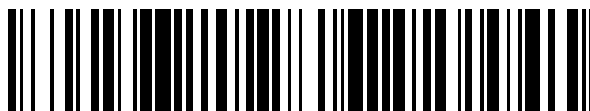


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 627 745**

51 Int. Cl.:

C12N 15/113 (2010.01)

A61K 31/7088 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.11.2009** **PCT/EP2009/008087**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.05.2010** **WO10054826**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.11.2009** **E 09756431 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.03.2017** **EP 2364360**

54 Título: **Composiciones antisentido, y procedimientos de fabricación y uso de las mismas**

30 Prioridad:

13.11.2008 EP 08425727

13.02.2009 US 152297 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.07.2017

73 Titular/es:

NOGRA PHARMA LIMITED (100.0%)

33 Sir John Rogerson's Quay

Dublin 2, IE

72 Inventor/es:

BARONI, SERGIO;

BELLINVIA, SALVATORE y

VITI, FRANCESCA

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 627 745 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

Composiciones antisentido, y procedimientos de fabricación y uso de las mismas

Antecedentes

- 5 La colitis ulcerativa y la enfermedad de Crohn, son las formas principales de enfermedades inflamatorias del intestino (IBD) crónicas en humanos. La enfermedad inflamatoria del intestino, es una respuesta inmunitaria inadecuada que ocurre en individuos genéticamente susceptibles como resultado de una interacción compleja entre factores ambientales, factores microbianos y el sistema intestinal inmunitario. Se ha demostrado que la respuesta inmunitaria excesiva a los antígenos de las mucosas, controlada inadecuadamente por los mecanismos contrarreguladores normales, lleva a inflamación intestinal crónica.
- 10 La enfermedad de Crohn es una enfermedad inflamatoria recurrente crónica del tracto gastrointestinal, caracterizada por inflamación transmural segmental y cambios granulomatosos. Las presentaciones típicas incluyen el envolvimiento discontinuo de diversas porciones del tracto gastrointestinal y el desarrollo de complicaciones que incluyen estenosis, abscesos o fistulas. Debido a que su causa es desconocida, el manejo médico de la enfermedad de Crohn es principalmente empírico, y se diseña para reducir la inflamación. La terapia médica incluye
- 15 corticosteroides, antibióticos, fármacos inmunosupresores y agentes anti-TNF α . Debido a las fallas terapéuticas y a los efectos secundarios serios de las presentes terapias, se necesitan alternativas.

- Una función importante en la patogénesis de la IBD es desempeñada por el TGF- β 1, una citoquina multifuncional capaz de regular el crecimiento, diferenciación y función de las células inmunitarias y no inmunitarias. Se considera que una capacidad disminuida para montar una respuesta contrarreguladora eficiente del TGF- β 1 a los estímulos
- 20 inflamatorios, será relevante en la patogénesis de enfermedades tales como la IBD. El TGF- β 1 actúa como un regulador negativo potente de la inflamación de las mucosas, y que la inhibición de su actividad resulta en el desarrollo de colitis que muestra similitudes inmunomorfológicas con la enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa.

- En el intestino inflamado de los pacientes con IBD, existe una notable sobreexpresión de Smad7 (una proteína que sirve como sustrato para los receptores del TGF- β 1) y una reducción de la fosforilación de Smad3, una etapa crucial
- 25 en la transducción de señales mediada por el TGF- β 1. De esta manera, en la IBD, los altos niveles de Smad7 pueden llevar a una señalización defectuosa del TGF- β 1, que resulta en una sobreexpresión de los genes de las moléculas proinflamatorias, y el TGF- β 1 no ejerce su función antiinflamatoria.

- Los fármacos de oligodesoxinucleótidos antisentido, son cadenas cortas de nucleótidos de ADN que inhiben la traducción de proteínas uniéndose específicamente a un pequeño segmento de ARN mensajero (ARNm)
- 30 responsable de dirigir la producción de proteínas que provocan enfermedad. La secuencia de un fármaco antisentido se diseña para ser complementaria a su ARNm objetivo de tal manera que, luego de hibridación, el segmento de doble cadena resultante se reconoce por la célula como anormal y se destruye, previniendo de esta manera la traducción del mensaje en la proteína producto.

- Sin embargo, normalmente se administran productos terapéuticos antisentido por vía parenteral, que pueden llevar a reacciones adversas debido a efectos sistémicos. Dicha administración también puede ser incapaz de localizarse en el sitio de tratamiento necesario. Por lo tanto, subsiste la necesidad de una aplicación tipo tópica de tratamientos antisentido para el tratamiento de la IBD y enfermedades relacionadas, utilizando formulaciones basadas en comprimidos.

Resumen

- 40 Esta divulgación se dirige a formulaciones de comprimidos farmacéuticos para administración oral de oligonucleótidos antisentido como se establece en las reivindicaciones adjuntas.

- En una realización, se proporciona una formulación de comprimido farmacéutico para administración oral de un oligonucleótido antisentido que comprende una fase intragranular, en la que la fase intragranular incluye un oligonucleótido antisentido representado por la SEQ ID NO 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (tal
- 45 como una sal de sodio), y una carga farmacéuticamente aceptable, y una fase extragranular, que comprende un desintegrante; y un recubrimiento entérico que comprende un copolímero de etilacrilato-ácido metacrílico, en el que cuando se prueba en un aparato USP/EP Tipo 2 (pala) a 100 rpm y 37°C en un regulador de fosfato con un pH de 6,6 no más de aproximadamente 50 % de la cantidad del oligonucleótido antisentido se libera de la formulación de comprimido farmacéutico durante un periodo de 30 minutos y cuando se prueba en un aparato USP/EP Tipo 2 (pala)
- 50 a 100 rpm y 37°C en HCl diluido con un pH de 1,0 sustancialmente ninguna cantidad de oligonucleótido antisentido se libera de la formulación de comprimido farmacéutico durante un periodo de 120 minutos, y en el que la formulación suministra el compuesto antisentido al íleon terminal y colón derecho de un paciente.

Los oligonucleótidos contemplados incluyen aquellos representados por la SEQ ID NO 1, en la que por lo menos uno, o en ciertas realizaciones, todos, los enlaces de internucleótidos son fosforotioatos O,O-ligados.

La presente divulgación proporciona un comprimido que incluye un oligonucleótido antisentido divulgado, y comprende un recubrimiento entérico. Dicho comprimido incluye una carga, un desintegrante, y puede incluir un lubricante. Por ejemplo, se proporciona en la presente memoria una forma de dosis oral como se establece en las reivindicaciones, tal como un comprimido, que comprende aproximadamente 35 mg a aproximadamente 500 mg del oligonucleótido antisentido, por ejemplo 40 mg de un oligonucleótido representado por la SEQ ID NO 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, se proporciona en la presente memoria un comprimido para uso oral que comprende: 0,5 % a 10 % en peso de un oligonucleótido antisentido representado por la SEQ ID NO 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; 30 % a 50 % en peso de manitol; y 10 % a 30 % en peso de celulosa microcristalina.

Por ejemplo, la divulgación proporciona un comprimido farmacéuticamente aceptable para uso oral como se establece en las reivindicaciones, que comprende una fase intragranular y fase extragranular, en la que por ejemplo, la fase intragranular comprende 5 % a 10 %, en peso (por ejemplo aproximadamente 8 % en peso) de un oligonucleótido antisentido representado por la SEQ ID NO 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, aproximadamente 40 % en peso de manitol, aproximadamente 8 % en peso de celulosa microcristalina, aproximadamente 5 % en peso de hidropilmetil celulosa, y aproximadamente 2 % en peso de glicolato de almidón sodio, y por ejemplo, la fase extragranular comprende aproximadamente 17 % en peso de celulosa microcristalina, aproximadamente 2 % en peso de glicolato de almidón sodio, y aproximadamente 0,4 % en peso de estearato de magnesio, en el que el comprimido comprende un recubrimiento entérico.

