <sup>67</sup>
30	c.249_250insT <sup>16</sup>
	270T>C <sup>54</sup>
	402C>T <sup>54</sup>
35	585G>C <sup>54</sup>
	c.611+1G>A <sup>20</sup>
40	c.611+4A>G <sup>36</sup>
	c.612-15_-6del10bp <sup>55</sup>
	c.625A>C <sup>31</sup>
45	c.627+5G>T <sup>31</sup>
	c.625A>C/ c.627+5G>T <sup>31</sup>
	696G>T <sup>54</sup>
50	c. 784+1G>C <sup>69</sup>
	807T>C <sup>54</sup>
	c.886C>T <sup>31</sup>
55	c.890A>G <sup>58</sup>
	c.908+1G>A <sup>57</sup>
60	c.908+5G>A <sup>55</sup>
	c.908delG <sup>59</sup>
	c.909-15A>G <sup>66</sup>
65	

(continuación)

5	957A>G <sup>54</sup>
	c.1084-2A>G <sup>57</sup>
	1145 1bp deleción <sup>63</sup>
10	1281C>T <sup>54,57</sup>
	c.1309-165C > T <sup>58</sup>
	c.1434 + 174G > A <sup>59</sup>
15	c.1434 + 70C > T <sup>59</sup>
	c.1530C>A <sup>57</sup>
	c.1587-1589delCTT <sup>31</sup>
20	c.1621A>C <sup>33,59</sup>
	c.1638+32T>C <sup>66</sup>
	c.1638+80C>T <sup>66</sup>
25	1671C>T <sup>54</sup>
	1791G>T <sup>54</sup>
	1939delA <sup>14</sup>
30	c.2075+3A>G <sup>53</sup>
	c.2081T>A <sup>31</sup>
35	c.2093G>A <sup>65</sup>
	2098delA <sup>18</sup>
	c.2138-8T>G <sup>67</sup>
40	2142A>G <sup>54</sup>
	c.2178+1G>T <sup>38,39</sup>
	c.2179-17C>A <sup>65</sup>
45	c.2344-157T>G <sup>66</sup>
	c.2344-17T>C <sup>66</sup>
	c.2417G>A <sup>78</sup>
50	c.2541delG <sup>67</sup>
	c.2620C>T <sup>32,33</sup>
	c.2815-8A>G <sup>55</sup>
55	c.3003A>G <sup>37</sup>
	c.3054A>G <sup>48,54</sup>
60	c.3213 +4 A>G <sup>5,37</sup>
	c.3213 +5 G>A <sup>9</sup>
65	c.3268C>T <sup>75</sup>

(continuación)

5	3285A>G <sup>54</sup>
	c.3382C>T <sup>75</sup>
	3435A>G <sup>64</sup>
10	c.3491delT <sup>72</sup>
	c.3589C>T <sup>67</sup>
	c.3765(+1 +5)del5 <sup>62</sup>
15	c.3766-34A>G <sup>66</sup>
	c.3767-3768insC <sup>6</sup>
	c.3770delA <sup>67</sup>
20	c.3826C>T <sup>72</sup>
	c.3846C>T <sup>67</sup>
	c.3929delG <sup>67</sup>
25	c.*236A>G <sup>65</sup>
	1145delC <sup>9</sup>
30	Ex13_ Ex17del <sup>62</sup>

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

35	Posición del aminoácido 1 (por ejemplo, M1V) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 4 (por ejemplo, S4X) <sup>64</sup>
	Posición del aminoácido 19 (por ejemplo, G19R) <sup>56</sup>
40	Posición del aminoácido 25 (por ejemplo, S25X) <sup>14</sup>
	Posición del aminoácido 26 (por ejemplo, Y26Ifs*7) <sup>58</sup>
	Posición del aminoácido 50 (por ejemplo, L50S) <sup>7,57</sup>
45	Posición del aminoácido 52 (por ejemplo, R52W) <sup>26</sup>
	Posición del aminoácido 58 (por ejemplo, D58N) <sup>62</sup>
	Posición del aminoácido 62 (por ejemplo, M62K) <sup>6</sup>
50	Posición del aminoácido 66 (por ejemplo, S66N) <sup>17</sup>
	Posición del aminoácido 68 (por ejemplo, C68Y) <sup>41</sup>
	Posición del aminoácido 93 (por ejemplo, Y93S) <sup>13</sup>
55	Posición del aminoácido 101 (por ejemplo, Q101Dfs*8) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 107 (por ejemplo, C107R) <sup>36</sup>
60	Posición del aminoácido 112 (por ejemplo, I112T) <sup>6</sup>
	Posición del aminoácido 114 (por ejemplo, W114R) <sup>2,9</sup>
65	Posición del aminoácido 129 (por ejemplo, C129Y) <sup>25</sup>

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 135 (por ejemplo, E135K <sup>13</sup> /E135L <sup>17</sup> )
	Posición del aminoácido 167 (por ejemplo, A167V <sup>7</sup> /A167T <sup>9,17</sup> )
	Posición del aminoácido 182 (por ejemplo, I182K) <sup>9</sup>
10	Posición del aminoácido 183 (por ejemplo, M183V <sup>9</sup> /M183T <sup>9</sup> )
	Posición del aminoácido 225 (por ejemplo, T225P) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 226 (por ejemplo, S226L) <sup>9</sup>
15	Posición del aminoácido 232 (por ejemplo, L232Cfs*9) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 233 (por ejemplo, L233S) <sup>85</sup>
	Posición del aminoácido 238 (por ejemplo, G238V) <sup>2,7</sup>
20	Posición del aminoácido 242 (por ejemplo, T242I) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 245 (por ejemplo, I245Tfs*26) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 256 (por ejemplo, A256G) <sup>9</sup>
25	Posición del aminoácido 260 (por ejemplo, G260D) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 284 (por ejemplo, V284L) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 297 (por ejemplo, E297G) <sup>2,7</sup>
30	Posición del aminoácido 303 (por ejemplo, R303K <sup>9</sup> , R303M <sup>83</sup> , R303fsX321 <sup>83</sup> )
35	Posición del aminoácido 304 (por ejemplo, Y304X) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 312 (por ejemplo, Q312H) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 313 (por ejemplo, R313S) <sup>7</sup>
40	Posición del aminoácido 314 (por ejemplo, W314X) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 318 (por ejemplo, K318Rfs*26) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 327 (por ejemplo, G327E) <sup>7</sup>
45	Posición del aminoácido 330 (por ejemplo, V330X) <sup>24</sup>
	Posición del aminoácido 336 (por ejemplo, C336S) <sup>2,7</sup>
	Posición del aminoácido 337 (por ejemplo, Y337H) <sup>21</sup>
50	Posición del aminoácido 342 (por ejemplo, W342G) <sup>53</sup>
	Posición del aminoácido 354 (por ejemplo, R354X) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 361 (por ejemplo, Q361X) <sup>57</sup>
55	Posición del aminoácido 366 (por ejemplo, V366D) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 386 (por ejemplo, G386X) <sup>34</sup>
60	Posiciones del aminoácido Δ 383-389 <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 387 (por ejemplo, R387H) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 390 (por ejemplo, A390P) <sup>7</sup>

65

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 410 (por ejemplo, G410D) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 413 (por ejemplo, L413W) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 415 (por ejemplo, R415X) <sup>42</sup>
10	Posición del aminoácido 420 (por ejemplo, I420T) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 454 (por ejemplo, V454X) <sup>49</sup>
	Posición del aminoácido 455 (por ejemplo, G455E) <sup>9</sup>
15	Posición del aminoácido 461 (por ejemplo, K461E) <sup>2,7</sup>
	Posición del aminoácido 463 (por ejemplo, T463I) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 466 (por ejemplo, Q466K) <sup>7</sup>
20	Posición del aminoácido 470 (por ejemplo, R470Q <sup>7</sup> /R470X <sup>9</sup> )
	Posición del aminoácido 472 (por ejemplo, Y472X <sup>14</sup> /Y472C <sup>27</sup> )
	Posición del aminoácido 475 (por ejemplo, C475X) <sup>29</sup>
25	Posición del aminoácido 481 (por ejemplo, V481E) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 482 (por ejemplo, D482G) <sup>2,7</sup>
	Posición del aminoácido 484 (por ejemplo, H484Rfs*5) <sup>9</sup>
30	Posición del aminoácido 487 (por ejemplo, R487H <sup>2</sup> /R487P <sup>34</sup> )
	Posición del aminoácido 490 (por ejemplo, N490D) <sup>7</sup>
35	Posición del aminoácido 493 (por ejemplo, W493X) <sup>8</sup>
	Posición del aminoácido 498 (por ejemplo, I498T) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 501 (por ejemplo, V501G) <sup>68</sup>
40	Posición del aminoácido 512 (por ejemplo, I512T) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 515 (por ejemplo, N515T <sup>7</sup> /N515D <sup>64</sup> )
	Posición del aminoácido 516 (por ejemplo, I516M) <sup>17</sup>
45	Posición del aminoácido 517 (por ejemplo, R517H) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 520 (por ejemplo, R520X) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 523 (por ejemplo, A523G) <sup>13</sup>
50	Posición del aminoácido 528 (por ejemplo, I528X) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 540 (por ejemplo, F540L) <sup>46</sup>
55	Posición del aminoácido 541 (por ejemplo, I541L <sup>7</sup> /I541T <sup>17</sup> )
	Posición del aminoácido 548 (por ejemplo, F548Y) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 549 (por ejemplo, D549V) <sup>9</sup>
60	Posición del aminoácido 554 (por ejemplo, E554K) <sup>21</sup>
	Posición del aminoácido 559 (por ejemplo, M559T) <sup>27</sup>
65	Posición del aminoácido 562 (por ejemplo, G562D) <sup>7</sup>

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 570 (por ejemplo, A570T <sup>7</sup> /A570V <sup>26</sup> )
	Posición del aminoácido 575 (por ejemplo, R575X <sup>2</sup> /R575Q <sup>21</sup> )
	Posición del aminoácido 588 (por ejemplo, A588V) <sup>7</sup>
10	Posición del aminoácido 591 (por ejemplo, N591S) <sup>8,17</sup>
	Posición del aminoácido 593 (por ejemplo, S593R) <sup>2,7</sup>
	Posición del aminoácido 597 (por ejemplo, V597V <sup>9</sup> /V597L <sup>13</sup> )
15	Posiciones del aminoácido 591 y 597 (por ejemplo, N591S+V597V) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 603 (por ejemplo, K603K) <sup>65</sup>
	Posición del aminoácido 609 (por ejemplo, H609Hfs*46) <sup>26</sup>
20	Posición del aminoácido 610 (por ejemplo, I610Gfs*45) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 615 (por ejemplo, H615R) <sup>26</sup>
	Posición del aminoácido 625 (por ejemplo, T625Nfs*5) <sup>26</sup>
25	Posición del aminoácido 627 (por ejemplo, I627T) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 636 (por ejemplo, E636G) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 669 (por ejemplo, I669V) <sup>26</sup>
30	Posición del aminoácido 698 (por ejemplo, R698H) <sup>9</sup>
	Posiciones del aminoácido 112 y 698 (por ejemplo, I112T+R698H) <sup>9</sup>
35	Posición del aminoácido 699 (por ejemplo, S699P) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 766 (por ejemplo, G766R) <sup>24</sup>
	Posición del aminoácido 806 (por ejemplo, G806G) <sup>26</sup>
40	Posición del aminoácido 824 (por ejemplo, G824E) <sup>42</sup>
	Posición del aminoácido 832 (por ejemplo, R832C <sup>7,26</sup> /R832H <sup>41</sup> )
	Posición del aminoácido 842 (por ejemplo, D842G) <sup>7</sup>
45	Posición del aminoácido 859 (por ejemplo, T859R) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 865 (por ejemplo, A865V) <sup>45</sup>
	Posición del aminoácido 877 (por ejemplo, G877R) <sup>56</sup>
50	Posición del aminoácido 893 (por ejemplo, A893V) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 901 (por ejemplo, S901R) <sup>17</sup>
	Posición del aminoácido 903 (por ejemplo, V903G) <sup>67</sup>
55	Posición del aminoácido Δ 919 <sup>12</sup>
	Posición del aminoácido 928 (por ejemplo, R928X) <sup>15,21</sup>
60	Posición del aminoácido 930 (por ejemplo, K930Efs*79 <sup>10</sup> , K930Efs*49 <sup>26</sup> )
	Posición del aminoácido 948 (por ejemplo, R948C) <sup>7,26</sup>
65	

# ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 979 (por ejemplo, N979D) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 982 (por ejemplo, G982R) <sup>2,7</sup>
	Posiciones del aminoácido 444 y 982 (por ejemplo, V444A+G982R) <sup>38</sup>
10	Posición del aminoácido 1001 (por ejemplo, R1001R) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 1003 (por ejemplo, G1003R) <sup>24</sup>
	Posición del aminoácido 1004 (por ejemplo, G1004D) <sup>2,7</sup>
15	Posición del aminoácido 1027 (por ejemplo, S1027R) <sup>28</sup>
	Posición del aminoácido 1028 (por ejemplo, A1028A) <sup>19</sup>
	Posición del aminoácido 1032 (por ejemplo, G1032R) <sup>12</sup>
20	Posición del aminoácido 1041 (por ejemplo, Y1041X) <sup>9</sup>
	Posición del aminoácido 1050 (por ejemplo, R1050C) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 1053 (por ejemplo, Q1053X) <sup>57</sup>
25	Posición del aminoácido 1055 (por ejemplo, L1055P) <sup>38</sup>
	Posición del aminoácido 1057 (por ejemplo, R1057X) <sup>2</sup>
30	Posición del aminoácido 1058 (por ejemplo, Q1058Hfs*38 <sup>8</sup> , Q1058fs*38 <sup>17</sup> )
	Posición del aminoácido 1061 (por ejemplo, I1061Vfs*34) <sup>9</sup>
35	Posición del aminoácido 1083 (por ejemplo, C1083Y) <sup>47</sup>
	Posición del aminoácido 1090 (por ejemplo, R1090X) <sup>2</sup>
	Posición del aminoácido 1099 (por ejemplo, L1099Lfs*38) <sup>28</sup>
40	Posición del aminoácido 1100 (por ejemplo, S1100Qfs*38) <sup>13</sup>
	Posición del aminoácido 1110 (por ejemplo, A1110E) <sup>7</sup>
45	Posición del aminoácido 1116 (por ejemplo, G1116R <sup>7</sup> , G1116F <sup>9,17</sup> , G1116E <sup>36</sup> )
	Posición del aminoácido 1128 (por ejemplo, R1128C) <sup>7,13</sup>
	Posición del aminoácido 1131 (por ejemplo, D1131V) <sup>27</sup>
50	Posición del aminoácido 1144 (por ejemplo, S1144R) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 1153 (por ejemplo, R1153C <sup>2,7</sup> /R1153H <sup>7,28</sup> )
	Posición del aminoácido 1154 (por ejemplo, S1154P) <sup>7</sup>
55	Posición del aminoácido 1173 (por ejemplo, N1173D) <sup>57</sup>
	Posición del aminoácido 1192 (por ejemplo, A1192Efs*50) <sup>8</sup>
60	Posición del aminoácido 1198 (por ejemplo, H1198R) <sup>27</sup>
	Posición del aminoácido 1210 (por ejemplo, T1210P <sup>7</sup> /T1210F <sup>37</sup> )
65	Posición del aminoácido 1211 (por ejemplo, N1211D) <sup>7</sup>

ES 3 011 850 T3

(continuación)

