

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 993 275**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00	(2006.01) A23L 33/16	(2006.01)
A61K 45/06	(2006.01) A61P 3/00	(2006.01)
A61K 9/50	(2006.01) A23L 33/15	(2006.01)
A61K 31/198	(2006.01) A61K 33/00	(2006.01)
A61K 31/401	(2006.01) A61K 9/16	(2006.01)
A61K 31/405	(2006.01)	
A61K 31/4172	(2006.01)	
A23L 33/175	(2006.01)	
A61K 9/20	(2006.01)	
A21D 2/24	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.09.2016** **E 22178328 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2024** **EP 4129270**

54 Título: **Formulaciones de aminoácidos de liberación modificada administradas por vía oral**

30 Prioridad:

28.09.2015 US 201562233695 P

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

26.12.2024

73 Titular/es:

APR APPLIED PHARMA RESEARCH S.A.
(100.00%)
Via Corti 5
6828 Balerna, CH

72 Inventor/es:

REINER, ALBERTO y
REINER, GIORGIO

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 993 275 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

Formulaciones de aminoácidos de liberación modificada administradas por vía oral

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a formulaciones de aminoácidos para administración oral, como se define adicionalmente en las reivindicaciones, con precisión de dosificación mejorada, palatabilidad mejorada y farmacocinética mejorada para un efecto terapéutico óptimo.

10 Antecedentes

Los aminoácidos son bloques de construcción necesarios en la síntesis de proteínas que realiza el cuerpo humano, derivados principalmente de fuentes de proteínas procedentes de la dieta. El cuerpo humano utiliza diecinueve aminoácidos de configuración L independientes para sintetizar proteínas. Algunos de estos aminoácidos se denominan “aminoácidos esenciales” porque el cuerpo no puede sintetizarlos independientemente. Otros aminoácidos no son “esenciales” porque el cuerpo puede sintetizarlos.

La digestión de proteínas de la dieta en aminoácidos comienza en el estómago, gracias a la actividad combinada de pepsinógeno, pepsina y ácido clorhídrico que producen oligopéptidos. La digestión continúa en el duodeno después de transitar desde el estómago a través del píloro, donde la actividad combinada de la secreción biliar, bicarbonatos y enzimas pancreáticas puede producir aminoácidos individuales. Montgomery R. y col., 1988; Baracos, 2004. Los aminoácidos liberados se absorben a continuación en el intestino delgado pasando a la vena porta según los procesos de transporte estereoespecífico activos específicos de los aminoácidos. La secreción de los aminoácidos en el intestino es un mecanismo concomitante. Los dipéptidos y tripéptidos también se pueden absorber desde el intestino delgado, pero estos también se hidrolizan en última instancia formando aminoácidos en el enterocito. Estos procesos dependen en gran medida del pH. Cuando se ingieren alimentos, el estómago secreta ácido clorhídrico y el pH disminuye a alrededor de 2. Después de la válvula pilórica, el pH aumenta progresivamente de 4 a aproximadamente 7 como consecuencia de la secreción biliar alcalina. Un sistema de tampón opera para evitar valores de pH mayores de aproximadamente 7,5-7,8.

El tiempo requerido para digerir las proteínas de la dieta es la suma del tiempo pasado en la fase de vaciado gástrico y el tiempo requerido para la hidrólisis en el intestino delgado. El tiempo necesario para ambos procesos puede variar dependiendo de la ingesta de alimentos, la ingesta de proteínas, enfermedades y tratamientos farmacológicos concomitantes, siendo la ingesta de alimentos el factor determinante más común. Amidon y col., 1995 informan de un tiempo de vaciado gástrico de aproximadamente 3,5 horas después de una comida con alto contenido de grasa, aproximadamente 1,5 horas después de una comida promedio y aproximadamente de 10 a 20 minutos después de 250 ml de agua. Keohane y col., 1985 informan que el tiempo requerido para hidrolizar aminoácidos en el intestino delgado, en promedio, es de aproximadamente tres horas, y que este tiempo varía para proteínas y aminoácidos individuales. Esta hidrólisis empieza a producirse inmediatamente después del vaciado gástrico, después de transitar a través de la válvula pilórica, y dura varias horas en el primer tramo del intestino delgado, concretamente el yeyuno.

Los aminoácidos se administran comúnmente como suplementos de la dieta para facilitar la síntesis de proteínas, especialmente cuando se pretende un aumento de la masa muscular. También se administran combinaciones de aminoácidos especialmente formuladas para soportar la salud nutricional de las personas con limitaciones y requisitos especiales de ingesta dietética. En la fenilcetonuria, por ejemplo, el cuerpo no puede metabolizar la fenilalanina en la tirosina debido a la falta de enzimas necesarias. En cambio, la fenilalanina se descompone en varios subproductos tóxicos. Montgomery y col., 1988; Waisbren y col., 2007.