También se proporcionan en la presente memoria formulaciones de comprimidos farmacéuticos para uso en el tratamiento de enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, y enfermedad inflamatoria del intestino crónica. La formulación de comprimido farmacéutico se puede administrar a un paciente en necesidad del mismo. Por ejemplo, luego de administrar por vía oral la formulación de comprimido farmacéutico, a un paciente, la formulación farmacéutica, sustancialmente suministra el compuesto antisentido al íleon terminal y colon derecho del paciente.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 representa la estructura molecular de un compuesto antisentido, divulgado en la presente memoria como AS 1.

La Figura 2 es un esquema del proceso de fabricación para AS 1.

La Figura 3 es una gráfica de barras que representa la distribución de tamaño de partícula para la concentración de dosis de 3,5 mg de AS1.

La Figura 4 es una gráfica de barras que representa la distribución de tamaño de partícula para la concentración de dosis de 35 mg de AS1.

La Figura 5 es una gráfica de barras que representa la distribución de tamaño de partícula para la concentración de dosis de 250 mg de AS1.

La Figura 6 es una gráfica lineal que presenta los perfiles de disolución (como un porcentaje de comprimido disuelto) para tres comprimidos con concentraciones de dosis diferentes de AS1 en tres medios diferentes (pH 1,0, pH 6,6, y pH 7,2).

La Figura 7 representa el perfil de disolución de un lote descrita en la presente memoria.

Descripción detallada

La presente divulgación en general se dirige a composiciones farmacéuticas como se establece en las reivindicaciones que incluyen un oligonucleótido antisentido, tal como aquel representado en la Figura 1. Las composiciones contempladas incluyen oligonucleótidos que actúan contra Smad7, y se administran por vía oral. Las composiciones divulgadas, cuando se administran por vía oral, suministran una cantidad efectiva de un oligonucleótido antisentido al sistema intestinal de un paciente, específicamente una cantidad efectiva de un oligonucleótido antisentido se suministra al íleon terminal y colon derecho de un paciente.

Los oligonucleótidos antisentido contemplados incluyen aquellos que comprenden la SEQ ID NO: 1 GTC* GCC CCT TCT CCC C*GC AGC, en la que C* representa 5-metil-2'-desoxicidina. En algunas realizaciones, por lo menos uno

de los enlaces de internucleótidos de un oligonucleótido antisentido contemplado es un fosforotioato O,O-ligado, por ejemplo, cada uno de los 20 enlaces de internucleótidos de la SEQ ID NO: 1 puede ser un fosforotioato O,O-ligado. En algunas realizaciones, las composiciones contempladas divulgadas en la presente memoria pueden incluir una sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo una sal de sodio del oligonucleótido antisentido de la SEQ ID NO: 1, que opcionalmente puede incluir 1 a 20 enlaces de internucleótidos de fosforotioato O,O-ligado. Las sales contempladas de oligonucleótidos incluyen aquellas que se neutralizan completamente, por ejemplo, cada enlace de fosforotioato se asocia con un ión tal como Na^+ . Los oligonucleótidos pueden incluir nucleobases de origen natural, azúcares, y enlaces de internucleosido covalente (estructura principal) así como también porciones de origen no natural. Un oligonucleótido antisentido de ejemplo, mencionado en la presente memoria como AS 1, se muestra en la Figura 1.

Se contempla en la presente memoria composiciones adecuadas para el suministro oral de un oligonucleótido antisentido, específicamente, comprimidos, que incluyen un recubrimiento entérico, por ejemplo, un recubrimiento gastrorresistente, de tal manera que las composiciones pueden suministrar el compuesto antisentido a, por ejemplo, el íleon terminal y colon derecho de un paciente. Por ejemplo, dicha administración puede resultar en un efecto tópico, al aplicar sustancial y tópicamente el compuesto antisentido directamente a una porción afectada del intestino de un paciente. En algunas realizaciones, dicha administración puede evitar sustancialmente la absorción sistémica no deseada del compuesto antisentido.

Por ejemplo, se proporciona un comprimido para administración oral que comprende gránulos (por ejemplo, se forma por lo menos parcialmente de gránulos) que incluyen un compuesto antisentido divulgado, por ejemplo, AS1, y excipientes farmacéuticamente aceptables. Dicho comprimido se puede recubrir con un recubrimiento entérico. Los comprimidos contemplados pueden incluir excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como cargas, aglutinantes, desintegrantes y/o lubricantes, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, saborizantes tales como gaulteria, naranja, xilitol, sorbitol, fructosa y maltodextrina, y agentes de perfume, conservantes y/o antioxidantes.

Las formulaciones farmacéuticas contempladas en la presente memoria incluyen una fase intragranular que incluye un compuesto antisentido contemplado, por ejemplo, aquel representado en la SEQ ID NO: 1, o una sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, AS1, y una carga farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, AS1 y una carga se pueden mezclar juntos, con opcionalmente otros excipientes, y formados en gránulos. En algunas realizaciones, la fase intragranular se puede formar utilizando granulación en húmedo, por ejemplo, un líquido (por ejemplo, agua) se agrega al compuesto antisentido mezclado y carga, y luego la combinación se seca, se muele y/o se tamiza para producir gránulos. El experto en la técnica entendería que se pueden utilizar otros procesos para obtener una fase intragranular.

Las formulaciones contempladas incluyen una fase extragranular, la cual puede incluir uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, y la cual se puede mezclar con la fase intragranular para formar una formulación divulgada.

Una formulación divulgada incluye una fase intragranular que incluye una carga. Ejemplos de cargas incluyen, pero no se limitan a, celulosa, gelatina, fosfato de calcio, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, sorbitol, celulosa microcristalina, pectina, poliacrilatos, dextrosa, acetato de celulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, almidón parcialmente pregelatinizado, carbonato de calcio, y otros que incluyen combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, una formulación divulgada puede incluir una fase intragranular y/o una fase extragranular que incluye un aglutinante, que puede funcionar generalmente para mantener juntos los ingredientes de la formulación farmacéutica. Aglutinantes de ejemplo pueden incluir, pero no se limitan a, los siguientes: almidones, azúcares, celulosa o celulosa modificada tal como hidroxipropilcelulosa, lactosa, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona, hidroxipropil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, hidroxipropil celulosa poco sustituida, carboximetil celulosa de sodio, metil celulosa, etil celulosa, alcoholes de azúcar, y otros que incluyen combinaciones de los mismos.

Las formulaciones contempladas, incluyen una fase intragranular y/o una fase extragranular, pueden incluir un desintegrante tal como, pero no limitado a, almidón, celulosa, polivinilpirrolidona entrelazada, almidón glicolato de sodio, carboximetil celulosa de sodio, alginatos, almidón de maíz, croscarmelosa de sodio, carboximetil celulosa entrelazada, hidroxipropil celulosa poco sustituida, acacia, y otros que incluyen combinaciones de los mismos. Por ejemplo, una fase intragranular y/o una fase extragranular, pueden incluir un desintegrante.

En algunas realizaciones, una formulación contemplada incluye una fase intragranular que comprende un compuesto antisentido divulgado y excipientes seleccionados de: manitol, celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa y almidón glicolato de sodio, o combinaciones de los mismos, y una fase extragranular que comprende uno o más de: celulosa microcristalina, almidón glicolato de sodio y estearato de magnesio, o mezclas de los mismos.