5	Posición del aminoácido 1212 (por ejemplo, V1212F) <sup>36</sup>
	Posición del aminoácido 1231 (por ejemplo, R1231W <sup>7</sup> /R1223Q <sup>7</sup> )
	Posición del aminoácido 1232 (por ejemplo, A1232D) <sup>17</sup>
10	Posición del aminoácido 1235 (por ejemplo, R1235X) <sup>12</sup>
	Posición del aminoácido 1242 (por ejemplo, L1242I) <sup>7</sup>
	Posición del aminoácido 1256 (por ejemplo, T1256fs*1296) <sup>63</sup>
15	Posición del aminoácido 1268 (por ejemplo, R1268Q) <sup>2,7</sup>
	Posición del aminoácido 1302 (por ejemplo E1302X) <sup>67</sup>
	Posición del aminoácido 1311 (por ejemplo, Y1311X) <sup>67</sup>
20	Posición del aminoácido 1316 (por ejemplo, T1316Lfs*64) <sup>15</sup>
	Intrón 4 ((+3)A>C) <sup>1</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS7+1G>A <sup>14</sup>
25	IVS8+1G>C <sup>76</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS9+1G>T <sup>14</sup>
30	Mutación del sitio de empalme IVS13del-13 <sup>-8</sup> <sup>14</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS16-8T>G <sup>14</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS18+1G>A <sup>14</sup>
35	Mutación del sitio de empalme IVS19+2T>C <sup>14</sup>
	IVS 23-8 G-A <sup>36</sup>
	IVS24+5G>A <sup>31</sup>
40	Mutación putativa de empalme 1198-1G>C <sup>17</sup>
	Mutación putativa de empalme 1810-3C>G <sup>17</sup>
	Mutación putativa de empalme 2178+1G>A <sup>17</sup>
45	Mutación putativa de empalme 2344-1G>T <sup>17</sup>
	Mutación putativa de empalme 3213+1_3213+2delinsA <sup>17</sup>
50	c.-24C>A <sup>78</sup>
	c.76 13 G>T <sup>8</sup>
	c.77-19T>A <sup>52</sup>
55	c.90_93delGAAA <sup>18</sup>
	c.124G>A <sup>69</sup>
	c.150 +3 A>C <sup>10</sup>
60	c.249_250insT <sup>18</sup>
	c.611+1G>A <sup>84</sup>
65	c.611+4A>G <sup>36</sup>

(continuación)

5	c.612-15_-6del10bp <sup>55</sup>
	c.625A>C <sup>31</sup>
	c.627+5G>T <sup>31</sup>
10	c.625A>C/ c.627+5G>T <sup>31</sup>
	c.886C>T <sup>31</sup>
	c.890A>G <sup>59</sup>
15	c.908+1G>A <sup>57</sup>
	c.908+5G>A <sup>55</sup>
	c.908delG <sup>59</sup>
20	1273 1bp deleción <sup>61</sup>
	c.1084-2A>G <sup>57</sup>
	c.1445A>G <sup>59</sup>
25	c.1587-1589delCTT <sup>31</sup>
	c.1621A>C <sup>59</sup>
30	1939delA <sup>14</sup>
	c.2081T>A <sup>31</sup>
	2098delA <sup>16</sup>
35	c.2343+1 G>T <sup>60</sup>
	c.2178+1G>T <sup>36</sup>
	c.2417G>A <sup>78</sup>
40	c.2620C>T <sup>32</sup>
	c.2815-8A>G <sup>55</sup>
	c.3003A>G <sup>37</sup>
45	c.3213 +4 A>G <sup>6,37</sup>
	c.3213 +5 G>A <sup>9</sup>
50	c.3268C>T <sup>75</sup>
	c.3382C>T <sup>75</sup>
	c.3765(+1 +5)del5 <sup>43</sup>
55	c.3767-3768insC <sup>3</sup>
	1145delC <sup>8</sup>
60	Ex13_ Ex17del <sup>62</sup>

<sup>A</sup> Una mutación para 'X' denota un codón de terminación temprana.

Referencias de las Tablas 3 y 4

[0080]

65

<sup>1</sup> Noe et al., J Hepatol. 2005, vol. 43, p. 3).

- 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, p. 10).
- 4 Gao et al., *Shandong Yiyao* 2012, vol. 52(10), p. 14-16.
- 5 5 Strautnieks et al., *Gastroenterology*. 2008, vol. 134, p. 4).
- 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, p. 2).
- 8 Chen et al., *J Pediatr*. 2008, vol. 153, p. 6).
- 9 Davit-Spraul et al., *Hepatology* 2010, vol. 51(5), p. 1645-1655.
- 10 10 Dröge et al., *Sci Rep*. 2016, vol. 6: 24827.
- 11 Lang et al., *Pharmacogenet Genomics*. 2007, vol. 17, p. 1).
- 12 Ellinger et al., *World J Gastroenterol*. 2017, vol. 23, p. 29).
- 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.
- 15 15 Ellis et al., *Hepatology*. 2018, vol. 67, p. 4).
- 16 Lam et al., *J Hepatol*. 2006, vol. 44, p. 1).
- 17 Varma et al., *Hepatology* 2015, vol. 62(1), p. 198-206.
- 18 Treepongkaruna et al., *World J Gastroenterol*. 2009, vol. 15, p. 34).
- 19 Zarenezhad et al., *Hepatitis Monthly: 2017*, vol. 17(2); e43500.
- 20 20 Hayashi et al., *Hepatol Res*. 2016, vol. 46, p. 2).
- 21 Guorui et al., *Linchuang Erke Zazhi* 2013, vol. 31(10), 905-909.
- 22 van Mil et al., *Gastroenterology*. 2004, vol. 127, p. 2).
- 23 Anzivino et al., *Dig Liver Dis*. 2013, vol. 45, p. 3).
- 24 Park et al., *World J Gastroenterol*. 2016, vol. 22, p. 20).
- 25 25 Imagawa et al., *J Hum Genet*. 2018, vol. 63, p. 5).
- 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, p. 9).
- 29 Masahata et al., *Transplant Proc*. 2016, vol. 48, p. 9).
- 30 30 Holz et al., *Hepatol Commun*. 2018, vol. 2, p. 2).
- 31 Li et al., *Hepatology International* 2017, vol. 11, N.º 1, Sup. Suplemento 1, pp. S180. Número de Resumen: OP284.
- 32 Francalanci et al., *Laboratory Investigation* 2011, vol. 91, Sup. SUPL. 1, pp. 360A. Número de Resumen: 1526.
- 33 Francalanci et al., *Digestive and Liver Disease* 2010, vol. 42, Sup. SUPL. 1, pp. S16. Número de Resumen: T.N.5.
- 35 35 Shah et al., *J Pediatr Genet*. 2017, vol. 6, p. 2).
- 36 Gao et al., *Hepatitis Monthly* 2017, vol. 17(10), e55087/1-e55087/6.
- 37 Evason et al., *Am J Surg Pathol*. 2011, vol. 35, p. 5).
- 38 Davit-Spraul et al., *Mol Genet Metab*. 2014, vol. 113, p. 3).
- 40 40 Maggiore et al., *J Hepatol*. 2010, vol. 53, p. 5).
- 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, p. 2).
- 41 Waisbourd-Zinman et al., *Ann Hepatol*. 2017, vol. 16, p. 3).
- 42 Griffin, et al., *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2016, vol. 2016. Número de Resumen: A200. Info. Reunión: 2016 Canadian Digestive Diseases Week, CDDW 2016. Montreal, QC, Estados Unidos. 26 feb 2016-29 feb 2016
- 45 45 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. [Epub antes de impresión]
- 46 Takahashi et al., *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2007, vol. 19, p. 11).
- 50 50 Shimizu et al., *Am J Transplant*. 2011, vol. 11, p. 2).
- 48 Krawczyk et al., *Ann Hepatol*. 2012, vol. 11, p. 5).
- 49 Sharma et al., *BMC Gastroenterol*. 2018, vol. 18(1), p. 107.
- 50 Sattler et al., *Journal of Hepatology* 2017, vol. 66, N.º 1, Suppl. S, pp. S177. Información de la reunión.: Congreso Internacional del Hígado / 52ª Reunión Anual de la Asociación Europea para el Estudio del Hígado. Amsterdam, PAÍSES BAJOS. Del 19 al 23 de abril de 2017. European Assoc Study Liver.
- 55 55 Jung et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007, vol. 44(4), p. 453-458.
- 52 Sciveres. *Enfermedades Digestivas y Hepáticas* 2010, vol. 42, Sup. SUPL. 5, pp. S329. Número de Resumen: CO18. Info. Reunión: XVII Congreso Nacional SIGENP. Pescara, Italia. 07 oct 2010-09 oct 2010
- 53 Sohn et al., *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2019, vol. 22, p. 2).
- 60 60 Ho et al., *Pharmacogenet Genomics*. 2010, vol. 20, p. 1).
- 55 Wang et al., *Hepatol Res*. 2018, vol. 48, p. 7).
- 56 Shaprio et al., *J Hum Genet*. 2010, vol. 55(5), p. 308-313.
- 57 Bounford. *Universidad de Birmingham. Dissertation Abstracts International*, (2016) Vol. 75, N.º 1C. N.º de pedido: AA110588329. ProQuest Dissertations & Theses.
- 65 65 Stolz et al., *Aliment Pharmacol Ther*. 2019, vol. 49(9), p. 1195-1204.
- 59 Jankowska et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014, vol. 58, p. 1).

- 60 Kim. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2016, vol. 62, Sup. SUPL. 1; pp 620. Número de Resumen: H-P-045. Info. Reunión: 49ª Reunión Anual de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica, ESPGHAN 2016. Atenas, Grecia. 25 de mayo de 2016-28 de mayo de 2016.
- 5 61 Pauli-Magnus et al., *Hepatology* 2003, vol. 38, n.º 4 Suppl. 1, pp. 518A. imprimir. Información de la reunión.: 54ª Reunión Anual de la Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas. Boston, MA, EE. UU. Del 24 al 28 de octubre de 2003. Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas.
- 62 Li et al., *Hepatology International* 2017, vol. 11, N.º 1, Sup. Suplemento 1, pp. S362. Número de Resumen: PP0347. Info. Reunión: 26ª Conferencia Anual de la Asociación de Asia y el Pacífico para el Estudio del Hígado, APASL 2017. Shanghai, China. 15 feb 2017-19 feb 2017
- 10 63 Rumbo et al., *Transplantation* 2018, vol. 102, n.º 7, Sup. Suplemento 1, pp. S848. Número de Resumen: P=752. Info. Reunión: 27th International Congress of The Transplantation Society, TTS 2018. Madrid, Spain. 30 jun 2018-05 jul 2018.
- 64 Lee et al., *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2017, vol. 20, p. 2).
- 15 65 Sherrif et al., *Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver* 2013, vol. 33, n.º 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, p. 9).
- 20 69 Harmanci et al., *Experimental and Clinical Transplantation* 2015, vol. 13, Sup. SUPL. 2; pp 76. Número de Resumen: P62. Info. Reunión: 1er Congreso de la Sociedad Turca Mundial de Trasplantes. Astana, Kazajstán. 20 de mayo de 2015-22 de mayo de 2015.
- 70 Herbst et al., *Mol Cell Probes.* 2015, vol. 29, p. 5).
- 71 Moghadamrad et al., *Hepatology.* 2013, vol. 57, p. 6).
- 25 72 Holz et al., *Zeitschrift fur Gastroenterologie* 2016, vol. 54, N.º 8. Número de Resumen: KV275. Info. 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. Hamburgo, Alemania. 21 sep 2016-24 sep 2016.
- 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.
- 30 75 Arnell et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010, vol. 51, p. 4).
- 76 Sharma et al., *Indian Journal of Gastroenterology* 2017, vol. 36, N.º 1, Sup. Suplemento 1, pp. A99. Número de Resumen: M-20. Info. Reunión: 58ª Conferencia Anual de la Sociedad India de Gastroenterología, ISGCON 2017. Bhubaneswar, India. 14 dic 2017-17 dic 2017.
- 35 77 Beauséjour et al., *Can J Gastroenterol.* 2011, vol. 25, p. 6).
- 78 Imagawa et al., *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2016, vol. 63, Sup. Suplemento 2, pp. S51. Número de Resumen: 166. Info. Reunión: World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition 2016. Montreal, QC, Canada. 05 oct 2016-08 oct 2016.
- 79 Peng et al., *Zhonghua er ke za zhi (Revista china de pediatría)* 2018, vol. 56, n.º 6, pp. 440-444.
- 40 80 Tibesar et al., *Case Rep Pediatr.* 2014, vol. 2014: 185923.
- 81 Ng et al., *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2018, vol. 66, Sup. Suplemento 2, pp. 860. Número de Resumen: H-P-127. Info. Reunión: 51ª Reunión Anual Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica, ESPGHAN 2018. Geneva, Switzerland. 09 de mayo de 2018-12 de mayo de 2018.
- 45 82 Wong et al., *Clin Chem.* 2008, vol. 54, p. 7).
- 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, N.º 4, Suppl. 2, pp. A452. Información de la reunión.: Reunión de la Semana de las Enfermedades Digestivas/108ª Reunión Anual de la Asociación Americana de Gastroenterología. Washington, DC, EE. UU. (19 de mayo de 24). Amer Gastroenterol Assoc; Amer Assoc Study
- 50 Liver Dis; Amer Soc Gastrointestinal Endoscopy; Soc Surg Alimentary Tract.
- 86 Jaquotot-Haerranz et al., *Rev Esp Enferm Dig.* 2013, vol. 105, p. 1).
- 87 Khosla et al., *American Journal of Gastroenterology* 2015, vol. 110, N.º Suppl. 1, pp. S397. Información de la reunión.: 80ª Reunión Científica Anual del Colegio Americano de Gastroenterología. Honolulu, HI, EE. UU. Del 16 al 21 de octubre de 2015.
- 55 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 U.S. Patente de EE. UU. N.º 9.295.677.
- 60 [0081] En algunas realizaciones, la mutación en ABCB11 se selecciona entre A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C y R1268Q.
- [0082] En el presente documento se describen métodos para tratar la PFIC (p. ej., PFIC-1 y PFIC-2) en un sujeto que incluyen realizar un ensayo en una muestra obtenida del sujeto para determinar si el sujeto tiene una mutación asociada con la PFIC (p. ej., una mutación ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o Myo5b), y administrar (p. ej., específica o selectivamente) una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente
- 65

5 aceptable del mismo, al sujeto que se ha determinado que tiene una mutación asociada con la PFIC. En algunas realizaciones, la mutación es una mutación ATP8B1 o ABCB11. Por ejemplo, una mutación como la proporcionada en cualquiera de las Tablas 1-4. En algunas realizaciones, la mutación en ATP8B1 se selecciona entre L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X y G1040R. En algunas realizaciones, la mutación en ABCB11 se selecciona entre A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C y R1268Q.

10 [0083] También se proporciona la modificación cristalina I de odevixibat para su uso en el tratamiento de PFIC (p. ej., PFIC-1 y PFIC-2) en un sujeto que la necesita, que comprende: (a) detectar una mutación asociada con PFIC (p. ej., una mutación ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o Myo5b) en el sujeto; y (b) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de la modificación cristalina I de odevixibat. En algunas realizaciones, el tratamiento de la PFIC puede 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 tenga una mutación asociada con la PFIC (por ejemplo, una mutación ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o Myo5b). En algunas realizaciones, la mutación es una mutación ATP8B1 o ABCB11. Por ejemplo, una mutación como la proporcionada en cualquiera de las Tablas 1-4. En algunas realizaciones, la mutación en ATP8B1 se selecciona entre L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X y G1040R. En algunas realizaciones, la mutación en ABCB11 se selecciona entre A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C y R1268Q.