La fenilalanina es un aminoácido esencial que normalmente se metaboliza a tirosina mediante la enzima fenilalanina hidroxilasa. En la fenilcetonuria, esta enzima está ausente o no funciona correctamente, y la fenilalanina se descarboxila formando diversos compuestos, siendo tres de ellas tóxicos: fenilpiruvato, fenil lactato y acetato de fenilo. Debido a esta inhibición metabólica, la ingesta dietética de fenilalanina debe reducirse a la vez que se proporciona el aminoácido tirosina con la dieta, ya que es indispensable. Ney D. M. y col., 2014; Dioguardi, 2011; Waisbren y col., 2007.

Una estrategia de administración eficaz para la fenilcetonuria consiste en formulaciones de aminoácidos especialmente formuladas que omiten la fenilalanina mientras se suplementa tirosina. Como la fenilalanina no puede eliminarse de la mayoría de las fuentes de proteínas de la dieta, estos suplementos de aminoácidos generalmente sustituirán las proteínas de la dieta, que se eliminan por completo de la dieta. Vliet Van D. y col., 2014. Sin embargo, estos pacientes también pueden tratarse con una dieta cuidadosamente controlada de proteínas que tienen muy poca fenilalanina. Gropper S. S. y col., 1991.

Los ejemplos de formulaciones de aminoácidos comercializadas para la gestión de la fenilcetonuria incluyen formulaciones vendidas como Antifen™, Nutricia XP2™ (Maxamaid), Milupa PKU2™ (Secunda), y Afenil® Micro 3H (Piam). A random controlled trial with Afenil® Micro 3H is described in Giovannini M y col., J Am Coll Nutr, 2014, 33(2):

103-110. Nutricia XP2™ y Milpa PKU2™ también contienen vitaminas y minerales. La siguiente Tabla A proporciona las formulaciones de Antifen™, Nutricia XP2™ y Milupa PKU2™, basadas en aproximadamente 100 g de aminoácidos en cada formulación, omitiendo el contenido de vitaminas y minerales.

5 Tabla A

	Antifen™ ¹	Nutricia XP2™ ²	Milupa PKU2™ ³
Componente	g	g	g
Alanina	7,60	4,05	4,03
Arginina	7,83	7,20	3,32
Ácido Aspártico	11,30	6,70	9,48
Cistina	1,17	2,66	2,25
Ácido Glutámico	-----	-----	19,92
Glutamina	12,50	4,94	-----
Glicina	4,80	6,35	2,25
Histidina	2,73	4,11	2,25
Isoleucina	3,23	6,35	5,69
Leucina	7,20	10,86	9,37
Lisina	8,19	7,37	6,64
Metionina	2,14	1,73	2,25
Prolina	4,89	7,70	9,01
Serina	8,10	4,66	4,98
Taurina	0,25	1,17	-----
Treonina	3,80	5,33	4,51
Triptófano	1,25	2,14	1,66
Tirosina	7,50	9,64	5,57
Valina	5,40	6,97	6,64
Carnitina	0,11	0,06	0,18
¹ http://www.dmfmetabolic.it/wp-content/uploads/2013/10/AntifenIntegrale.pdf			
² http://www.nutricia.it/prodotti/xp2-maxamaid/			
³ http://www.nutricia.it/prodotti/pku-2-secunda/			

10 Otras dolencias para las que se fabrican y administran preparaciones de aminoácidos especialmente formuladas, usando la misma estrategia para proporcionar todos los aminoácidos esenciales y no esenciales pero omitiendo aminoácidos que el cuerpo no puede metabolizar, incluyen tirosinemia, leucinosi, acidemia metilmalónica, homocistinuria, hiperglicinemia, acidemia isovalérica, acidemia propiónica y acidemia glutárica (tipos II, IIA o IIB).

15 Los aminoácidos libres presentan potencialmente numerosas desventajas sobre las proteínas de origen natural, debido a la rápida absorción de los aminoácidos, imponiendo una carga de ácido en la dieta más alta, especialmente cuando se administran dosis más altas.

20 Además, el sabor y el olor y el sabor de algunas formulaciones comerciales de aminoácidos no son buenos, lo que los hace extremadamente difíciles de ingerir por muchas personas de manera regular, especialmente bebés y niños. Además, estas formulaciones se liberan inmediatamente cuando se ingieren, lo que produce un patrón de absorción muy diferente que cuando se ingieren proteínas.