En algunas realizaciones, una formulación contemplada puede incluir un lubricante, por ejemplo, una fase extragranular puede contener un lubricante. Los lubricantes incluyen, pero no se limitan a, talco, sílice, grasas, estearina, estearato de magnesio, fosfato de calcio, dióxido de silicio, silicato de calcio, fosfato de calcio, dióxido de silicio coloidal, estearatos metálicos, aceite vegetal hidrogenado, almidón de maíz, benzoato de sodio, polietilenglicoles, acetato de sodio, estearato de calcio, lauril sulfato de sodio, cloruro de sodio, lauril sulfato de magnesio, talco y ácido esteárico.

La formulación farmacéutica como se establece en las reivindicaciones comprende un recubrimiento entérico. En general, los recubrimientos entéricos crean una barrera para la medicación oral que controla la ubicación en la cual el fármaco se absorbe a lo largo del tracto digestivo. Los recubrimientos entéricos pueden incluir un polímero que se desintegra a diferentes velocidades de acuerdo con el pH. Los recubrimientos entéricos pueden incluir, por ejemplo, ftalato-acetato de celulosa, copolímeros de acrilato de metilo-ácido metacrílico, succinato acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetil celulosa, copolímeros de metacrilato de metilo-ácido metacrílico, copolímeros de acrilato de etilo-ácido metacrílico, copolímero tipo C de ácido metacrílico, ftalato-acetato de polivinilo y ftalato acetato de celulosa.

Recubrimientos entéricos de ejemplo incluyen los grados Opadry® AMB, Acryl-EZE®, Eudragit®. En algunas realizaciones, un recubrimiento entérico puede comprender 5 % a 10 %, 5 % a 20 %, 8 a 15 %, 8 % a 18 %, 10 % a 12 %, o 12 a 16 %, de un comprimido en peso contemplado. Los recubrimientos entéricos incluyen un copolímero de acrilato de etilo-ácido metacrílico.

Por ejemplo, se proporciona un comprimido que comprende o consiste esencialmente de 0,5 % a 70 %, por ejemplo 0,5 % a 10 %, o 1 % a 20 %, en peso de un oligonucleótido antisentido o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo AS1). Dicho comprimido puede incluir por ejemplo, 0,5 % a 60 % en peso de manitol, por ejemplo 30 % a 50 % en peso de manitol, por ejemplo aproximadamente 40 % en peso de manitol; y/o 20 % a 40 % en peso de celulosa microcristalina, o 10 % a 30 % en peso de celulosa microcristalina. Por ejemplo, un comprimido divulgado puede incluir una fase intragranular que incluye 30 % a 60 %, por ejemplo 45 % a 65 % en peso, o alternativamente, 5 a 10 % en peso de AS1, 30 % a 50 %, o alternativamente, 5 % a 15 % en peso de manitol, 5 % a 15 % celulosa microcristalina, 0 % a 4 %, o 1 % a 7 % hidroxipropilmetilcelulosa, y 0 % a 4 %, por ejemplo 2 % a 4 % glicolato de almidón sodio en peso.

Las formulaciones de ejemplo incluyen formas de dosificación que incluyen o consisten esencialmente de 35 mg a 500 mg de AS1, por ejemplo, se contemplan en la presente memoria comprimidos que incluyen aproximadamente 35 mg, 40 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, o 250 mg de AS1.

En una realización de ejemplo, se proporciona un comprimido farmacéuticamente aceptable para administración oral que incluye una fase intragranular que puede incluir aproximadamente 50 % en peso de AS1 (o sal del mismo), aproximadamente 11,5 % en peso de manitol, aproximadamente 10 % en peso de celulosa microcristalina, aproximadamente 3 % en peso de hidroxipropilmetilcelulosa, y aproximadamente 2,5 % en peso de glicolato de almidón sodio; y una fase extragranular que puede incluir aproximadamente 20 % en peso de celulosa microcristalina, aproximadamente 2,5 % en peso de glicolato de almidón sodio, y aproximadamente 0,5 % en peso de estearato de magnesio. El comprimido también incluye un recubrimiento entérico como se establece en las reivindicaciones.

En otra realización de ejemplo, se proporciona un comprimido farmacéuticamente aceptable para administración oral que incluye o consiste esencialmente de: una fase intragranular que puede incluir o consistir esencialmente de 5 % a 10 %, por ejemplo, aproximadamente 8 % en peso de AS1 (por ejemplo en el que los enlaces de internucleótidos con cada uno fosforotioatos O,O-ligados, y/o sales de los mismos, por ejemplo una sal de sodio), aproximadamente 40 % en peso de manitol, aproximadamente 8 % en peso de celulosa microcristalina, aproximadamente 5 % en peso de hidroxipropilmetilcelulosa, y aproximadamente 2. % en peso de glicolato de almidón sodio; y una fase extragranular que puede incluir aproximadamente 17 % en peso de celulosa microcristalina, aproximadamente 2 % en peso de glicolato de almidón sodio, y aproximadamente 0,4 % en peso de estearato de magnesio.

Los comprimidos divulgados también incluyen un recubrimiento entérico como se establece en las reivindicaciones, por ejemplo, un comprimido divulgado puede incluir aproximadamente 13 %, aproximadamente 15 %, 16 %, 17 % en peso de un recubrimiento entérico, por ejemplo AcrylEZE®.

La velocidad en cuyo punto se disuelve el recubrimiento y se libera el ingrediente activo es su velocidad de disolución. En una realización, un comprimido contemplado puede tener un perfil de disolución, por ejemplo cuando se prueba en un aparato USP/EP Tipo 2 (pala) a 100 rpm y 37 °C en un regulador de fosfato con un pH de 7,2, de aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 % del oligonucleótido que se libera después de aproximadamente 120 minutos a aproximadamente 240 minutos, por ejemplo después de 180 minutos. El comprimido contemplado tiene un perfil de disolución, cuando se prueba en un aparato USP/EP Tipo 2 (pala) a 100 rpm y 37 °C en HCl diluido con un pH de 1,0, en el que sustancialmente no se libera nada del oligonucleótido después de 120 minutos y un perfil de disolución, cuando se prueba en aparato USP/EP Tipo 2 (pala) a 100 rpm y 37 °C en un regulador de fosfato

con un pH de 6,6, de 10 % a 30 %, o no más de aproximadamente 50 %, del oligonucleótido se libera después de 30 minutos.

Las formulaciones divulgadas cuando se administran por vía oral al paciente pueden resultar en mínima concentración en plasma del oligonucleótido en el paciente. Las formulaciones divulgadas, cuando se administran por vía oral a un paciente, se suministran de forma tópica al íleon terminal y colón derecho de un paciente, por ejemplo a un sitio intestinal afectado o enfermo de un paciente.

También se proporcionan en la presente memoria formulaciones de comprimidos farmacéuticos como se establece en las reivindicaciones para uso en el tratamiento de enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, y/o enfermedad inflamatoria del intestino crónica.

10 Ejemplos

Se pretende que los siguientes ejemplos de ninguna manera limiten el alcance de esta invención, sino que se proporcionan para ilustrar los procedimientos de la presente invención. Muchas otras realizaciones de esta invención serán evidentes para un experto en la técnica.

Ejemplo 1 - Comprimidos

Se prepararon gránulos en húmedo al suministrar cada componente intragranular en un contenedor adecuado. Todos los materiales intragranulares se tamizaron a través de un tamiz de 710 μm y se mezclaron en un tazón de procesador de alimentos durante alrededor de 5 minutos. Se agregó lentamente fluido de granulación acuoso utilizando una jeringa. La masa húmeda se hizo pasar a través de un tamiz manual de 2,00 mm, y se secó en un horno a 40°C por hasta 90 minutos. Después del secado, los gránulos se tamizaron a través de un tamiz manual de 1,00 mm. Se utilizó un mortero y pistilo para reducir el tamaño de los gránulos gruesos. Los gránulos se mezclaron con los excipientes extragranulares, excepto estearato de magnesio, utilizando un mezclador Turbula durante 10 minutos a 42 rpm. Se agregó estearato de magnesio a la mezcla, y se mezcló adicionalmente durante 2 minutos a 42 rpm. Se comprimieron formulaciones sobre una máquina de compresión de punzón individual Manesty F3. Un diagrama de flujo del procedimiento de fabricación general para los comprimidos de ASI, se puede ver en la Figura 2.