20 [0084] En algunas realizaciones, 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 el arte, incluida la secuenciación de próxima generación (NGS). En algunas realizaciones, se determina que el sujeto tiene una mutación asociada con la PFIC utilizando una prueba o ensayo aprobado por una agencia reguladora, p. ej., la FDA, para identificar una mutación asociada con la PFIC en un sujeto o una muestra de biopsia del sujeto, o realizando cualquiera de los ejemplos no limitantes de ensayos descritos en el presente documento. Otros métodos de diagnóstico de la PFIC se describen en Gunaydin, M. et al., *Hepat Med.* 2018, vol. 10, p. 95-104).

30 [0085] En algunas realizaciones, el tratamiento de PFIC (por ejemplo, PFIC-1 o PFIC-2) disminuye el nivel de ácidos biliares séricos en el sujeto. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares séricos se determina mediante, por ejemplo, un ensayo enzimático ELISA o los ensayos para la medición de ácidos biliares totales descritos en Danese et al., *PLoS One.* 2017, vol. 12(6): e0179200. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares séricos puede disminuir, por ejemplo, del 10% al 40%, del 20% al 50%, del 30% al 60%, del 40% al 70%, del 50% al 80%, o en más del 90% del nivel de ácidos biliares séricos antes de la administración de la modificación cristalina I de odevixibat. En algunas realizaciones, el tratamiento de la PFIC incluye el tratamiento del prurito.

35 [0086] Así, en una realización, la invención se refiere a la modificación de cristales 1 de odevixibat descrita en el presente documento para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno como se ha enumerado anteriormente.

40 [0087] Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de la modificación de cristales 1 de odevixibat descrita en el presente documento, en asociación con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

45 [0088] La composición farmacéutica puede comprender además al menos otro principio activo, como un principio activo seleccionado entre un inhibidor de IBAT; un péptido enteroendocrino o potenciador del mismo; un inhibidor de la dipeptidil peptidasa-IV; una biguanidina; un mimético de la incretina; una tiazolidinona; un agonista de PPAR; un inhibidor de la HMG Co-A reductasa; un aglutinante de ácidos biliares; un modulador del receptor TGR5; un miembro de la clase de compuestos prostano; un agonista de la guanilato ciclasa C; un agonista de la serotonina 5-HT4; o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de estos principios activos. También se describen ejemplos de tales combinaciones en el documento WO2012/064268.

50 [0089] La modificación de cristales 1 de odevixibat puede administrarse a un animal de sangre caliente a una dosis unitaria dentro del intervalo de aproximadamente 0,01 a 1,0 mg/kg, tal como aproximadamente 0,01 a 0,5 mg/kg, o tal como aproximadamente 0,01 a 0,2 mg/kg, y esto puede proporcionar una dosis terapéuticamente eficaz. Una forma de dosis unitaria, como un comprimido o una cápsula, puede contener entre 0,1 y 20 mg de principio activo, por ejemplo, entre 0,1 y 10 mg, o entre 0,2 y 5 mg, o entre 0,2 y 1,0 mg. La dosis diaria puede administrarse como dosis única o dividida en una, dos, tres o más dosis unitarias. Una dosis diaria de odevixibat administrada por vía oral es preferiblemente de entre 0,1 y 50 mg, más preferiblemente de entre 0,1 y 20 mg, por ejemplo de entre 0,2 y 10 mg, o de entre 0,2 y 5 mg.

60 [0090] Las formulaciones farmacéuticas de odevixibat pueden comprender una cantidad terapéuticamente eficaz de la modificación de cristales 1 de odevixibat, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes pueden incluir, p. ej., cargas, aglutinantes, desintegrantes, deslizantes y lubricantes. En general, las composiciones farmacéuticas pueden prepararse de manera convencional utilizando excipientes convencionales.

65 [0091] En algunas realizaciones, la formulación farmacéutica es una formulación multiparticulada que contiene dosis bajas de la modificación de cristales 1 de odevixibat. Dicha formulación permite una dosificación basada en el peso y puede ser

especialmente adecuada para administrar a pacientes pediátricos. En algunas realizaciones, la formulación farmacéutica es una formulación pediátrica.

5 [0092] En algunas realizaciones, las partículas son lo suficientemente pequeñas como para que puedan espolvorearse sobre los alimentos y tragarse fácilmente. En algunas realizaciones, las partículas pueden tragarse sin causar una percepción de arenilla. En algunas realizaciones, las partículas no provocan en el paciente la necesidad de masticarlas.

10 [0093] En algunas realizaciones, cada partícula comprende un núcleo y una capa de recubrimiento que rodea el núcleo. El núcleo de cada partícula puede ser un gránulo, un gránulo, un mini-comprimido, una perla, una micropartícula o una microesfera. El principio activo farmacéutico puede estar en el núcleo o en la capa de recubrimiento. En algunas realizaciones, la capa de recubrimiento de cada partícula comprende el principio activo farmacéutico, mientras que el núcleo de cada partícula no comprende el principio activo farmacéutico.

15 [0094] Los núcleos pueden ser dispersables oralmente y comprender ingredientes solubles como un azúcar (por ejemplo, sacarosa) o un polímero soluble (por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa) o pueden ser no dispersables oralmente y comprender ingredientes no solubles como un polímero no soluble (por ejemplo, celulosa microcristalina). En algunas realizaciones, los núcleos son esferas de celulosa microcristalina.

20 [0095] La capa de recubrimiento puede comprender además un polímero formador de película, como un polímero a base de celulosa, un polímero a base de polisacáridos, un polímero a base de N-vinilpirrolidona, un acrilato, una acrilamida o copolímeros de los mismos. Algunos ejemplos de polímeros formadores de película adecuados son el alcohol polivinílico (PVA), el ftalato de acetato de polivinilo (PVAP), el polietilenglicol (PEG), la polivinilpirrolidona (PVP), los copolímeros de ácido metacrílico, el almidón, el hidroxipropilalmidón, el quitosano, la goma laca, la metilcelulosa, la hidroxipropilcelulosa (HPC), la hidroxipropilcelulosa poco sustituida, la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC; o hipromelosa), succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCAS), ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCP), ftalato de acetato de celulosa (CAP), trimelato de acetato de celulosa (CAT), así como combinaciones de los mismos, como una mezcla de metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa (metolosa). En algunas realizaciones, la capa de recubrimiento comprende un polímero formador de película seleccionado del grupo que consiste en hidroxipropilmetilcelulosa, alcohol polivinílico (PVA), polietilenglicol (PEG), almidón, hidroxipropilalmidón e hidroxipropilcelulosa (HPC).

25

30

[0096] La capa de recubrimiento puede comprender opcionalmente uno o más ingredientes adicionales, como un plastificante (por ejemplo, polietilenglicol, triacetina o citrato de trietilo), un agente antiadherente (por ejemplo, talco o estearato de magnesio) o un agente colorante (por ejemplo, dióxido de titanio, óxidos de hierro, riboflavina o cúrcuma).

35 [0097] La dosificación requerida para el tratamiento terapéutico o profiláctico dependerá de la vía de administración, la gravedad de la enfermedad, la edad y el peso del paciente y otros factores normalmente considerados por el médico tratante al determinar el régimen individual y los niveles de dosificación apropiados para un paciente en particular.

#### 40 Definiciones

[0098] El término "modificación cristalina" se refiere a una fase sólida cristalina de un compuesto orgánico. Una modificación cristalina puede ser un solvato o un ansolvato.

45 [0099] El término "solvato" se refiere a una fase sólida cristalina de un compuesto orgánico, que tiene disolvente (es decir, moléculas de disolvente) incorporado en su estructura cristalina. Un "hidrato" es un solvato en el que el disolvente es agua.

50 [0100] El término "sesquihidrato" se refiere a un hidrato que contiene aproximadamente 1,5 moles de agua asociada al cristal por mol de compuesto orgánico (es decir, un hidrato 1,5). Tal como se utiliza en el presente 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 aquí calculada excluye el agua adsorbida en la superficie del cristal.

55 [0101] El término "solvato mixto" se refiere a una fase sólida cristalina de un compuesto orgánico, que tiene dos o más moléculas disolventes diferentes incorporadas en su estructura cristalina. Una de las al menos dos moléculas de disolvente puede ser agua.

60 [0102] El término "solvato isoestructural" se refiere a una fase sólida cristalina de un compuesto orgánico, en la que la fase sólida cristalina puede acomodar diferentes solventes sin distorsión de la estructura cristalina.

[0103] El término "suspensión" se refiere a una solución saturada a la que se añade un exceso de sólido, formando así una mezcla de sólido y solución saturada.

65 [0104] Tal como se utiliza aquí, el término "volúmenes vacíos" se refiere a canales, capas u otros vacíos más o menos aislados en la estructura cristalina.

5 [0105] Tal como se utilizan en el presente documento, los términos "tratamiento", "tratar" y "en tratamiento" se refieren a revertir, aliviar, retrasar la aparición o inhibir el progreso de una enfermedad o trastorno, o uno o más síntomas de los mismos, tal como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, el tratamiento puede administrarse después de que se hayan desarrollado uno o más síntomas. En otros casos, 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 (p. ej., 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 continuar una vez resueltos los síntomas, por ejemplo para prevenir o retrasar su reaparición.

10 [0106] Tal como se utiliza aquí, el término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son adecuados para el uso farmacéutico humano y que son generalmente seguros, no tóxicos y ni biológicamente ni de otro modo indeseables.

15 [0107] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a un valor o parámetro que incluye (y describe) realizaciones que se dirigen 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 general, 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 (p. ej., dentro del intervalo de confianza del 95% para la media) o dentro del 10% del valor indicado, el que sea mayor.

25 [0108] La cristalinidad de una muestra cristalina de odevixibat puede medirse, por ejemplo, por métodos de difracción de rayos X en polvo (XRPD) o por métodos de calorimetría diferencial de barrido (DSC), como el método divulgado en la sección experimental. Cuando se hace referencia en el presente documento a un compuesto cristalino, preferiblemente la cristalinidad medida por métodos DSC es superior a aproximadamente el 70%, por ejemplo superior a aproximadamente el 80%, particularmente superior a aproximadamente el 90%, más particularmente superior a aproximadamente el 95%. En algunas realizaciones, el grado de cristalinidad medido por métodos DSC es superior a aproximadamente el 98%. En algunas realizaciones, el grado de cristalinidad medido por métodos DSC es superior al 99% aproximadamente. El % de cristalinidad se refiere al porcentaje en peso de la masa total de la muestra que es cristalina.

30 [0109] Preferiblemente, una modificación cristalina según la invención está sustancialmente libre de otras modificaciones de cristales del compuesto. Preferiblemente, las modificaciones de cristales descritas de odevixibat incluyen menos de, por ejemplo, aproximadamente 20%, aproximadamente 15%, aproximadamente 10%, aproximadamente 5%, aproximadamente 3%, o particularmente, menos de aproximadamente 1% en peso de otras modificaciones de cristales de odevixibat. Así, preferentemente, la pureza en fase sólida de las modificaciones de cristales descritas de odevixibat es superior a aproximadamente el 80%, superior a aproximadamente el 85%, superior a aproximadamente el 90%, superior a aproximadamente el 95%, superior a aproximadamente el 97%, o particularmente superior a aproximadamente el 99%.

40 [0110] La invención se describirá ahora mediante los siguientes ejemplos que no limitan la invención en ningún aspecto.

#### Abreviaturas:

45 [0111]  
DMF Dimetilformamida  
DMSO dimetilsulfóxido  
EtOH Etanol  
MeOH metanol  
50 RH humedad relativa  
2-PrOH 2-propanol

#### MÉTODOS EXPERIMENTALES

##### 55 Análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD)

60 [0112] Los análisis se realizaron a 22°C en un difractómetro PANalytical X'Pert Pro equipado con un tubo de rayos X de foco fino largo de Cu y un detector PIXcel. Se utilizaron rendijas automáticas de divergencia y antidispersión junto con rendijas Soller de 0,02 rad y un filtro de Ni. Las muestras secas se untaron en soportes de *Silicon Zero Background Holders* (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 barrido de un minuto y 16 segundos (2 - 30° en 2-theta) y luego con un barrido de 7 minutos (2 - 30° en 2-theta). Se realizó una última exploración de 17 minutos cuando la muestra se había secado durante varias horas.

65 [0113] Las muestras se hicieron girar durante el análisis para aumentar la aleatoriedad de las muestras. Se utilizaron los

siguientes ajustes experimentales:

Tensión y corriente del tubo: KV 40, mA 50  
 Longitud de onda alfa1 (CuK $\alpha$ 1): 1.5406 Å  
 Longitud de onda alfa2 (CuK $\alpha$ 2): 1.5444 Å  
 Longitud de onda media alfa1 y alfa2 (CuK $\alpha$ ): 1,5418 Å

5

10

15

20

[0114] Es conocido en el arte que un patrón de difracción de rayos X en polvo puede obtenerse teniendo uno o más errores de medición dependiendo de las condiciones de medición (tales como el equipo, la preparación de la muestra o la máquina utilizada). En particular, se sabe generalmente que las intensidades en un patrón XRPD pueden fluctuar dependiendo de las condiciones de medición y de la preparación de la muestra. Por ejemplo, los expertos en la técnica XRPD se darán cuenta de que las intensidades relativas de los picos pueden variar en función de la orientación de la muestra sometida a ensayo y del tipo y la configuración del instrumento utilizado. La persona experta también se dará cuenta de que la posición de las reflexiones puede verse afectada por la altura precisa a la que la muestra se asienta en el difractor y la calibración cero del difractor. La planitud de la superficie de la muestra también puede tener un pequeño efecto. Por lo tanto, un experto en la materia apreciará que el patrón de difracción aquí presentado no debe interpretarse como absoluto y que cualquier forma cristalina que proporcione un patrón de difracción de polvo sustancialmente idéntico a los aquí divulgados entra dentro del ámbito de la presente divulgación (para más información, véase R. Jenkins y R.L. Snyder, "Introduction to X-ray powder diffractometry", John Wiley & Sons, 1996).

#### Análisis termogravimétrico (TGA)

25

[0115] Los análisis se realizaron en un Mettler TGA/SDTA 851e, equipado con un refrigerador Julabo FP40. Se pesaron de 1 a 10 mg de muestra en copas de Al de 100  $\mu$ l y se enjuagaron con gas nitrógeno seco durante el análisis. Se utilizaron dos métodos diferentes: en el "escaneo estándar", la muestra se escaneó de 25 a 200°C con una velocidad de escaneo de 10°C/minuto, y en el "escaneo cuidadoso", la muestra se mantuvo a 25°C durante 30 minutos y, a continuación, se escaneó de 25 a 100°C con una velocidad de escaneo de 10°C/minuto.

#### Sorción dinámica de vapor (DVS)

30

[0116] Las mediciones DVS se realizaron con un SPS11-100n "Sorptions Prüfsystem" de ProUmid (anteriormente "Projekt Messtechnik"), August-Nagel-Str. 23, 89079 Ulm (Alemania). Se utilizaron unos 20 mg de muestra. Se utilizaron tasas de cambio de humedad del 5% por hora. La muestra se colocó en un soporte de aluminio o platino sobre una microbalanza y se dejó equilibrar a 0% HR antes de iniciar el programa de humedad predefinido:

35

- (1) 5 h a 0% RH
- (2) 0 -> 95% RH (5%/h); 5 h a 95% RH
- (3) 95 -> 0% RH (5%/h); 5 h a 0% RH
- (4) 0 -> 95% RH (5%/h); 5 h a 95% RH
- (5) 95 -> 0% RH (5%/h); 5 h a 0% RH

40

#### Cromatografía Líquida de Alta Resolución

45

[0117] Los análisis se realizaron en un Agilent, Serie 1100, equipado con un desgasificador Agilent 1260 Infinity. Columna: Waters XSelect CHS C18 (150 x 3 mm, 3,5  $\mu$ m); Fase móvil A: 0,1% de ácido fórmico en agua, fase móvil B: 0,1% ácido fórmico en acetonitrilo; Gradiente 45% a 90% B; Caudal 0,425 mL/min; Tiempo de adquisición 35 minutos; Tiempo de ejecución 42 minutos; Longitud de onda: 283 nm; Temperatura de columna 20°C. Se utilizó el software Chromeleon versión 6.8.