Un objeto de la presente invención es limitar el catabolismo de los aminoácidos producido cuando los aminoácidos libres se ingieren y superan la capacidad metabólica del cuerpo.

25 Otro objeto de la presente invención es mejorar el sabor de las formulaciones de aminoácidos cuando se ingieren por vía oral.

Otro objeto adicional de la presente invención es proporcionar formas farmacéuticas de aminoácidos únicas que puedan ingerirse directamente sin necesidad de reconstitución.

Otro objeto más de la presente invención es proporcionar formulaciones de aminoácidos con propiedades de liberación modificada que imiten más estrechamente el patrón de absorción de proteínas cuando se ingieren por vía oral.

5 Resumen de la invención

Se han desarrollado formulaciones de aminoácidos de liberación modificada que superan los inconvenientes anteriores. Las formulaciones son más agradables al paladar y, lo más importante, imitan el perfil de liberación de aminoácidos procedentes de alimentos naturales. En particular, las formulaciones utilizan un mecanismo de retardo de liberación que modifica la liberación de aminoácidos de la formulación para imitar la tasa de liberación de aminoácidos desde las proteínas naturales.

En los ensayos limitados realizados hasta la fecha, varios aminoácidos individuales y combinaciones de aminoácidos, cuando se modifican para lograr criterios específicos de liberación *in vitro*, han demostrado mejoras estadísticamente superiores en concentraciones plasmáticas de aminoácidos sobre formulaciones de aminoácidos libres comparables.

En una primera realización principal, la presente invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, que comprende granulados de diez o más de los siguientes aminoácidos en las partes en peso mencionadas:

20

Aminoácido	Partes en peso
L-Alanina	2,0-12,0
L-Arginina	3,0-10,5
Ácido L-Aspártico	5,0-10,5
L-Cistina	1,5-4,0
Ácido L-Glutámico + Glutamina	7,0-25,0
Glicina	3,5-15,0
L-Histidina	2,0-6,5
L-Isoleucina	2,0-8,5
L-Leucina	8,0-15,0
L-Lisina	4,5-10,5
L-Metionina	1,0-3,0
L-Fenilalanina	0,0 o 4,0-7,5
L-Prolina	3,5-15,0
L-Serina	2,0-8,5
L-Treonina	4,0-7,5
L-Triptófano	1,0-4,0
L-Tirosina	0,0 o 2,5-14,0
L-Valina	2,5-10,0
L-Carnitina	0,0-0,2
Taurina	0,05-1,0

en donde los granulados se recubren mediante un recubrimiento de 1 % en peso a 15 % en peso de etilcelulosa con respecto al peso de los aminoácidos; y

25 en donde 2 g de dichos aminoácidos en dichos granulados liberan no más del x % de los aminoácidos en 30 minutos durante una prueba de disolución realizada en un equipo de paletas según la norma <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 500 ml, ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x % es 60 %, 50 % o incluso 40 %.

30 En un estudio de biodisponibilidad en animales *in vivo*, se ha descubierto inesperadamente que la isoleucina, leucina, tirosina y valina, cuando se modifican para su liberación como se describe en la presente memoria, es decir, cuando se proporcionan como granulados recubiertos en la formulación de aminoácidos según la invención, tienen consistentemente una concentración máxima en sangre que es significativamente menor que la concentración máxima producida por una formulación de aminoácidos libres comparable. Por lo tanto, en una segunda realización principal, la invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, como se define en la primera

realización principal anterior, en donde dichos diez o más aminoácidos comprenden al menos uno de arginina, isoleucina, leucina, tirosina y valina.

Otra realización principal se refiere a una agrupación particular de aminoácidos -los aminoácidos de cadena ramificada- y el descubrimiento inesperado de que los aminoácidos de cadena ramificada, en conjunto, cuando se modifican para su liberación como se describe en la presente memoria, es decir, cuando se proporcionan como granulados recubiertos en la formulación de aminoácidos según la invención, producen un $C_{\text{máx}}$ significativamente más bajo y un $C_{\text{última}}$ más alto que los valores de $C_{\text{máx}}$ y $C_{\text{última}}$ producidos por una formulación de aminoácidos libres comparable. Por lo tanto, en otra realización principal, la invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, como se define en la primera realización principal anterior, en donde dichos diez o más aminoácidos comprenden uno o más de los aminoácidos de cadena ramificada citados.

Otra realización principal más se refiere a otra agrupación particular de aminoácidos -aminoácidos esenciales- que, cuando se modifican para su liberación como se describe en la presente memoria, es decir, cuando se proporcionan como granulados recubiertos en la formulación de aminoácidos según la invención, producen inesperadamente un $C_{\text{máx}}$ significativamente más bajo y un $C_{\text{última}}$ significativamente más alto cuando se compara con una formulación de aminoácidos libres comparable. Por lo tanto, en otra realización principal más, la invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, como se define en la primera realización principal anterior, en donde dichos diez o más aminoácidos comprenden uno o más de los aminoácidos esenciales citados.