La formulación de concentración de dosis de 250 mg a base de manitol elaborada a un tamaño de lote de 50 g tiene un contenido de humedad de la mezcla seca de 5,21 % y un contenido de humedad de los gránulos secos de 6,42 %. La formulación de concentración de dosis de 250 mg a base de manitol tiene 5,0 g de agua agregada, un tiempo de granulación de 4 minutos, y un tiempo de secado de 60 minutos.

La concentración de dosis de 35 mg a base de manitol elaborada a un tamaño de lote de 100 g tiene un contenido de humedad de 2,35 % para los gránulos secos, se agregó 28 g de agua, 6 minutos de tiempo de granulación, y tiene un tiempo de secado de 65 minutos.

Los resultados de IPC de compresión para las formulaciones de concentración de dosis de 250 mg a base de manitol son como sigue: peso promedio de 453,0 mg, una dureza de 18,0 Kp, un espesor de 3,82 mm, una friabilidad de 0,23 %, y una desintegración de 17 minutos.

La Tabla 1A incluye composiciones de comprimido para tres concentraciones de dosis: 3,5 mg, 35 mg, y 250 mg. El peso del comprimido fue 500 mg para todas las formulaciones.

Tabla 1A:

Materiales	3,5 mg (% p/p)	35 mg (% p/p)	250 mg (% p/p)
Intragranular			
AS1 activo	0,7	7,0	50,0
Manitol	57,8	51,5	11,5
Celulosa microcristalina	10,0	10,0	10,0

Materiales	3,5 mg (% p/p)	35 mg (% p/p)	250 mg (% p/p)
Hidroxipropilmetil celulosa	6,0	6,0	3,0
Glicolato almidón de sodio	2,5	2,5	2,5
Extragranular			
Celulosa microcristalina	20,0	20,0	20,0
Glicolato almidón de sodio	2,5	2,5	2,5
Estearato de magnesio	0,5	0,5	0,5
Total	100,0	100,0	100,0

Tabla 1B indica compuesto de lotes de núcleo de estas tres concentraciones:

Materiales % p/p	Lote 1	Lote 2	Lote 3
Tamaño de lote (unidades)	630	862	376
Intragranular			
AS1 activo	7,0	50,0	62,5 (corregido a la potencia, equivalente a 40 % p/p de AS1 puro)
Manitol	51,5	11,5	1,7
Celulosa microcristalina	10,0	10,0	7,3
Hidroxipropilmetil celulosa	6,0	6,0	3,0
Glicolato almidón de sodio	2,5	2,5	2,5
Extragranular			
Celulosa microcristalina	20,0	20,0	20,0
Glicolato almidón de sodio	2,5	2,5	2,5
Estearato de magnesio	0,5	0,5	0,5
Total	100,0	100,0	100,0

Ejemplo 2 - Caracterización del polvo

- 5 Se evaluaron formulaciones para distribución de tamaño de partícula, densidad, índice de Carr y ángulo de reposo. El análisis de partículas indicó que las partículas son de tamaño más grande (335 µm) para la formulación de concentración de dosis de 3,5 mg, mientras que las formulaciones de concentración de dosis de 35 mg y 250 mg exhibieron distribución de tamaño de partícula usual. La Figura 3 representa la distribución de tamaño de partícula para la concentración de dosis de 3,5 mg, con la composición indicada en la tabla 1. La Figura 4 representa la
- 10 distribución de tamaño de partícula de la concentración de dosis de 35 mg, con la composición indicada en la tabla 1. Por último, la figura 5 representa la distribución de tamaño de partícula para la concentración de dosis de 250 mg,

con la composición como se indica en la tabla 1. La tabla 2 muestra los resultados de la caracterización del polvo para las tres concentraciones de dosis.

Tabla 2:

Propiedades	3,5 mg	35 mg	250 mg
Ángulo de reposo (°)	39,5	36,5	35,0
Densidad aparente vertida (g.cm ⁻³)	0,069	0,62	0,63
Densidad aparente (g.cm ⁻³)	0,75	0,72	0,72
Índice de compresibilidad de Carr (%)	8,0	13,9	12,5
Tamaño medio de partícula (µm)	335	219	199

5 Ejemplo 3 - Recubrimiento entérico

Se preparó una solución de recubrimiento al 20 % para recubrimientos Acryl-EZE®. Las cantidades requeridas de agua y Acryl-EZE® se suministraron en contenedores adecuados. Al mezclar, se agregó lentamente Acryl-EZE® al vórtice. La dispersión se agitó durante 45 minutos y se hizo pasar a través de un tamiz de 500 µm. La aspersión se continuó hasta que se obtuvo una ganancia en peso de 10 % o 16 %.

10 Ejemplo 4 - Comprimidos de 40 mg

Se representa a continuación una fórmula de lote para comprimidos de AS1 de 40 mg:

Materiales	% p/p	g
Intragranular		
AS1 activo	8,02 % (*)	188,66
Manitol	40,47 % (*)	952
Celulosa microcristalina	8,29 %	195
Hidroxipropilmetilcelulosa	4,97 %	117
Glicolato almidón de sodio	2,07 %	48,75
Extragranular		
Celulosa microcristalina	16,58 %	390
Glicolato almidón de sodio	2,07 %	48,8
Estearato de magnesio	0,42 %	9,8
Opadry ® AMB	3,32 %	78
AcrylEZE®	13,79 %	324,5
Total	100,0	100,0

Material	% p/p	g
* Se aplica corrección a la potencia para tener en cuenta la humedad y pureza API; el manitol se ajusta de acuerdo con lo anterior		

Ejemplo 5 - Formulación de comprimido de 200 mg

Un comprimido de AS1 a concentración de dosis de 200 mg, se fabricó siguiendo generalmente el procedimiento del Ejemplo 1, como se muestra en la tabla 4. El peso del comprimido para todas las formulaciones fue de 500 mg.

5

Tabla 4: Composición de la formulación a concentración de dosis de 200 mg

Material	Concentración de dosis de 200 mg(% p/p)
Intragranular	
AS1 activo	62,5
Manitol	1,7
Celulosa microcristalina	7,3
Hidroxipropilmetil celulosa	3,0
Glicolato almidón de sodio	2,5
Extragranular	
Celulosa microcristalina	20,0
Glicolato almidón de sodio	2,5
Estearato de magnesio	0,5

Ejemplo 6 - Procedimiento de disolución de HPLC

Este procedimiento de prueba analítico describe un análisis de disolución de comprimidos con recubrimiento entérico de AS1 mediante HPLC. Se realiza la disolución siguiendo el procedimiento de la Farmacopea Europea para formas de dosificación sólidas de liberación retardada, utilizando el Procedimiento A. El aparato utilizado fue el aparato Ph. Eur./USP 2 (pala).

10

Las condiciones de disolución para el HPLC, son las siguientes: 5 el medio consiste de HCl pH 1,0 (120 minutos), pH 6,6 (30 minutos), pH 7,2 (60 minutos); una temperatura de 37°C; una velocidad de 100 rpm; muestra para recirculación de 7,5 ml, tamaño de muestra de 0,8 ml; tiempos de muestreo de 120 minutos en HCl pH 1,0, 15, 30 minutos pH 6,6, 15, 30, 45, 60 minutos pH 7,2; y un filtro en línea Disteck de 45 µm.