50

#### Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

[0118] Los experimentos se realizaron utilizando un Calorímetro Diferencial de Barrido TA Instruments Q2000. El crisol DCS utilizado fue una olla de aluminio TZero con agujero de alfiler (diámetro  $\geq$  0,2 mm) en la tapa. Se mantuvo una purga de nitrógeno seco a un caudal constante de 50 mL/min en la célula DSC durante toda la medición.

55

#### EJEMPLOS

##### Ejemplo 1

60

##### Preparación de la modificación de cristales 1

65

[0119] El alcohol absoluto (100,42 kg) y el odevixibat bruto (18,16 kg) se cargaron en un GLR de 250 L con agitación bajo atmósfera de nitrógeno. Se añadió agua purificada (12,71 kg) y la masa de reacción se agitó bajo atmósfera de nitrógeno a 25  $\pm$  5°C durante 15 minutos. Se siguió agitando a 25  $\pm$  5°C durante 3 a 60 minutos, hasta que se formó una solución clara. La solución se filtró a través de un filtro de cartucho de acero inoxidable de 5,0  $\mu$ , seguido de un filtro de cartucho de PP de 0,2  $\mu$  y, a continuación, se transfirió a un reactor limpio. Se añadió lentamente agua purificada (63,56 kg) durante

## ES 3 011 850 T3

5 un periodo de 2 a 3 horas a  $25 \pm 5^\circ\text{C}$ , y la solución se sembró con la modificación de cristales 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 por centrifugación y el material se centrifugó 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 una secadora de bandejas al vacío a  $25 \pm 5^\circ\text{C}$  en vacío (550 mm Z r Hg; 0,0733 MPa) durante 10 horas y después a  $30 \pm 5^\circ\text{C}$  en vacío (550 mm Hg; 0,0733 MPa) 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.

10 [0120] Una muestra sobrehidratada se analizó con XRPD y el difractograma se muestra en la Figura 2. Otra muestra se secó a  $50^\circ\text{C}$  en vacío y posteriormente se analizó con XRPD. En la figura 1 se muestra el difractograma de la muestra seca.

15 [0121] Los difractogramas para el secado de la muestra se muestran en las Figuras 3 y 4 para rangos de  $2\theta$   $5 - 13^\circ$  y  $18 - 25^\circ$ , respectivamente (muestra sobrehidratada en la parte inferior y muestra seca en la parte superior).

### Ejemplo 2

Preparación de la modificación de cristales 2A a partir de etanol y agua

20 [0122] Se pesaron 105,9 mg de odevixibat en un recipiente Chromacol de 1 mL. Se añadió una barra de agitación magnética y 1,0 mL de una mezcla de etanol:agua 70:30 %v/v y se cerró el recipiente con un tapón engarzado. La suspensión resultante se dejó en agitación a  $25^\circ\text{C}$  durante 1 semana.

25 [0123] La muestra húmeda se analizó con XRPD y el difractograma se muestra en la Figura 6. Al secarse la muestra, se transformó en la modificación de cristales 1.

### Ejemplo 3

Preparación de la modificación de cristales 2A a partir de acetona y agua

30 [0124] Se pesaron 27,0 mg de odevixibat en un recipiente Chromacol de 1 mL. Se añadió una barra de agitación magnética y 0,5 mL de una mezcla de acetona:agua 50:50 %v/v y se cerró el recipiente con un tapón engarzado. La suspensión resultante se dejó en agitación a  $3^\circ\text{C}$  durante 2 semanas.

35 [0125] La muestra húmeda se analizó con XRPD y el difractograma se muestra en la Figura 7. Al secarse la muestra, se transformó en la modificación de cristales 1.

### Ejemplo 4

40 Preparación de la modificación de cristales 2A a partir de 2-propanol y agua

45 [0126] Se pesaron 27,4 mg de odevixibat en un recipiente Chromacol de 1 mL. Se añadió una barra de agitación magnética y 0,5 mL de una mezcla de 2-propanol:agua 50:50 %v/v y se cerró el recipiente con un tapón engarzado. La suspensión resultante se dejó en agitación a  $3^\circ\text{C}$  durante 2 semanas.

[0127] La muestra húmeda se analizó con XRPD y el difractograma se muestra en la Figura 8. Al secarse la muestra, se transformó en la modificación de cristales 1.

### Ejemplo 5

50 Preparación de la modificación de cristales 2A a partir de 1,4-dioxano y agua

55 [0128] Se pesaron 31,6 mg de odevixibat en un recipiente Chromacol de 1 mL. Se añadió una barra de agitación magnética y 0,5 mL de una mezcla de 1,4-dioxano:agua 50:50 %v/v y se cerró el recipiente con un tapón engarzado. La suspensión resultante se dejó en agitación a  $3^\circ\text{C}$  durante 2 semanas.

[0129] La muestra húmeda se analizó con XRPD y el difractograma se muestra en la Figura 9. Al secarse la muestra, se transformó en la modificación de cristales 1.

### Ejemplo 6

Preparación de la modificación de cristales 2B a partir de metanol

65 [0130] Se pesaron 103,9 mg de odevixibat en un recipiente Chromacol de 1 mL. Se añadió una barra de agitación magnética y 0,9 mL de metanol y se cerró el recipiente con un tapón engarzado. La suspensión resultante se dejó en agitación a  $22^\circ\text{C}$  durante 1 semana.

[0131] La muestra húmeda se analizó con XRPD y el difractograma se muestra en la Figura 9. Al secarse la muestra, se transformó en la modificación de cristales 1.

#### 5 Ejemplo 7

Preparación de la modificación de cristales 2B a partir de acetonitrilo y agua

10 [0132] Se disolvieron 20,2 mg de odevixibat en 1,5 mL de acetonitrilo. A la solución agitada se añadieron 2,5 mL de agua como antisolvente. En 20 - 30 minutos se había precipitado una suspensión.

[0133] La muestra húmeda se analizó con XRPD y el difractograma se muestra en la Figura 10. Al secarse la muestra, se transformó en la modificación de cristales 1.

#### 15 Ejemplo 8

Preparación de la modificación de cristales 2C a partir de DMSO y agua

20 [0134] Se pesaron 29,8 mg de odevixibat en un recipiente Chromacol de 1 mL. Se añadió una barra de agitación magnética y 0,5 mL de una mezcla DMSO:agua 50:50 %v/v y se cerró el recipiente con un tapón engarzado. La suspensión resultante se dejó en agitación a 3°C durante 2 semanas.

[0135] La muestra húmeda se analizó con XRPD y el difractograma se muestra en la Figura 12. Al secarse la muestra, se transformó en la modificación de cristales 1.

25

#### EJEMPLO 9:

Análisis del contenido en agua y disolventes de las modificaciones de los cristales 1 y 2

30 [0136] El análisis Karl-Fischer de los cristales de la modificación 1 mostró un contenido en agua del 3,4% p/p. El análisis termo gravimétrico (TGA) del mismo material mostró una pérdida de masa total del 3,5% (véase la figura 13). Estos resultados similares indican que la modificación de cristales 1 contiene 1,5 moles de agua por mol de odevixibat, lo que corresponde a un hidrato de 1,5.

35 [0137] El contenido de agua y disolvente en la modificación de cristales 2 se analizó utilizando muestras preparadas a partir de una suspensión de odevixibat en etanol:agua (60:40 %v/v) que se había dejado equilibrar durante 3 días. La forma 2 se había formado según XRPD. Se tomaron muestras de la suspensión en placas porosas y se almacenaron en un desecador con etanol:agua (60:40 %v/v) y se equilibraron al menos durante una noche. Las placas se sacaron y se secaron al aire durante cierto tiempo (5-30 minutos), y después se analizaron con un barrido rápido en XRPD (1 min 16 s) para verificar la forma cristalina. Algunas muestras contenían la modificación de cristales 2 y aún estaban muy húmedas, mientras que la modificación de cristales 1 ya empezaba a aparecer en las muestras más secas. El análisis Karl-Fischer de las muestras secas de la modificación de cristales 2 indicó un contenido de agua ligeramente superior al 4% p/p. El análisis termo gravimétrico de las muestras muy húmedas de la modificación de cristales 2 mostró que estas muestras perdieron inicialmente mucha masa. A partir de entonces se observó un cambio en la velocidad de secado, lo que probablemente indica el inicio de la transformación de la modificación 2 a la modificación 1. Tras realizar varios experimentos, se pudo determinar una pérdida de masa de aproximadamente el 12% p/p para la transformación de la modificación 2 en la modificación 1. Dado que la modificación seca 1 es un sesquihidrato (véase la figura 13), la pérdida de masa total de aproximadamente el 12% (p/p) para la transformación de la modificación de cristales 2 en la modificación de cristales 1 correspondería a una pérdida de dos moles de etanol y 0,5 moles de agua.

50

[0138] En otro experimento, una muestra de la modificación de cristales 1 se mantuvo en un desecador y se expuso a la fase de vapor de una mezcla 60:40 (% v/v) de etanol y agua durante 4 días a temperatura ambiente. El análisis termo gravimétrico de la muestra mostró una pérdida de masa de aproximadamente el 18,7% (véase la figura 14). La pérdida de masa comienza fácilmente al principio del experimento. Un examen posterior de la muestra mediante 1H-NMR sugirió que el contenido de etanol correspondía a unos 2,7 equivalentes y el de agua a unos 1,9 equivalentes.

55

#### Ejemplo 10

Análisis dinámico de absorción de vapor de la modificación de cristales 1

60

[0139] La absorción de agua de la modificación de cristales 1 se midió mediante sorción dinámica de vapor (DVS). Las mediciones demuestran que el contenido de agua depende reversiblemente de la humedad ambiental, con absorciones máximas de aproximadamente el 5,0% (p/p) al 95% RH, como se muestra en la figura 15.

65 [0140] Tras secar la muestra a 0% HR y aumentar la humedad relativa, la mayor parte del agua se recuperó hasta aproximadamente 25% RH. Esto corresponde a un contenido de agua de aproximadamente el 3,5% (p/p). A continuación,

se absorbió un 1,5% (p/p) adicional de agua al aumentar la humedad hasta el 95% RH. El proceso de sorción/desorción muestra una histéresis mínima. El análisis XRPD ha mostrado que la estructura del hidrato se restablece casi por completo al 20% de RH y se restablece por completo al 30% de RH. Por tanto, la modificación de cristales 1 parece requerir aproximadamente un 3,5% (p/p) de agua, lo que corresponde a un sesquihidrato. La mayor absorción de agua a humedades relativas más elevadas no modifica más la estructura. Por lo tanto, la modificación de cristales 1 es probablemente un sesquihidrato ligeramente higroscópico que puede absorber un 1,5% (p/p) adicional de agua a una humedad relativa elevada en el rango de 30-95% RH.

## Ejemplo 11

## Pruebas de estabilidad

[0141] Las muestras de odevixibat amorfo (pureza ~91%) y de modificación de cristales 1 de odevixibat (pureza > 99%; cristalinidad 100%) se almacenaron en un recipiente cerrado bajo aire a 80°C. La cantidad de odevixibat en las muestras se determinó mediante HPLC al inicio del experimento, y se volvió a determinar al cabo de 1, 2 y 4 semanas. Los resultados figuran en la tabla siguiente. Tras 4 semanas de almacenamiento, la muestra amorfa presentaba una descomposición del 0,3%, mientras que la pureza de la muestra cristalina no había cambiado.

Tiempo (semanas)	Contenido de odevixibat (%)	
	Odevixibat amorfo	modificación de cristal 1
0	91.1	99.13
1	90.9	99.15
2	91.04	99.18
4	90.8	99.24

## Ejemplo 12

## Determinación de la fracción cristalina por calorimetría diferencial de barrido

[0142] Este método cuantifica la fracción cristalina de la sustancia farmacológica odevixibat en muestras parcialmente cristalinas. La cuantificación se basa en la suposición de que las muestras parcialmente cristalinas son mezclas binarias del hidrato cristalino y la fase amorfa del odevixibat. La fracción cristalina se cuantifica a partir de la entalpía de fusión de una forma anhidra. Esta forma anhidra es el hidrato deshidratado que se forma espontánea y reproduciblemente secando el hidrato a temperatura elevada.

[0143] Se pesaron con precisión 5-6 mg de una muestra cristalina o parcialmente cristalina de odevixibat en un crisol DSC que se cerró con una tapa perforada utilizando una prensa adecuada. Se anotó el peso total del crisol DSC (cazo + tapa + muestra) y se determinó de nuevo el peso total del crisol tras el ensayo DSC. La pérdida de peso durante la prueba DSC no debe ser superior al 5%.

[0144] La prueba DSC consta de tres ciclos:

- Ciclo 1: aumento de la temperatura de 20°C a 120°C a una velocidad de exploración de 5°C/min;
- Ciclo 2: disminución de la temperatura de 120°C a 80°C a una velocidad de barrido de 10°C/min; y
- Ciclo 3: aumento de la temperatura de 80°C a 200°C a una velocidad de barrido de 10°C/min.

[0145] El primer ciclo de barrido seca la muestra y convierte así la forma hidratada en un hidrato deshidratado (una forma anhidra). En el segundo ciclo de exploración, 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 exploración, en el que la muestra se calienta hasta la fusión de la forma anhidra.

[0146] El evento endotérmico debido a la fusión aparece en el intervalo de temperaturas de 140-165°C. El pico debe integrarse sobre una línea de base 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 de base real. La transición vítrea de la parte amorfa puede aparecer en el intervalo de temperaturas de 120-130°C, dependiendo de la fracción amorfa real (véase un ejemplo en la figura 16). Si una línea de base irregular no permite la integración, debe evaluarse si el secado de la muestra fue incompleto.

[0147] La evaluación de la entalpía de fusión se realiza utilizando el peso seco de la muestra, que se obtiene restando el

5 peso total del crisol DSC (cacerola + tapa + muestra) después de la prueba DSC del peso total del crisol antes de la prueba. El porcentaje de pérdida de peso durante el análisis 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. La fracción cristalina expresada en porcentaje en peso se calculará a partir de la entalpía de fusión ( $\Delta H_{muestra}$ ) basándose en la siguiente fórmula. El valor se indicará en un número entero.

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

10

Ejemplo 13

Efecto del secado en la cristalinidad de la modificación de cristales 1

15

[0148] En estos experimentos, la modificación de cristales 2 se obtuvo tras el espumado de la modificación de cristales 1 en una mezcla 6:4 de etanol/agua; el material húmedo obtenido se almacenó posteriormente en un desecador bajo vapor de etanol/agua (6:4) durante dos meses.

20

[0149] A continuación, se secaron muestras de la modificación de cristales 2 utilizando diferentes técnicas de secado, con el fin de ver el impacto del secado sobre la cristalinidad de la modificación de cristales 1. Las muestras secas se analizaron mediante XRPD (las muestras se prepararon en atmósfera de aire ambiente) y los resultados se muestran en la tabla siguiente. Los resultados sugieren que la modificación de cristales 1 se obtiene por rehidratación de la forma deshidratada, que se obtiene por secado de la modificación de cristales 2 al vacío o bajo flujo de nitrógeno. Cuando la modificación de cristales 2 se almacena en condiciones ambientales, el intercambio etanol-agua parece ser muy bajo.

25

Condiciones de secado	Resultados
Vacío (<5 mbar), temperatura ambiente.	modificación de cristal 1
Flujo de nitrógeno, temperatura ambiente	modificación de cristal 1
Condiciones ambientales	modificación de cristal 1 pobremente cristalino

30

35

40

Ejemplo 14

Efecto del disolvente en la cristalinidad de la modificación de cristales 2

45

[0150] La modificación de cristales 1 se suspendió en una mezcla 30:70 (% v/v) de etanol y agua (muestra A) o en una mezcla 70:30 (% v/v) de etanol y agua (muestra B) a temperatura ambiente. Tras agitar toda la noche, se filtraron y las muestras húmedas recuperadas se sometieron a XRPD (transmisión). Los patrones XRPD de ambas muestras correspondían esencialmente a la modificación de cristales 2, pero se observaron algunos ligeros desplazamientos de los picos entre las dos muestras, posiblemente debido a la diferencia en el contenido de etanol de las dos muestras.

50

[0151] A continuación, ambas muestras se sometieron a secado al aire a temperatura ambiente y se volvieron a analizar mediante XRPD. En ambos casos, se obtuvo la modificación de cristales 1, pero basándose en la resolución de los picos en los patrones XRPD, la muestra obtenida a partir de la mezcla 70:30 (% v/v) de etanol y agua parecía considerablemente más cristalina.

55

[0152] Se realizaron mediciones DSC en las muestras secadas al aire. Se observó que la muestra A, obtenida a partir de la mezcla que contenía un 30% de etanol, era menos cristalina que la muestra B, obtenida a partir de la mezcla que contenía un 70% de etanol. Se encontró una entalpía de fusión de 25,7 J/g para la muestra A, lo que corresponde a un 95 % de cristalinidad. Para la muestra B, se encontró una entalpía de 28,9 J/g, lo que corresponde a una cristalinidad superior al 100%.

60

65

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un sesquihidrato cristalino de odevixibat.
2. El sesquihidrato cristalino según la reivindicación 1, que es la modificación de cristales 1 de odevixibat, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuK $\alpha$ 1, con picos en las posiciones  $^{\circ}2\theta$   $5,6 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$  y  $12,1 \pm 0,2$ .
- 10 3. modificación de cristales 1 de odevixibat según la reivindicación 2, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuK $\alpha$ 1, con picos específicos en las posiciones  $^{\circ}2\theta$   $5,6 \pm 0,2$ ,  $6,7 \pm 0,2$  y  $12,1 \pm 0,2$  y uno o más de los picos característicos:  $4,1 \pm 0,2$ ,  $4,6 \pm 0,2$ ,  $9,3 \pm 0,2$ ,  $9,4 \pm 0,2$  y  $10,7 \pm 0,2$ .
- 15 4. Modificación de cristales 1 de odevixibat según la reivindicación 2, que tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuK $\alpha$ 1, como se muestra en la FIG. 1.
5. Modificación de cristales 1 de odevixibat según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, que tiene una cristalinidad superior al 99%.
- 20 6. Un procedimiento para la preparación de la modificación de cristales 1 de odevixibat según la reivindicación 2, que comprende aislar la modificación de cristales 2A, 2B o 2C de odevixibat a partir de una solución de odevixibat en una mezcla de disolventes que comprende agua y un disolvente orgánico seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, 2-propanol, acetona, acetonitrilo, 1,4-dioxano, DMF y DMSO;
- 25 en la que la modificación de cristales 2A de odevixibat tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuK $\alpha$ 1, con picos en las posiciones  $^{\circ}2\theta$   $5,0 \pm 0,2$ ,  $5,1 \pm 0,2$  y  $11,8 \pm 0,2$ ,  
 en la que la modificación de cristales 2B de odevixibat tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuK $\alpha$ 1, con picos en las posiciones  $^{\circ}2\theta$   $4,8 \pm 0,2$ ,  $5,1 \pm 0,2$  y  $11,6 \pm 0,2$ , y  
 30 donde la modificación de cristales 2C de odevixibat tiene un patrón XRPD, obtenido con radiación CuK $\alpha$ 1, con picos en las posiciones  $^{\circ}2\theta$   $5,0 \pm 0,2$ ,  $6,2 \pm 0,2$ ,  $9,4 \pm 0,2$  y  $23,9 \pm 0,2$ .
7. El procedimiento según la reivindicación 6, que comprende aislar la modificación de cristales 2A del odevixibat.
- 35 8. El procedimiento según la reivindicación 6 o 7, en el que la modificación de cristales 2A del odevixibat se obtiene a partir de una mezcla de agua y etanol.
9. Una composición farmacéutica que comprende la modificación de cristales 1 de odevixibat según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, junto con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.
- 40 10. Modificación cristalina 1 de odevixibat según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno hepático, como un trastorno metabólico hereditario del hígado; errores congénitos de la síntesis de ácidos biliares; anomalías congénitas de las vías biliares; atresia biliar; atresia biliar post-Kasai; atresia biliar posttrasplante de hígado; hepatitis neonatal; colestasis neonatal; formas hereditarias de colestasis; xantomatosis cerebrotendinosa; un defecto secundario de la síntesis de BA; síndrome de Zellweger; enfermedad hepática asociada a la fibrosis quística; deficiencia de alfa1-antitripsina; síndrome de Alagilles (ALGS); síndrome de Byler; un defecto primario de la síntesis de ácidos biliares (BA); colestasis intrahepática familiar progresiva (PFIC), incluidas PFIC-5, PFIC-9, PFIC-2 y PFIC no especificada, PFIC post-desvío biliar y PFIC post-trasplante hepático; colestasis intrahepática recurrente benigna (BRIC), incluidas BRIC1, BRIC2 y BRIC no especificada, BRIC post-desvío biliar y BRIC post-trasplante hepático; hepatitis autoinmune; cirrosis biliar primaria (PBC); fibrosis hepática; enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD); esteatohepatitis no alcohólica (NASH); hipertensión portal; colestasis; colestasis del síndrome de Down; colestasis inducida por fármacos; colestasis intrahepática del embarazo (ictericia durante el embarazo); colestasis intrahepática; colestasis extrahepática; colestasis asociada a nutrición parenteral (PNAC); colestasis asociada a bajo contenido en fosfolípidos; síndrome de colestasis linfedematosa 1 (LCS1); colangitis esclerosante primaria (PSC); colangitis asociada a inmunoglobulina G4; colangitis biliar primaria; colelitiasis (cálculos biliares); litiasis biliar; coledocolitiasis; pancreatitis por cálculos biliares; enfermedad de Caroli; neoplasia maligna de las vías biliares; neoplasia maligna que causa obstrucción del árbol biliar; estenosis biliar; colangiopatía por AIDS; colangiopatía isquémica; prurito debido a colestasis o ictericia; pancreatitis; enfermedad hepática autoinmune crónica que provoca colestasis progresiva; esteatosis hepática; hepatitis alcohólica; hígado graso agudo; hígado graso del embarazo; Hepatitis inducida por fármacos; trastornos por sobrecarga de hierro; defecto congénito de la síntesis de ácidos biliares tipo 2 (defecto BAS tipo 3); lesión hepática inducida por fármacos (DILI); fibrosis hepática; fibrosis hepática congénita; cirrosis hepática; histiocitosis de células de Langerhans (LCH); colangitis esclerosante por ictiosis neonatal (NISCH); protoporfiria eritropoyética (EPP); ductopenia idiopática del adulto (IAD); hepatitis neonatal idiopática (INH); insuficiencia no sindrómica de los conductos biliares interlobulares (NS PILBD); cirrosis infantil de los indios norteamericanos (NAIC); sarcoidosis hepática; amiloidosis; enterocolitis necrotizante; toxicidades causadas por ácidos biliares séricos, incluidas alteraciones del ritmo cardiaco (por ej.g., fibrilación auricular) en el contexto de un perfil anormal de ácidos biliares séricos,
- 65

cardiomiopatía asociada a cirrosis hepática ("coleicardia") y atrofia muscular esquelética asociada a hepatopatía colestásica; hepatitis vírica (incluidas hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis D y hepatitis E); carcinoma hepatocelular (hepatoma); colangiocarcinoma; cánceres gastrointestinales relacionados con los ácidos biliares; y colestasis causada por tumores y neoplasias del hígado, del tracto biliar y del páncreas.

5

**11.** Modificación de cristales 1 de odevixibat para su uso según la reivindicación 10, en la que la enfermedad o trastorno hepático es colestasis intrahepática familiar progresiva (CIPF), síndrome de Alagilles (ALGS) o atresia biliar.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