15

El medio se ajustó en cada recipiente durante la disolución en cada estado, como sigue: el volumen inicial fue de 750 ml de HCl pH 1,0; a 120 minutos, se agregaron 200 ml de Na₃PO₄ 0,2 M y 30 ml de Na₂HPO₄ 1.0 M pH 6,7, seguido por el ajuste del pH a pH 6,60±0,05 con NaOH 2,0 M; a 150 minutos, seguido del ajuste del pH a 7,20±0,05 con NaOH 2,0 M.

20

Las condiciones cromatográficas, son las siguientes: una columna analítica para HPLC Dionex, DNAPac-100, 4 x 250 mm; una tasa de flujo de 2,0 ml/min; una temperatura de columna de 80°C; detección de luz UV a 260 nm; un volumen de inyección de 100 µl; un lavado con aguja de agua; una fase móvil de A) acetonitrilo al 10 % en v/v en Tris 100 mM (pH 8,0), y B) acetonitrilo al 10 % en v/v en Tris 100 mM y LiCl 2 M (pH 8,0); un tiempo de ejecución de HPLC de 15 minutos; y un periodo de elución de AS1 a aproximadamente 6 minutos. El gradiente se presenta en la tabla 6.

25

Tabla 6

Tiempo (min)	Flujo(ml/min)	% de A	% de B	Curva
Inicial	2,0	70	30	-
6,0	2,0	0	100	6
10,0	2,0	0	100	6
11,0	2,0	70	30	6

Preparación de soluciones estándar de trabajo para comprimidos de 35 mg: se colocaron 12,5 mg del estándar de referencia AS1 en un matraz volumétrico de 50 ml, y se disolvieron con agua para elaborar una solución de 50 ml. Se diluyeron 7 ml de la solución con agua para elaborar una solución de 50 ml, proporcionando una concentración final de AS1 de 0,035 mg/ml.

Preparación de soluciones estándar de trabajo para comprimidos de 250 mg: se colocaron 12,5 mg de AS1 en un matraz volumétrico de 50 ml, y se disolvieron con agua hasta un volumen de 50 ml, produciendo una concentración final de AS1 de 0,25 mg/ml.

La tabla 5 presenta los resultados de disolución para los lotes de 35 mg, 250 mg y 200 mg, con un recubrimiento de Acryl-EZE® de ganancia de peso de 12 %. La Figura 6 es una gráfica de los perfiles de disolución para comprimidos con tres tamaños de dosis de formulaciones de AS1 en tres medios diferentes.

Tabla 5

	% de AS1 Disuelto			
Tiempo (min):	120	150	180	210
Medios:	pH 1,0	pH 6,6	pH 7,2	pH 7,2
35 mg (lote 1)	0,0	51,0	80,0	81,0
250 mg (lote 2)	0,0	62,0	78,0	78
200 mg (lote 3)	0,0	46,0	97,0	98,0

Se elaboraron comprimidos con 16 % de recubrimiento de Acryl-EZE® utilizando comprimidos como se describió anteriormente en el Lote 1, y se lleva a cabo el recubrimiento final hasta que la ganancia de peso de los comprimidos en el recipiente de recubrimiento sea de 16 % del valor de partida. La Figura 7 representa el perfil de disolución.

Ejemplo 7 - Dosificación oral de AS1 in vivo

Los objetivos del estudio fueron identificar los efectos potenciales de AS1 sobre los sistemas cardiovascular, respiratorio y nervioso central de monos Cynomolgus no restringidos conscientes, cuando se les administró una dosis individual por administración oral o administración intravenosa. La administración intravenosa en este estudio se incluyó para investigar los efectos potenciales asociados con la exposición sistémica. La formulación de dosis intravenosa se administró como polvo en volumen, y para administración oral como comprimidos con recubrimiento entérico contenidos dentro de cápsulas de gelatina. Se asignaron cuatro monos Cynomolgus machos experimentalmente no intactos, de 3,6 a 3,8 años de edad, y que pesaban 3,4 a 3.9 kg a un grupo individual.

Tabla 7

No. de Animales (machos)	Días de dosificación	Nivel de dosis nominal (mg/kg)	Volumen de dosis (ml/kg)	Concentración de dosis(mg/ml)	Ruta de dosis
4	1	0	N/A	N/A	Oral
	4	~13,4-14,9	N/A	N/A	Oral
	7	-87,1-97,1	N/A	N/A	Oral
	12	0	1	0	IV
	14	3		3	IV
	19	10		10	IV

Todos los niveles de dosis representan la cantidad de AS1, corregida para pureza. Las dosis orales de control fueron dos cápsulas que contenían comprimidos de placebo. El nivel de dosis aproximado, logrado por la administración de dos cápsulas, cada una contiene un comprimido con 26.1 mg de AS1 por comprimido (corregido para pureza), y con base en pesos corporales que variaron de 3,5 a 3,9 kg en el día 4. Nivel de dosis aproximado, logrado por la administración de dos cápsulas, que cada una contiene un comprimido con 169,9 mg de AS1 por comprimido (corregido para pureza), y con base en pesos corporales que variaron de 3,5 a 3,9 kg en el día 4.

Las muestras de sangre para análisis toxicocinético, se recolectaron para preestudio y 1 y 6 horas después de dosis para dosis orales, y 5 minutos, 1 y 6 horas después de dosis para dosis intravenosas. Las muestras se procesaron para plasma bajo condiciones de refrigeración, y el plasma se almacenó a -70°C hasta su análisis. Las muestras se analizaron utilizando el ensayo de hibridación específica de AS1.

En el día 1, todos los animales recibieron la dosis del artículo de control oral, seguida de dosis de AS1 en los días 4 y 7 por medio de administración forzada oral. Para las dosis orales, el placebo y los comprimidos que contenían AS1 fueron contenidos dentro de cápsulas de gelatina de tamaño adecuado para facilitar la administración a través de la ruta oral. En el día 12, todos los animales recibieron la dosis de control intravenosa (solución salina regulada con fosfato) por inyección de empuje lento, seguida de dosis intravenosas de AS1 en los días 14 y 19.

Los datos cardiovasculares y datos de temperatura corporal se registraron por medio de telemetría a intervalos frecuentes antes de y durante 24 horas después de la administración de cada dosis. Se evaluó la función respiratoria mediante medición de los parámetros de gases en sangre, en muestras arteriales recolectadas antes de la dosificación y 1, 6 y 24 horas después de cada dosis, así como determinar (visualmente) la frecuencia respiratoria en esos mismos puntos de tiempo. Se evaluó la función neurológica al realizar un examen neurológico comprehensivo de todos los animales antes del estudio dentro de aproximadamente 24 horas después de la finalización del periodo de registro mediante telemetría después de la última dosis oral del artículo de prueba, y de nuevo dentro de aproximadamente 24 horas después de la finalización del periodo de registro mediante telemetría después de la última dosis intravenosa. También se observaron los animales para signos clínicos (mortalidad/morbilidad, observaciones secundarias de la jaula, consumo de alimento y peso corporal).

A pesar de un LLOQ muy bajo para el ensayo (0,5 ng/ml), no se detectó AS1 en ninguna muestra en plasma después de las dosis orales de hasta casi 100 mg/kg. En contraste, las concentraciones máximas medias en plasma después de inyecciones IV fueron de 28,309 y 180,352 ng/ml para las dosis de 3 y 10 mg/kg, respectivamente. La depuración de AS1 del plasma después de dosificación IC exhibió una cinética similar a la que se había reportado para oligonucleótidos estructuralmente relacionados (es decir, una vida media aproximada de 0.5 horas).