FIGURA 1

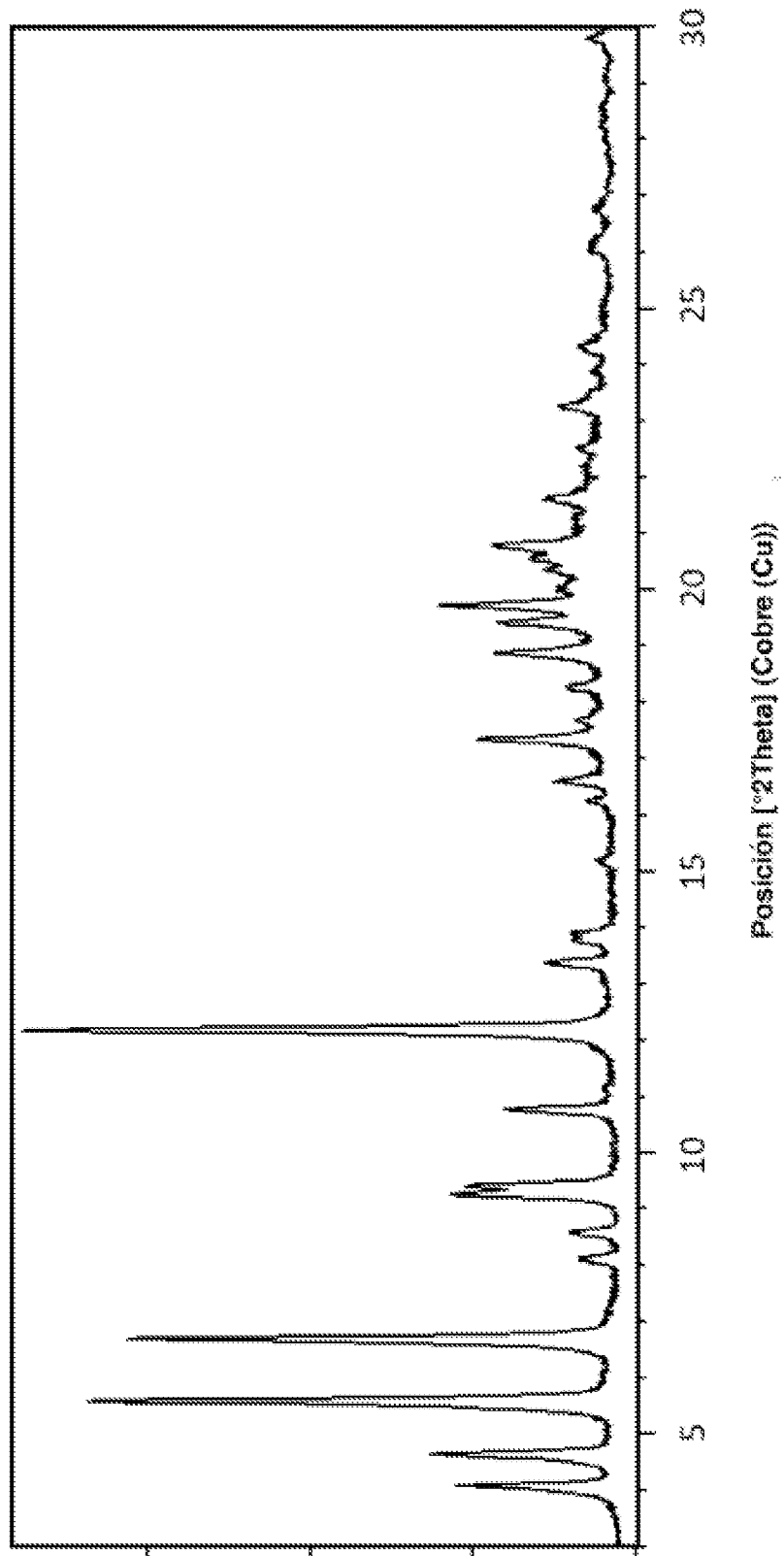


FIGURA 2

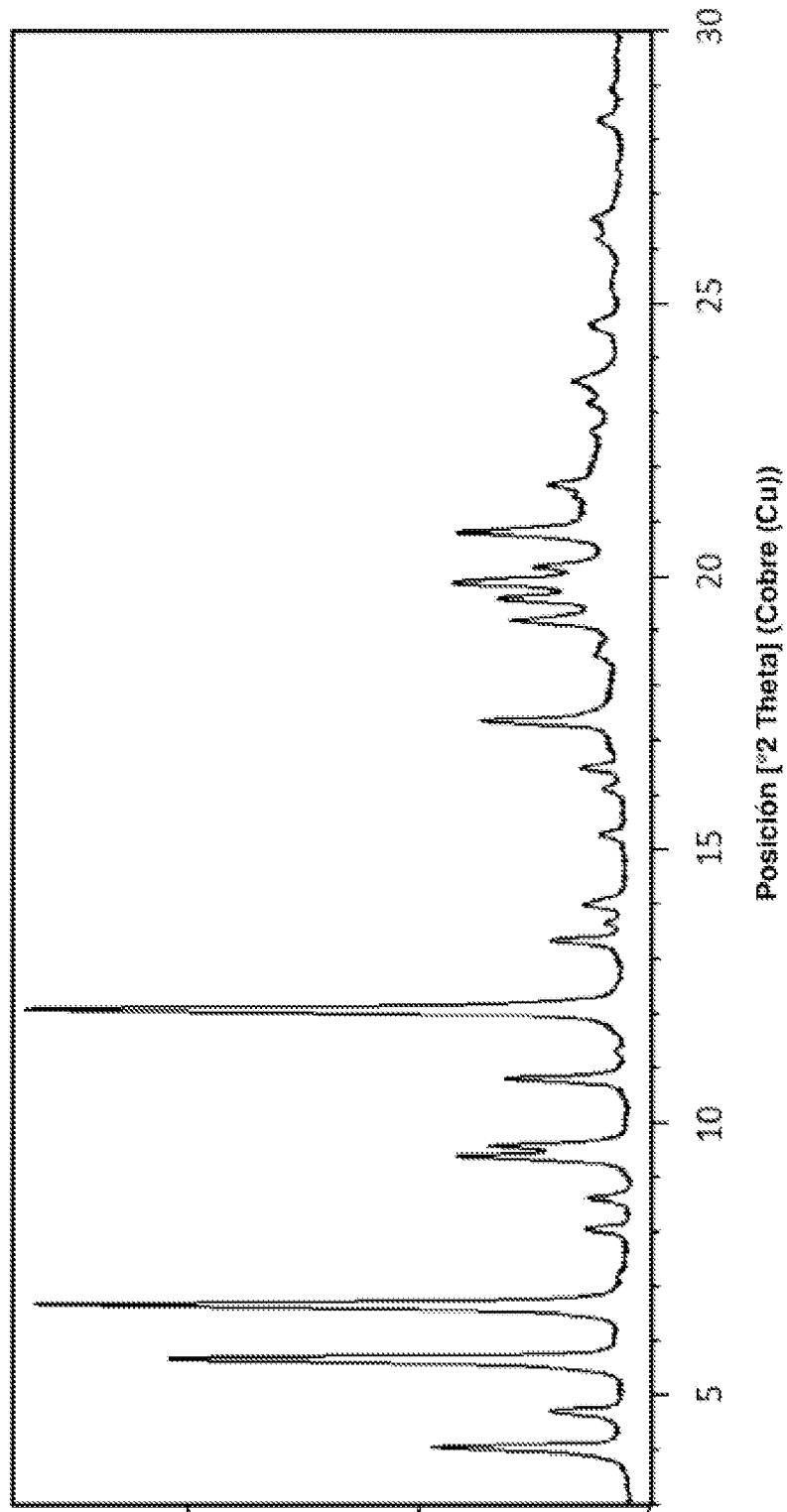


FIGURA 3

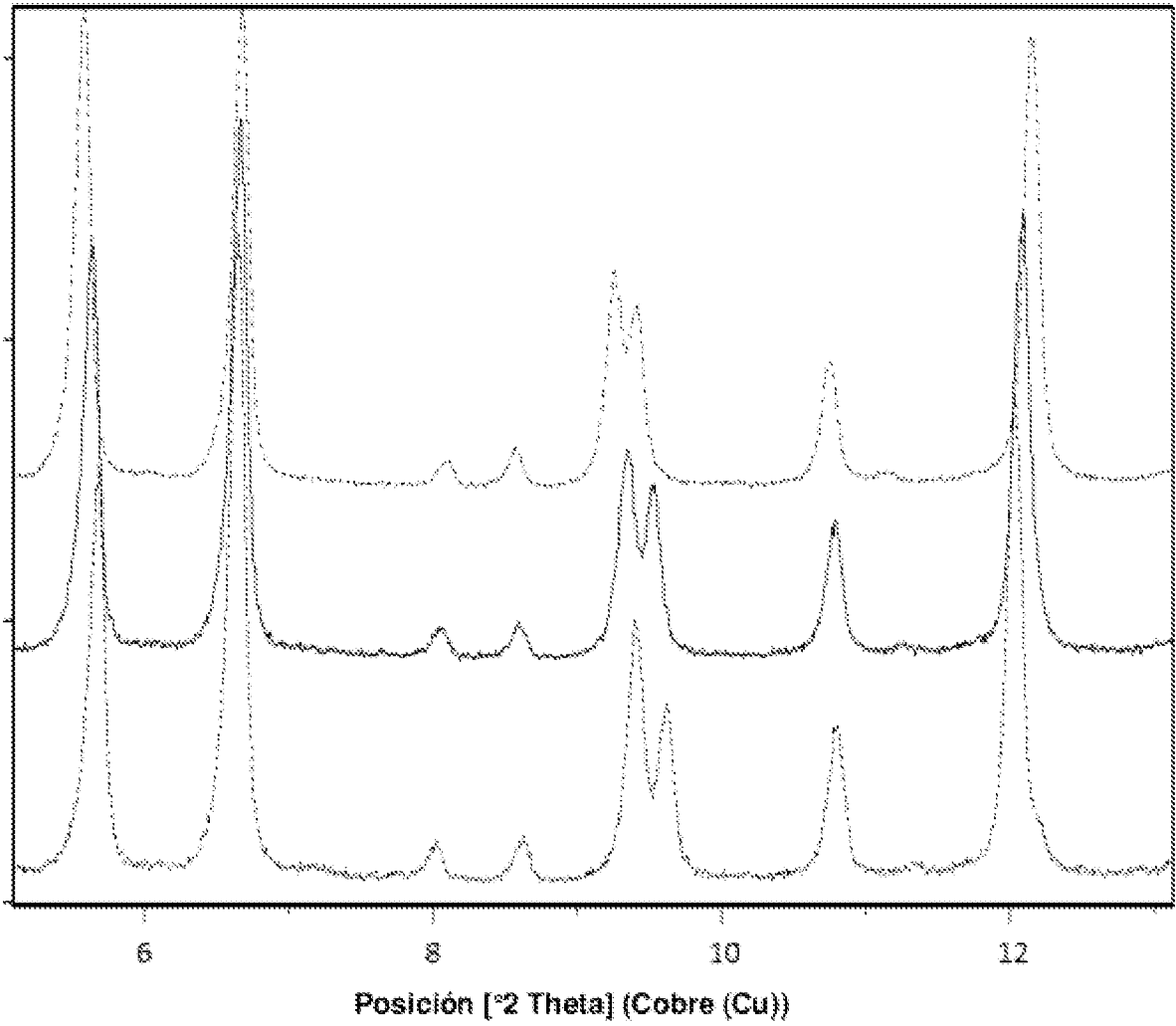


FIGURA 4

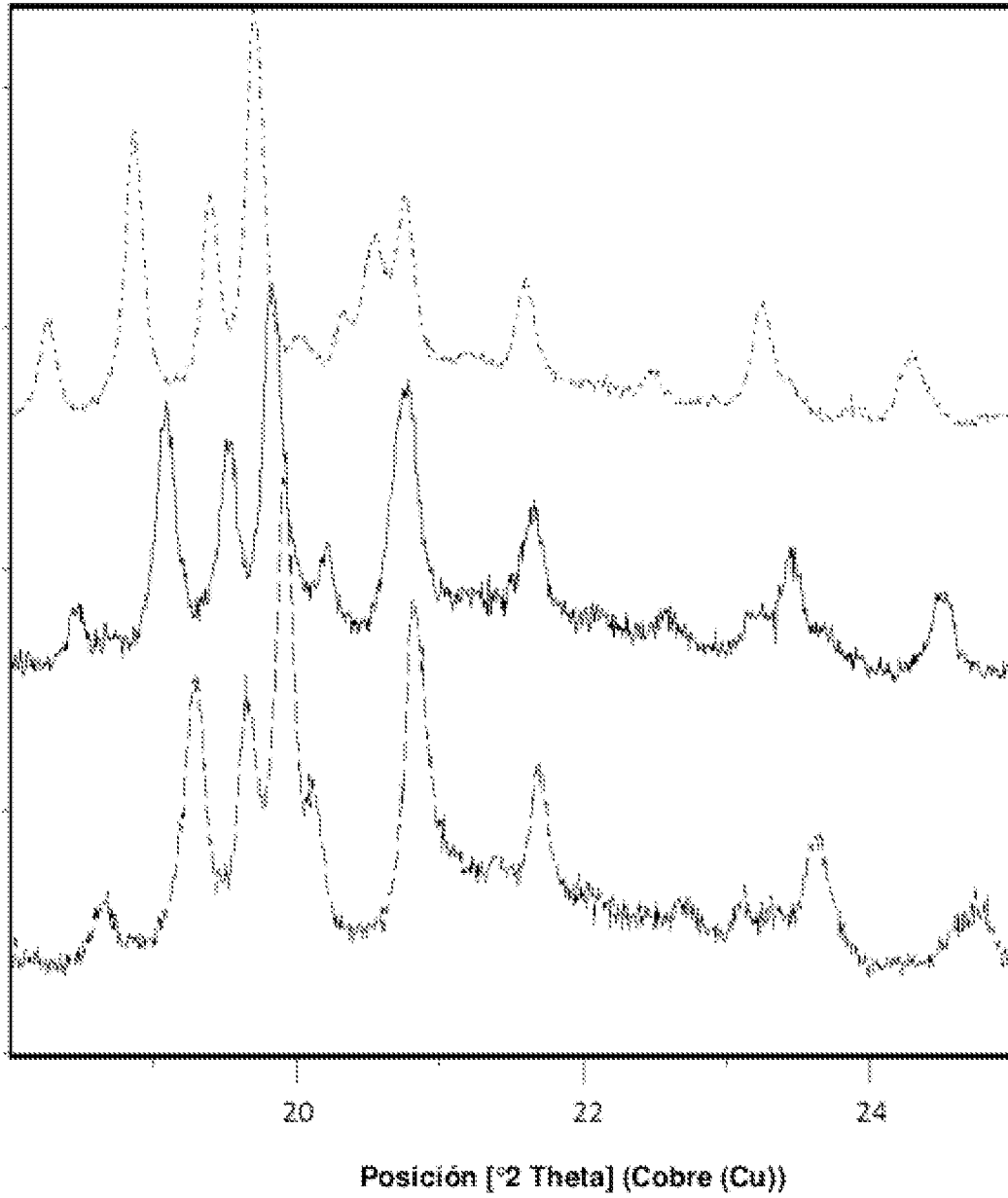


FIGURA 5

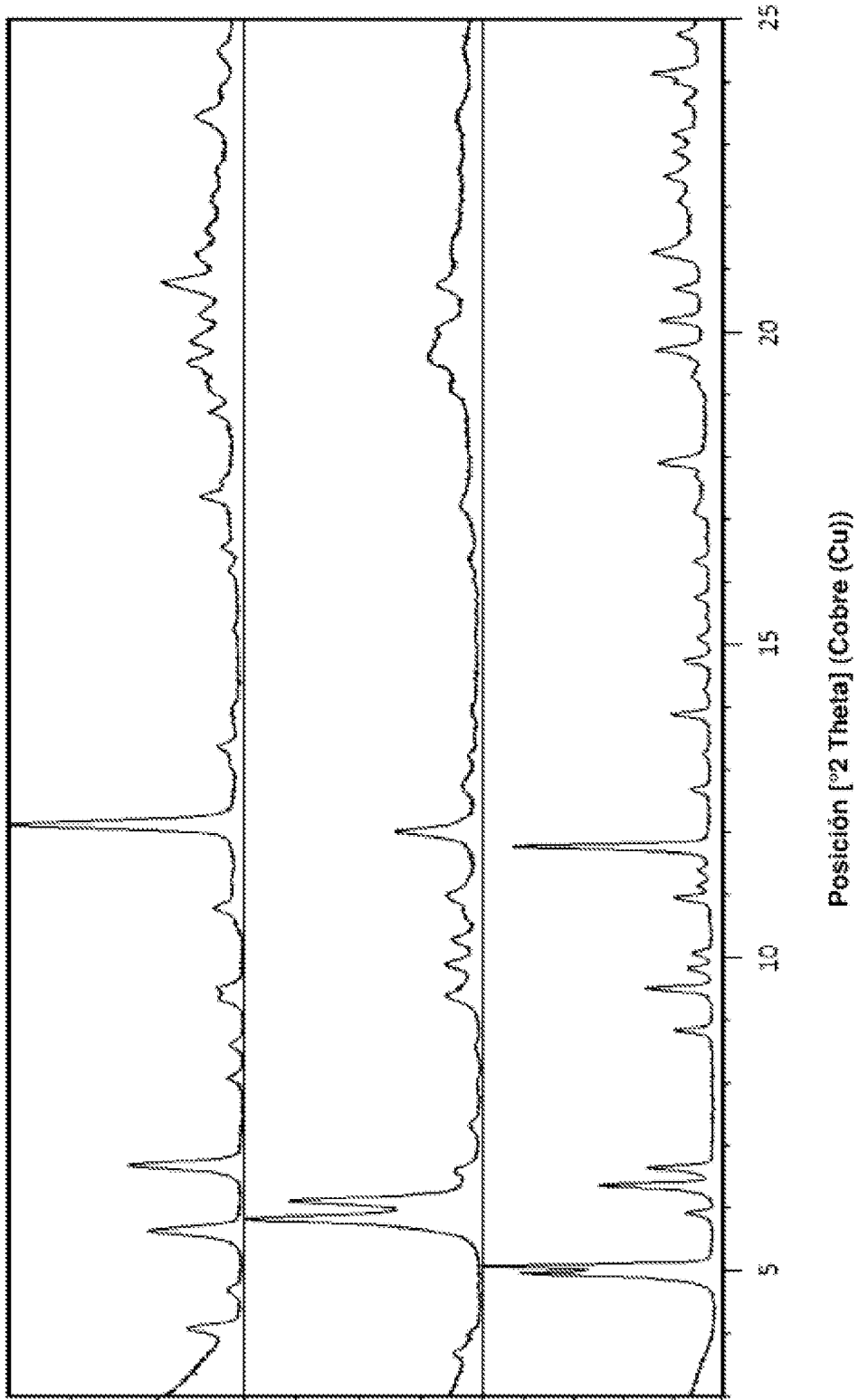


FIGURA 6

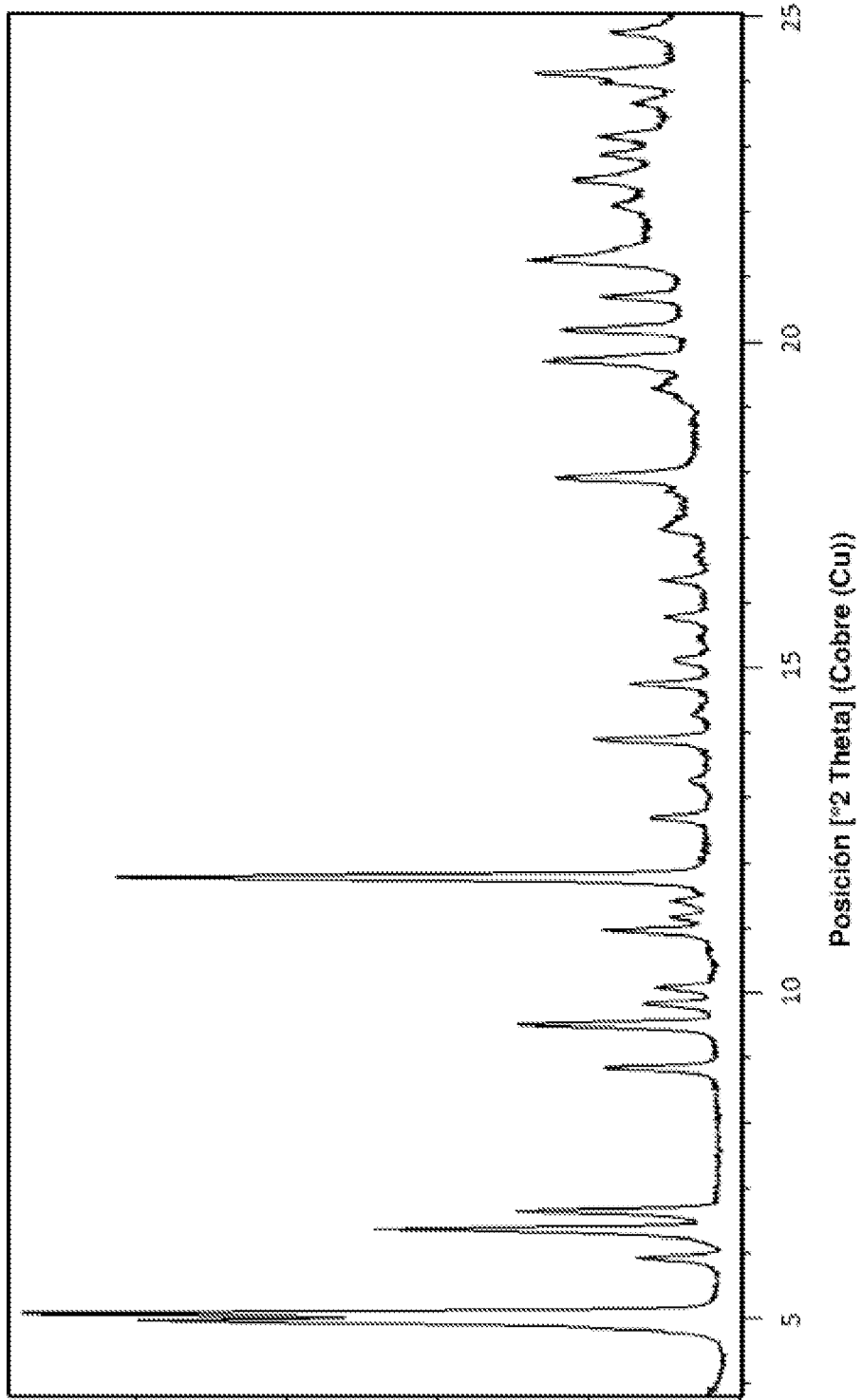


FIGURA 7

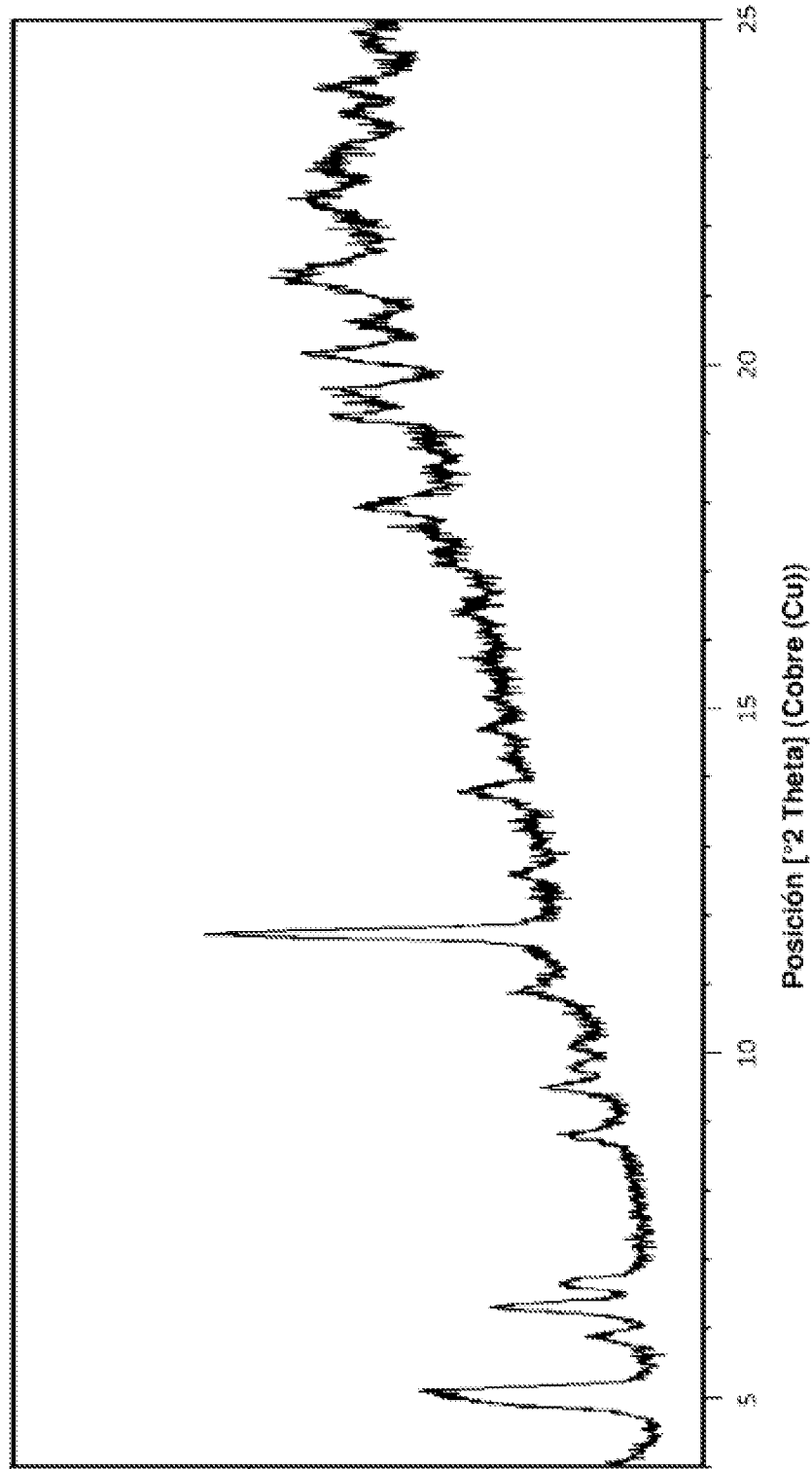


FIGURA 8

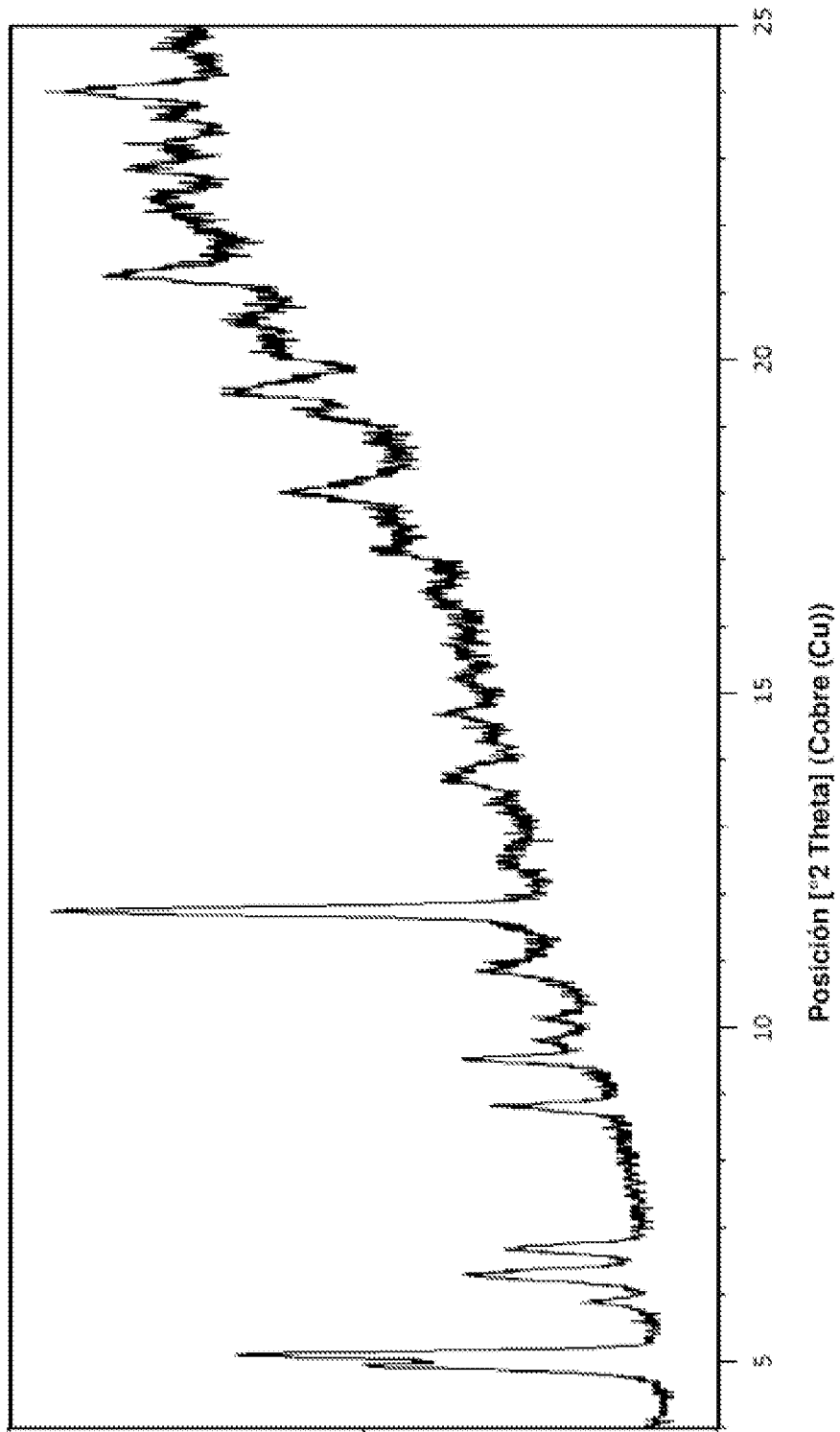


FIGURA 9

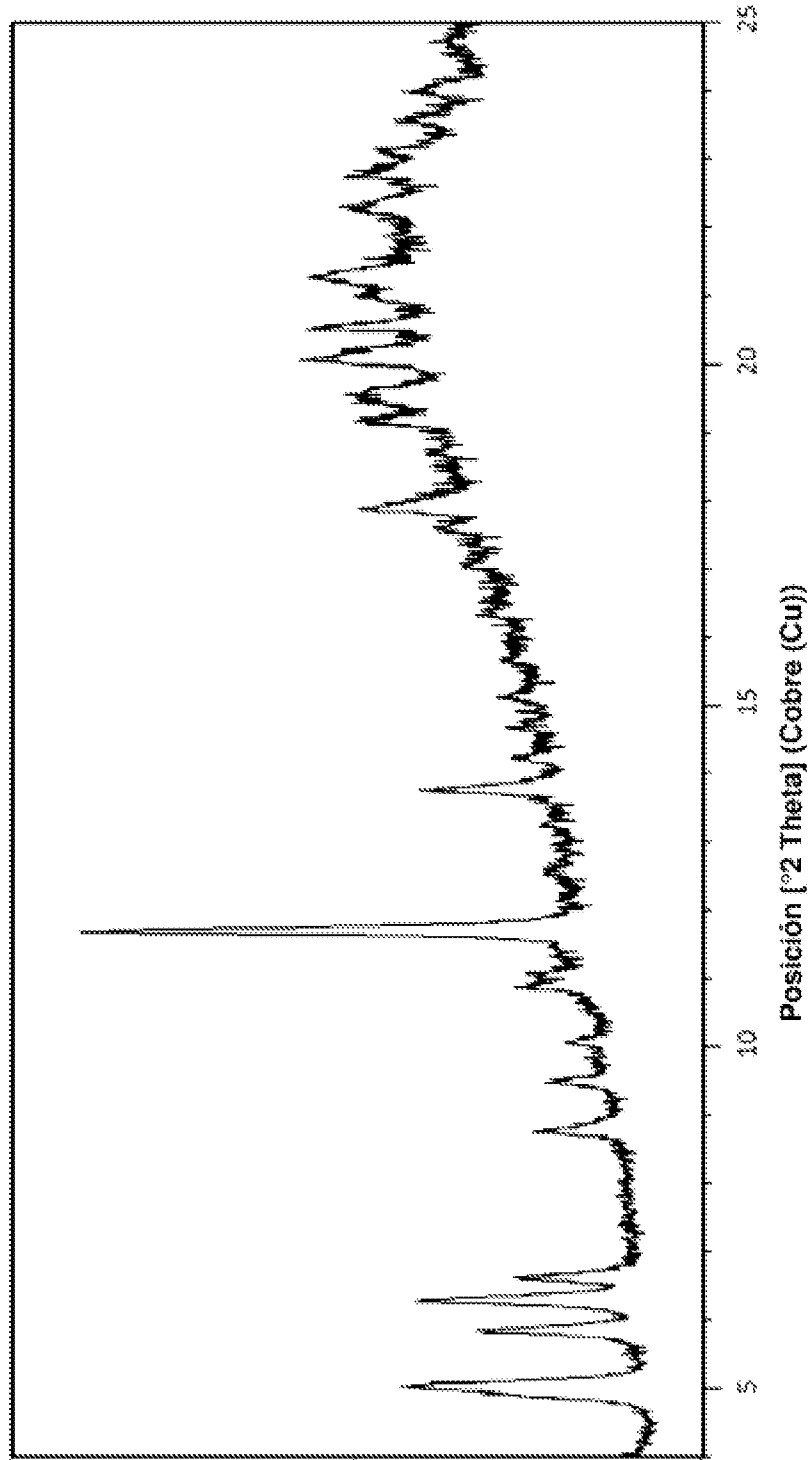


FIGURA 10

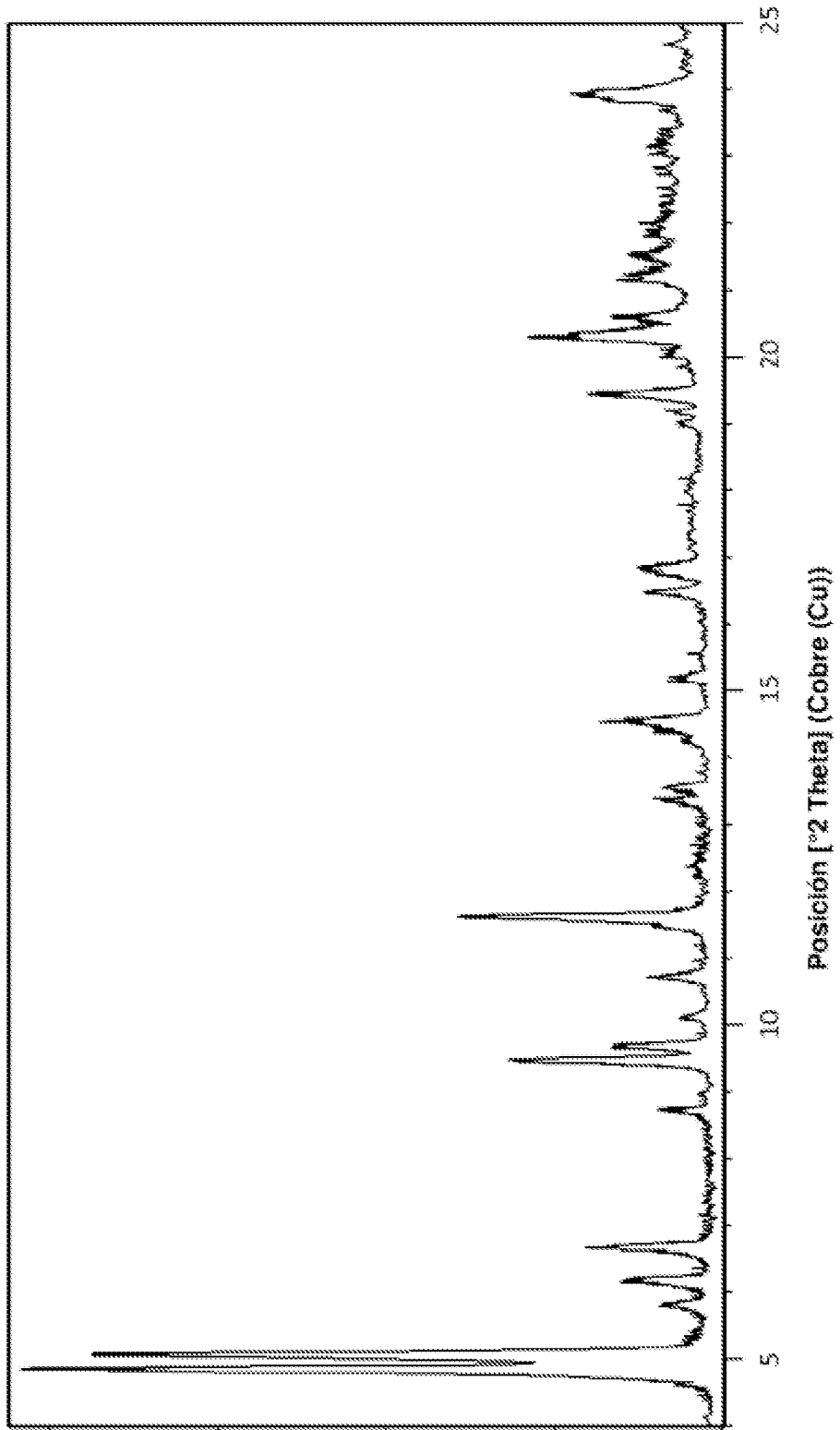


FIGURA 11