Ejemplo 8 - Estudio in vivo de 28 días de AS1 administrado oralmente

El propósito de este estudio fue evaluar la toxicidad y toxicocinética potencial de AS1 cuando se administraba una vez al día oralmente a ratones durante 28 días, seguido de un periodo de recuperación de 28 días. La formulación de AS1 se preparó como una formulación que contenía un recubrimiento gastroprotector en la forma de pequeñas perlas de AS1 recubiertas que se cubrió sobre perlas inertes que luego se recubrieron con Eudragit® S 100 para imitar las formulaciones orales adecuadas para uso humano. Se utilizaron tres grupos a los que se les administraron diferentes niveles de dosis (30 mg/kg/día (bajo nivel); 100 mg/kg/día; 300 mg/kg/día).

5 No hubo diferencias relacionadas con el género en los niveles en plasma o tejido. A pesar de un LLOQ muy bajo para la prueba, se detectó AS1 en solo dos muestras en plasma de animales con muy baja dosis (30 mg/kg/día) recolectadas en el día 1, y no en cualesquier muestras recolectadas en el día 28. A mayores niveles de dosis de 100 y 300 mg/kg/día, el AS1 fue cuantificable en la mayoría de las muestras en plasma, y los niveles estuvieron generalmente relacionados con dosis. Sin embargo, incluso al nivel de dosis más alto, los niveles en plasma no excedieron 21 ng/ml en ningún animal (en las muestras recolectadas en diversos tiempos entre 0,5 y 24 horas después de dosis). Las concentraciones de AS1 fueron muy altas en los tejidos gastrointestinales (GI), con concentraciones máximas medias al nivel de dosis más alto (después de la primera dosis) de aproximadamente 536, 857, 825, 538, 137 y 127 µg/g de tejido para el intestino grueso, intestino delgado, estómago anterior, estómago glandular, esófago y recto, respectivamente.

10 La depuración extensiva de los tejidos del tracto GI fue evidente durante 24 horas después de la primera dosis. No hubo acumulación aparente de AS1 con la dosificación diaria.

15 Las concentraciones máximas medias en los dos órganos principales de absorción sistémica, el riñón y el hígado, después de la primera dosis de 300 mg/kg, fueron de solo 4,0 y 2,3 µg/gramo, la cual es más de 100 veces menor que el rango de concentraciones medido en los tejidos GI.

Después de la dosis más baja de 30 mg/kg, las concentraciones medias más altas en el riñón y el hígado fueron de solo 0,4 y 0,3 µg/gramo. No hubo evidencia de acumulación de AS1 en los órganos internos durante el periodo de dosificación de 28 días.

20 La exposición sistémica a AS1 en ratones fue muy baja después de administración oral de altas dosis (de hasta 300 mg/kg/día) de AS1 suministrado en la formulación gastroprotegida, y no hubo acumulación en los tejidos GI o tejidos internos cuando se administraron diariamente durante 28 días consecutivos.

Ejemplo 9 - Efecto terapéutico de AS1 sobre colitis

25 Para examinar el efecto terapéutico de AS1 sobre el curso de la inflamación intestinal en el modelo de colitis inducido por TNBS, se trató a ratones con una dosis individual de AS1 o el oligonucleótido sentido Smad7 un día después de la administración intrarrectal de TNBS. Las dosis individuales de 125 o 250 µg/ratón mejoraron la pérdida de peso y redujeron notablemente las manifestaciones histológicas de severidad de colitis.

El AS1 (dado como una dosis individual de 125 µg un día después de inducción de colitis por TNBS), redujo significativamente la producción colónica de la subunidad p40 monomérica, un componente de las citoquinas IL-12 e IL-23, que demuestran inhibición de la producción colónica de estas citoquinas proinflamatorias.

30 Todas las publicaciones y patentes mencionadas en la presente memoria, que incluyen aquellos elementos enlistados más adelante, se incorporan en la presente como referencia en su totalidad como si cada publicación o patente individual se incorporara específicamente e individualmente en la presente como referencia. En caso de conflicto, controlará la presente solicitud, incluyendo cualquier definición en la misma.

Equivalentes

35 Aunque se han discutido realizaciones específicas de la invención objeto, la especificación anterior es ilustrativa y no restrictiva. Muchas variaciones de la invención llegarán a ser evidentes para aquellos expertos en la técnica después de que revisen esta especificación. El alcance entero de la invención se debe determinar con relación a las reivindicaciones, junto con su alcance completo de equivalentes, y la especificación, junto con dichas variaciones.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de comprimido farmacéutico para administración oral de un oligonucleótido antisentido que comprende:
 - 5 una fase intragranular que comprende un oligonucleótido antisentido representado por la SEQ ID NO 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y una carga farmacéuticamente aceptable;
 - una fase extragranular que comprende un desintegrante; y
 - 10 un recubrimiento entérico que comprende un copolímero de etilacrilato-ácido metacrílico, en el que cuando se prueba en un aparato USP/EP Tipo 2 (pala) a 100 rpm y 37°C en un regulador de fosfato con un pH de 6,6 no más de aproximadamente 50 % de la cantidad del oligonucleótido antisentido se libera de la formulación de comprimido farmacéutico durante un periodo de 30 minutos y cuando se prueba en un aparato USP/EP Tipo 2 (pala) a 100 rpm y 37°C en HCl diluido con un pH de 1,0 sustancialmente ninguna cantidad de oligonucleótido antisentido se libera de la formulación de comprimido farmacéutico durante un periodo de 120 minutos, y
 - en el que la formulación suministra el compuesto antisentido al íleon terminal y colon derecho de un paciente.
- 15 2. La formulación de comprimido farmacéutico de la reivindicación 1, en la que los enlaces de internucleótidos de la SEQ ID NO 1 son fosforotioatos O,O ligados.
3. La formulación de comprimido farmacéutico de reivindicaciones 1 o 2, en la que el oligonucleótido antisentido es la sal de sodio de la SEQ ID NO 1.
4. La formulación de comprimido farmacéutico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la fase intragranular comprende adicionalmente un desintegrante y/o la fase extragranular comprende adicionalmente un lubricante.
- 20 5. La formulación de comprimido farmacéutico de la reivindicación 4, en la que el lubricante es glicolato de almidón sodio.
6. La formulación de comprimido farmacéutico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la carga es manitol, y/o el desintegrante es glicolato de almidón sodio.
- 25 7. La formulación de comprimido farmacéutico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la fase intragranular comprende adicionalmente un componente seleccionado de celulosa microcristalina, glicolato de almidón sodio, hidroxipropilmetil celulosa, y mezclas de los mismos y/o la fase extragranular comprende adicionalmente un componente seleccionado de celulosa microcristalina y estearato de magnesio, y mezclas de los mismos.
- 30 8. La formulación de comprimido farmacéutico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en la que dicho recubrimiento entérico tiene 8 % a 18 %, en peso del comprimido.
9. La formulación de comprimido farmacéutico de la reivindicación 1 que comprende:
 - 0,5 % a 10 % en peso de un oligonucleótido antisentido representado por la SEQ ID NO 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
 - 35 30 % a 50 % en peso de manitol; y
 - 10 % a 30 % en peso de celulosa microcristalina.
10. La formulación de comprimido farmacéutico de la reivindicación 1 que comprende 35 mg a 500 mg de un oligonucleótido antisentido representado por la SEQ ID NO 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
11. La formulación de comprimido farmacéutico de la reivindicación 1 que comprende:
 - 40 una fase intragranular que comprende:
 - 5 % a 10 % en peso oligonucleótido antisentido representado por la SEQ ID NO 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

aproximadamente 40 % en peso de manitol,

aproximadamente 8 % en peso de celulosa microcristalina,

aproximadamente 5 % en peso de hidroxipropilmetil celulosa, y

aproximadamente 2 % en peso de glicolato de almidón sodio; y

5 una fase extragranular que comprende:

aproximadamente 17 % en peso de celulosa microcristalina,

aproximadamente 2 % en peso de glicolato de almidón sodio, y

aproximadamente 0,4 % en peso de estearato de magnesio.