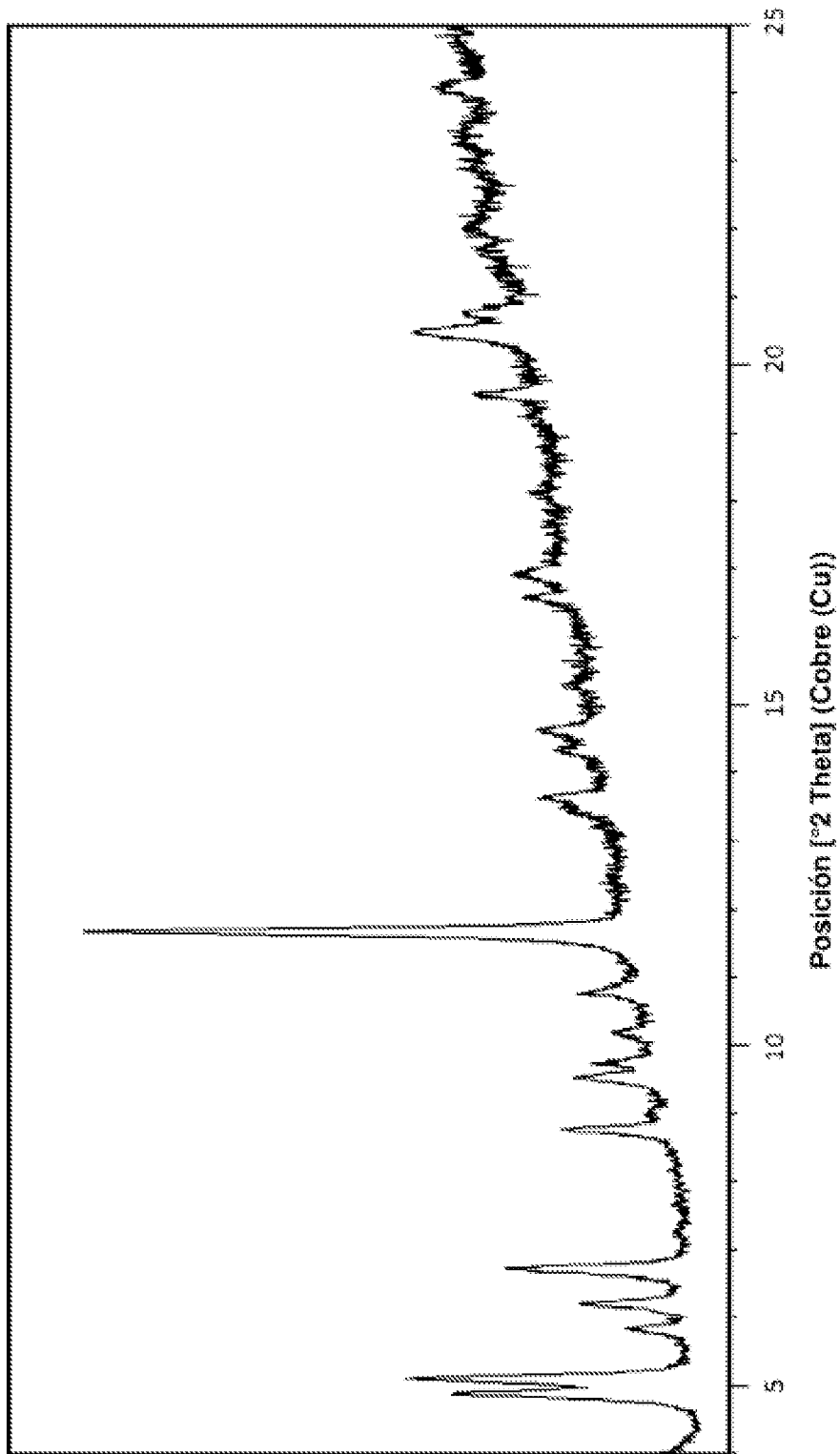


FIGURA 12

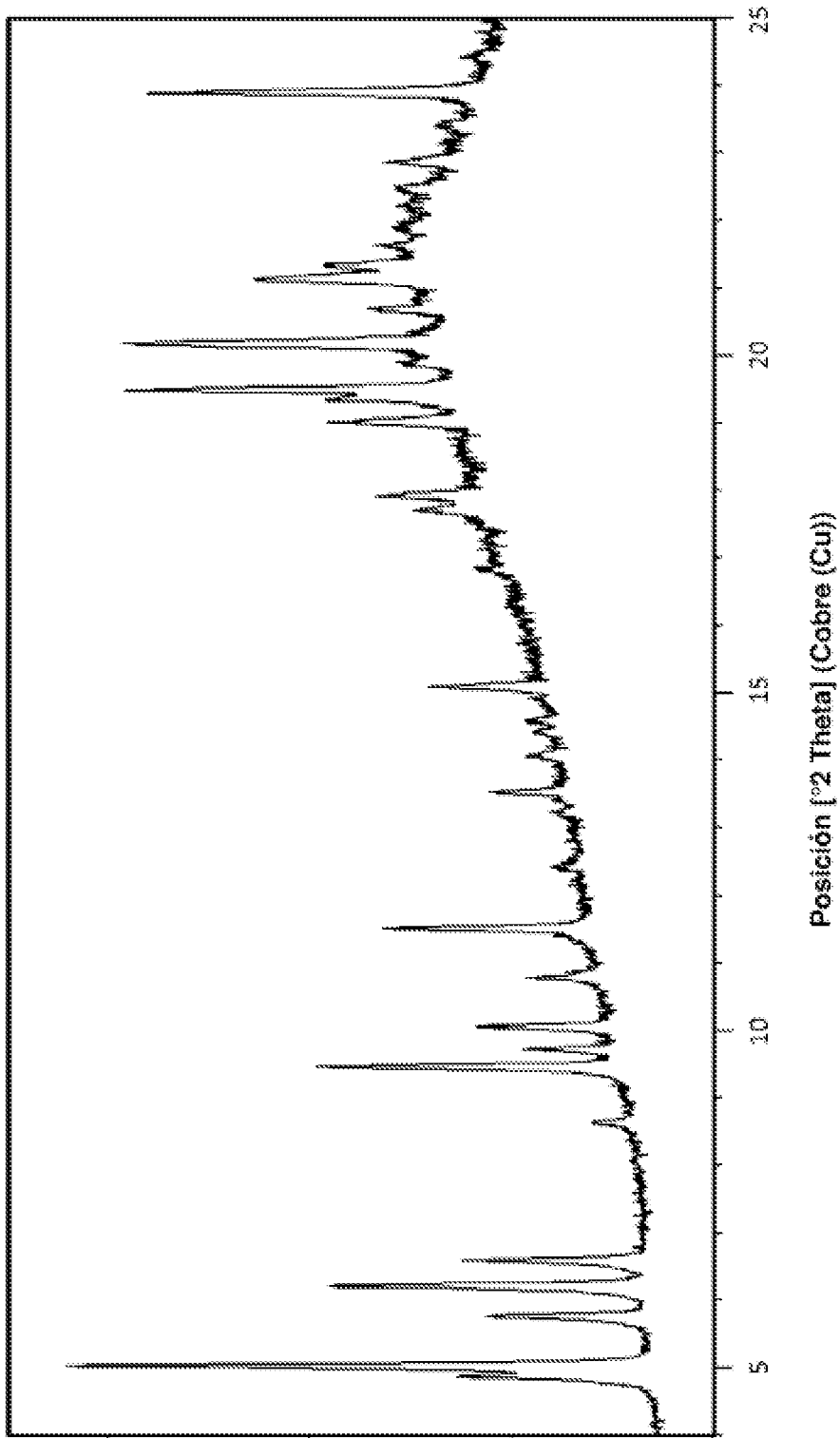


FIGURA 13

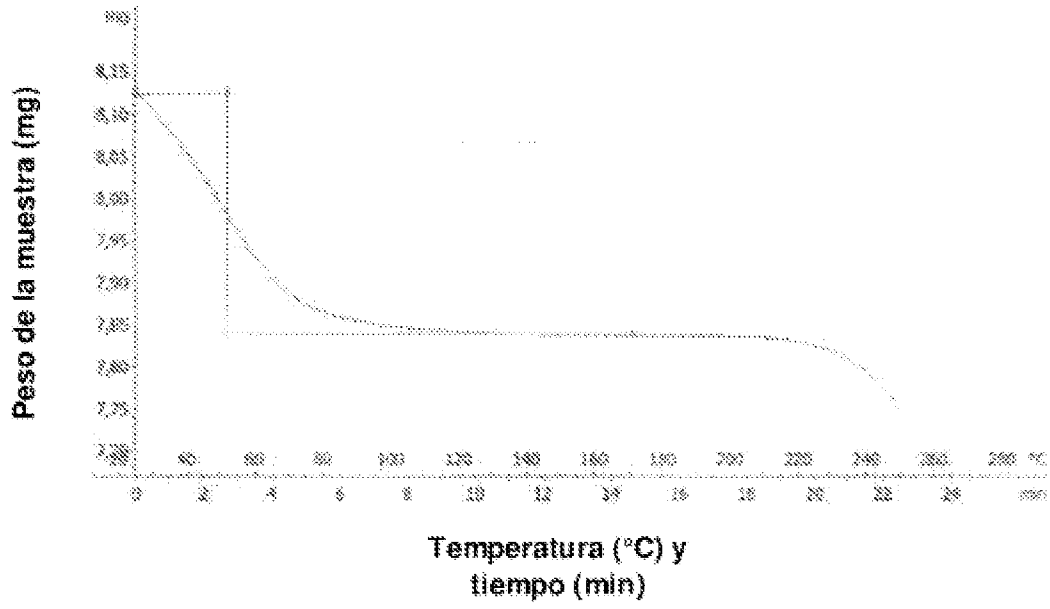


FIGURA 14

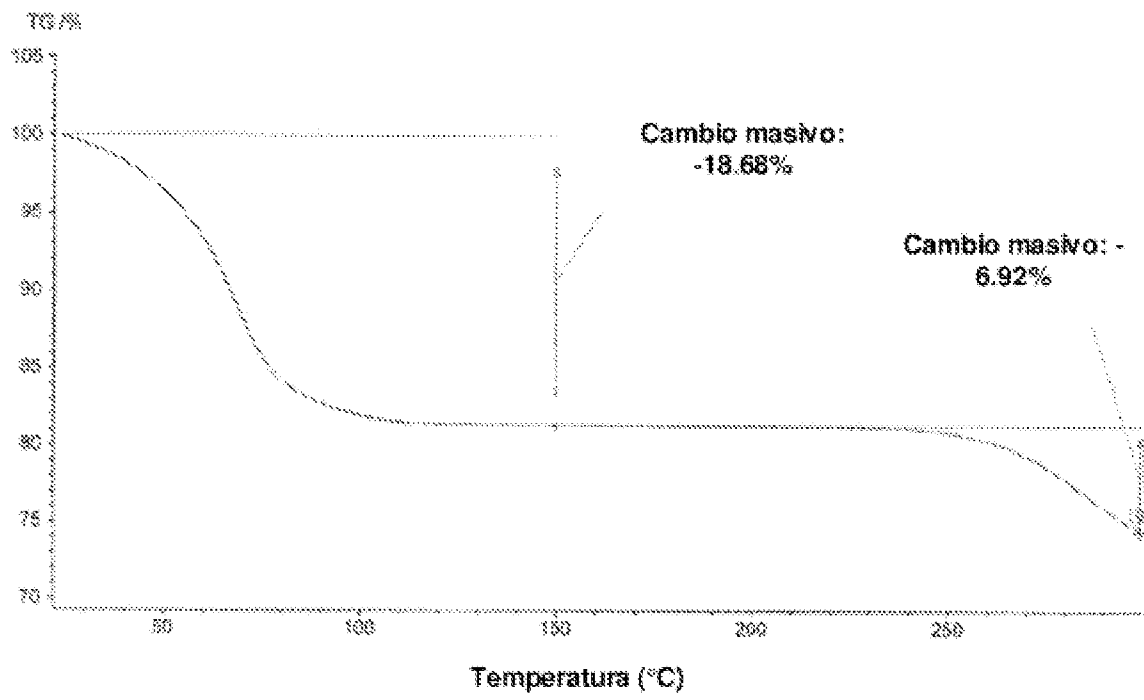


FIGURA 15

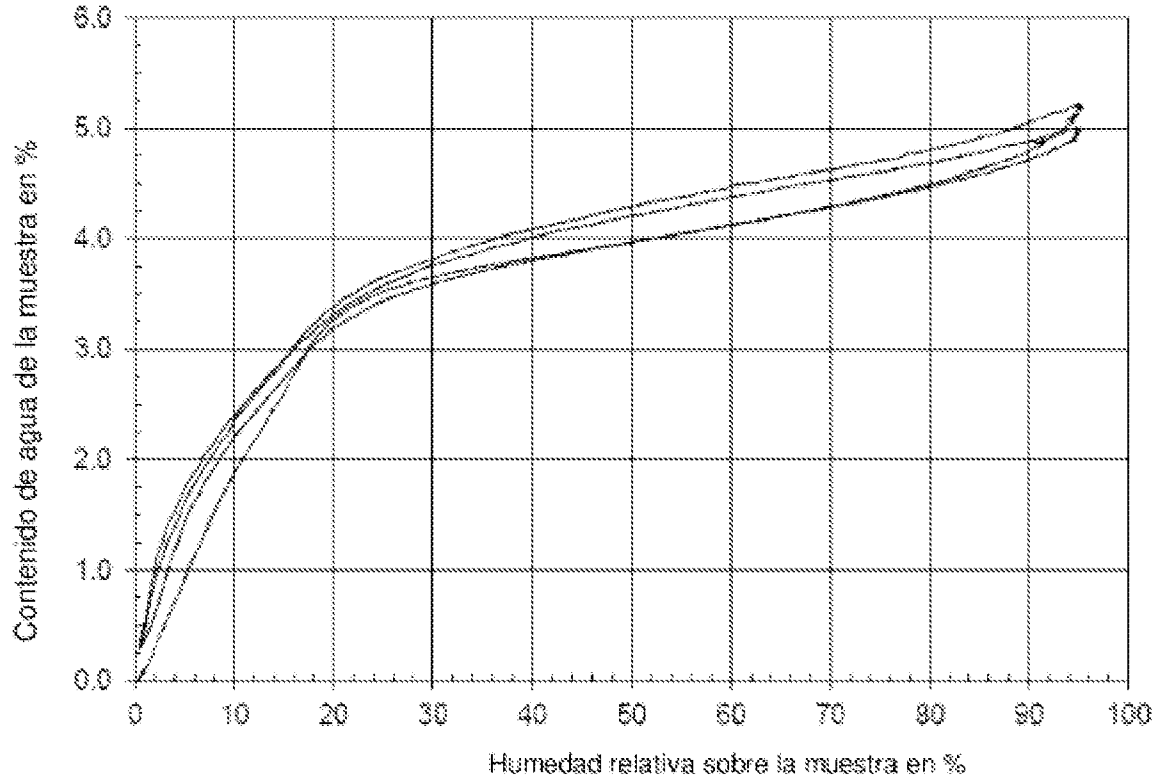


FIGURA 16