10 12. La formulación de comprimido farmacéutico de la reivindicación 10, que tiene aproximadamente 40 mg del oligonucleótido antisentido.

13. La formulación de comprimido farmacéutico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para uso en el tratamiento de enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa o enfermedad inflamatoria del intestino crónica.

15 14. La formulación de comprimido farmacéutico de la reivindicación 1, en la que la formulación de comprimido farmacéutico comprende 0,5 % a 70 % en peso de un oligonucleótido antisentido representado por la SEQ ID NO: 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; 0,5 % a 60 % en peso de manitol; 20 % a 40 % en peso de celulosa microcristalina.

15. La formulación de comprimido farmacéutico de la reivindicación 14, en la que la formulación de comprimido farmacéutico comprende 5 % a 20 % en peso del recubrimiento entérico.

20 16. La formulación de comprimido farmacéutico de la reivindicación 14, en la que la formulación de comprimido farmacéutico comprende 8 % a 18 % en peso del recubrimiento entérico.

17. La formulación de comprimido farmacéutico de la reivindicación 14, en la que la formulación de comprimido farmacéutico comprende 8 % a 15 % en peso del recubrimiento entérico.

18. La formulación de comprimido farmacéutico de la reivindicación 14, en la que la formulación de comprimido farmacéutico comprende 12 % a 16 % en peso del recubrimiento entérico.

25 19. La formulación de comprimido farmacéutico de la reivindicación 14, en la que la formulación de comprimido farmacéutico comprende aproximadamente 13 %, aproximadamente 15 %, aproximadamente 16 %, o aproximadamente 17 % en peso del recubrimiento entérico.

FIGURA 1

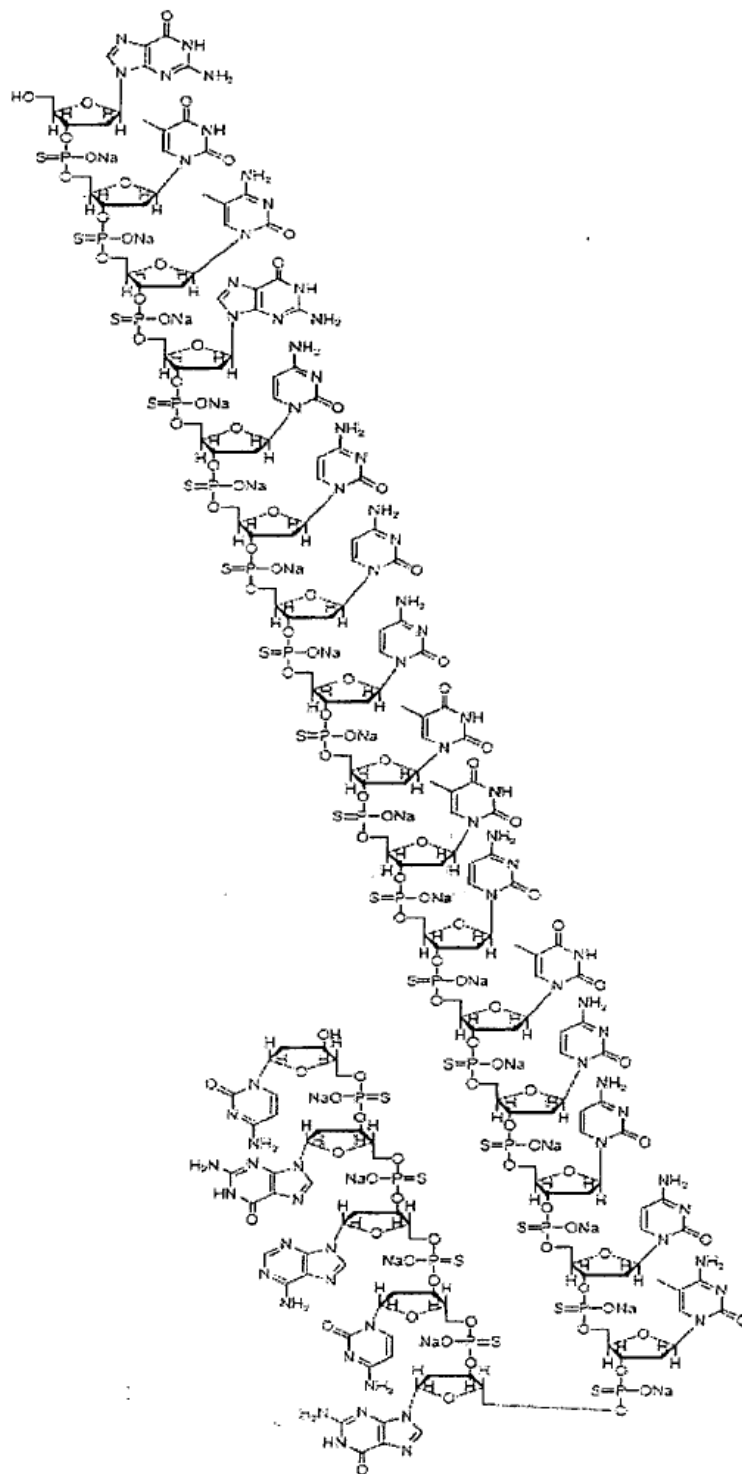


FIGURA 2

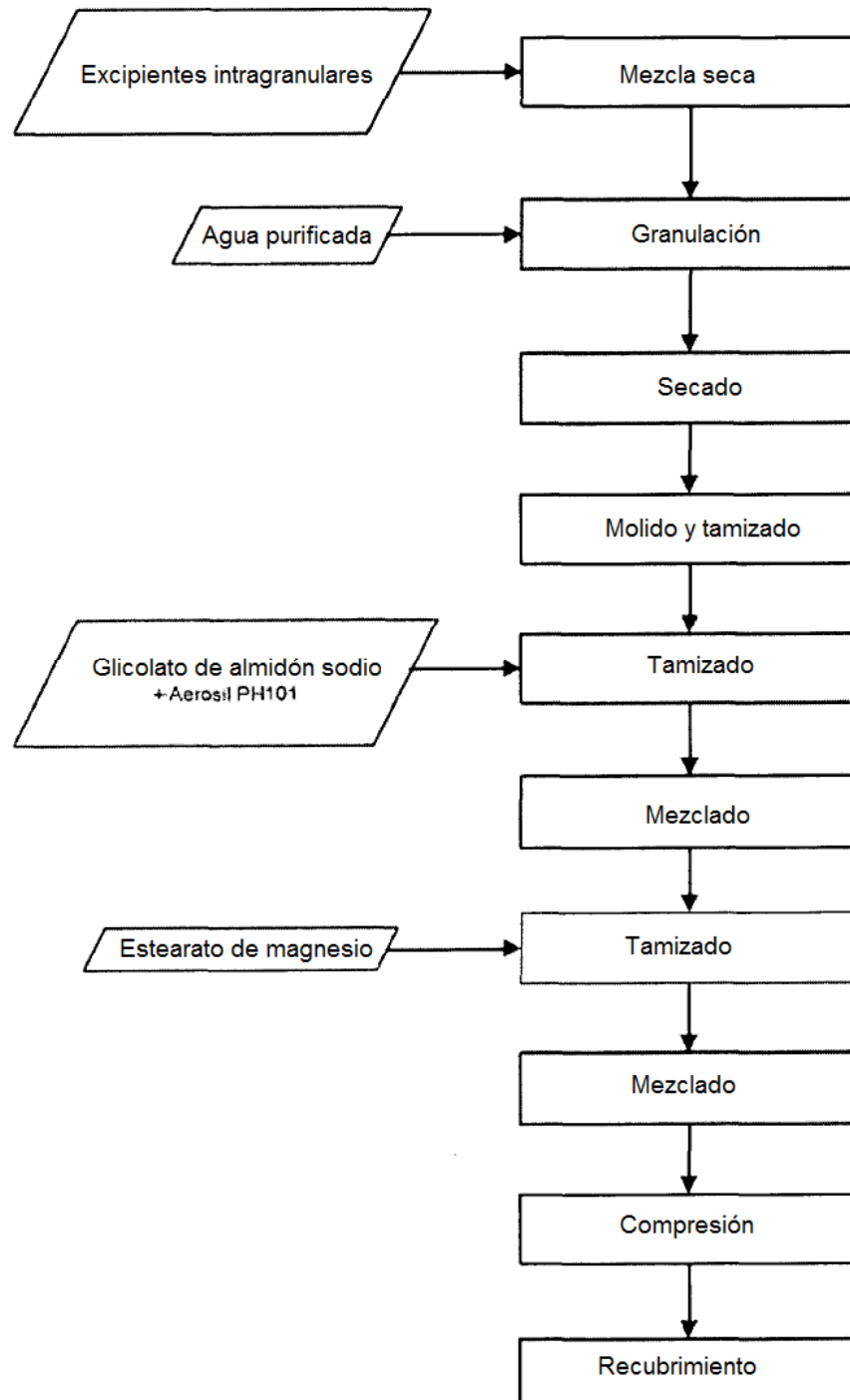


FIGURA 3

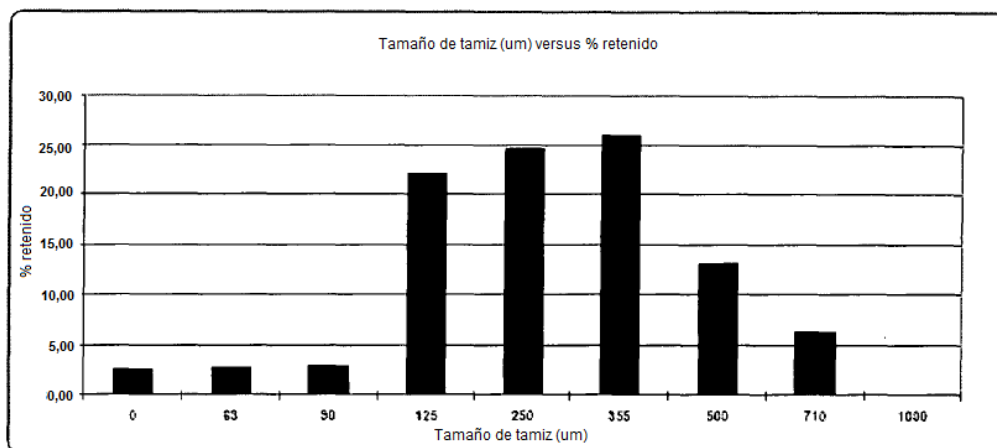


FIGURA 4

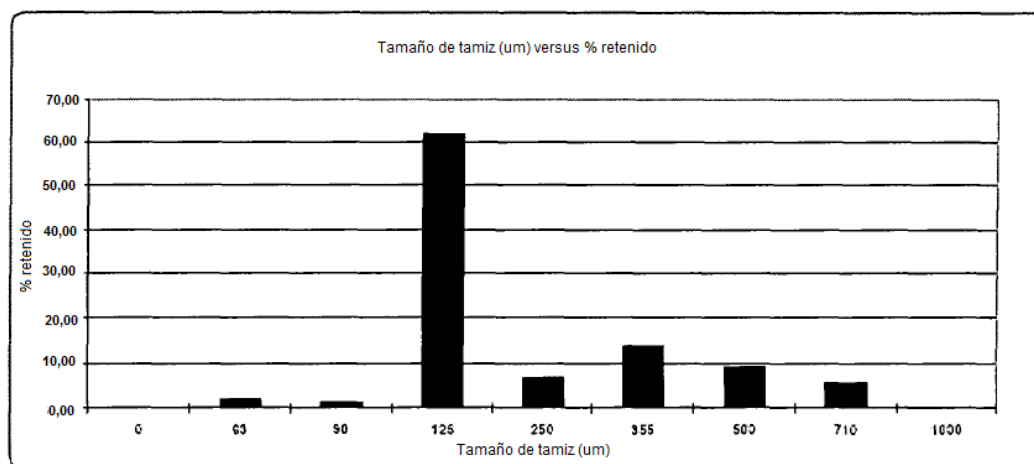


FIGURA 5:

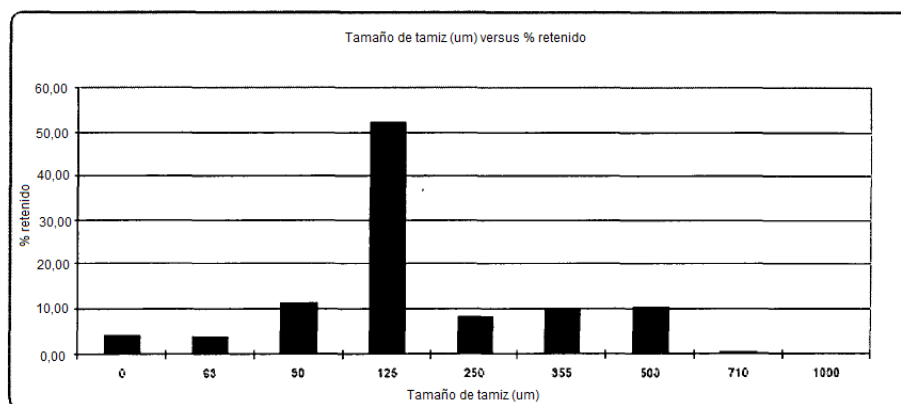


FIGURA 6:

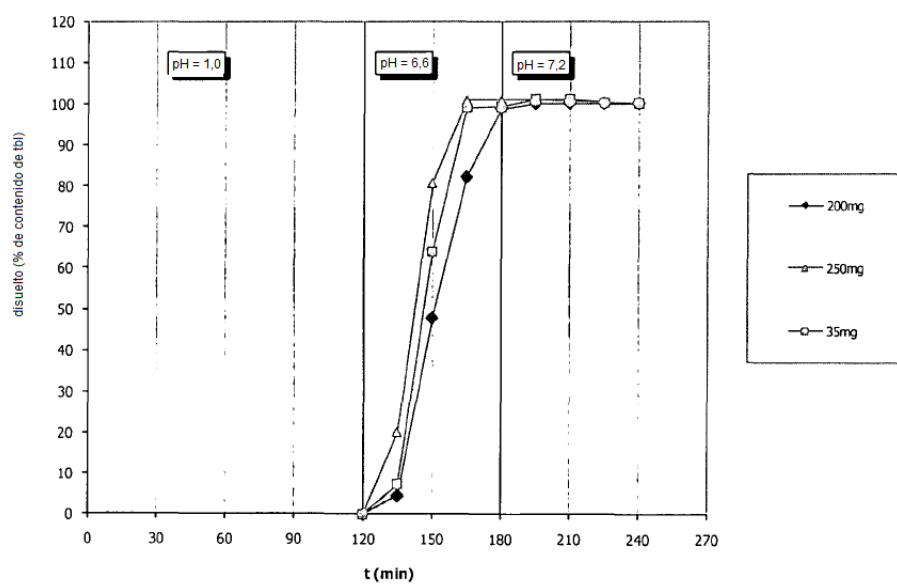


FIGURA 7