Otra realización principal adicional se refiere a otra agrupación de aminoácidos -aminoácidos neutros grandes (excluyendo Fenilalanina, Tirosina y Metionina)- que, cuando se modifican para su liberación como se describe en la presente memoria, es decir, cuando se proporcionan como granulados recubiertos en la formulación de aminoácidos según la invención, producen inesperadamente un $C_{\text{máx}}$ significativamente más bajo y un $C_{\text{última}}$ significativamente más alto cuando se compara con una formulación de aminoácidos libres comparable. Por lo tanto, en otra realización principal adicional, la invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, como se define en la primera realización principal anterior, en donde dichos diez o más aminoácidos comprenden uno o más de los aminoácidos neutros grandes citados, en donde los aminoácidos neutros grandes se refieren a isoleucina, leucina, treonina, triptófano, valina e histidina.

En una séptima realización principal, la invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, como se define en la primera realización principal anterior, en donde dichos diez o más aminoácidos comprenden los aminoácidos no esenciales citados.

Las formulaciones están preferiblemente en forma de gránulos comestibles que se pueden mezclar con otros alimentos tales como yogur, o comprimidos masticables grandes que no pueden tragarse en su totalidad, sino que deben comerse como una galleta en varios mordiscos. La cantidad de aminoácidos en las formulaciones de dosis unitaria dependerá de las demandas metabólicas del individuo que se esté tratando, generalmente dependiendo de la edad, sexo, peso y actividades físicas del individuo, y si el individuo padece un trastorno metabólico que limita su ingesta de uno o más aminoácidos, como se describe con mayor detalle en la presente memoria.

La formulación puede comprender todos, o cualquier combinación de aminoácidos esenciales y no esenciales, y puede diseñarse específicamente para cualquier aplicación donde se desee la complementación de aminoácidos. Las formulaciones están especialmente bien adecuadas para el tratamiento de personas con trastornos de procesamiento de aminoácidos tales como fenilcetonuria, tirosinemia, leucinosi, acidemia metilmalónica, homocistinuria, hiperglicinemia, acidemia isovalérica, acidemia propiónica y acidemia glutámica.

La liberación modificada puede lograrse mediante los ingredientes citados en la presente memoria de varias maneras como agentes retardantes de la liberación, medios para liberar preferiblemente los aminoácidos en el yeyuno, etc. Estos agentes tienen la capacidad de producir una liberación modificada de los aminoácidos de la formulación cuando se ingieren o cuando se someten a ensayo en medios de disolución. Alternativamente, tienen la capacidad de extender o retrasar la liberación de aminoácidos de modo que algunos de los aminoácidos no se liberen hasta más adelante en el proceso digestivo, tal como después de que la formulación haya alcanzado el entorno de pH más alto del intestino delgado. Estos agentes tienen incluso la capacidad, en una formulación adecuadamente diseñada, de liberar un subconjunto de aminoácidos en la formulación a una tasa de liberación diferente de otros aminoácidos. Las formulaciones se liberan preferiblemente basándose en su patrón de liberación modificado cuando se someten a ensayo a un valor de pH fijo.

Otros aspectos de la presente invención implican el uso de las formulaciones para tratar o gestionar una enfermedad que requiere una gestión estrecha de la ingesta de aminoácidos, comúnmente debido a un deterioro en el metabolismo de los aminoácidos. Por lo tanto, en otra realización, la invención proporciona una formulación de aminoácidos de la presente invención para su uso en el tratamiento de un trastorno metabólico seleccionado del grupo que consiste en fenilcetonuria, tirosinemia, leucinosi, acidemia metilmalónica, homocistinuria, hiperglicinemia, acidemia isovalérica, acidemia propiónica y acidemia glutámica, en donde la formulación se administra por vía oral.

Otra realización adicional proporciona métodos para preparar las formulaciones de la presente invención y, en esta realización, la invención proporciona un método para preparar una formulación de la presente invención que comprende: (a) proporcionar una primera mezcla que comprende una pluralidad de aminoácidos; (b) poner en contacto dicha mezcla con un agente humectante o disolvente (por ejemplo, un alcohol y/o un disolvente orgánico y/o agua) y un aglutinante para formar una mezcla húmeda; (c) opcionalmente hacer pasar dicha mezcla húmeda a través de un tamiz para formar un granulado húmedo uniforme; (d) secar dicho granulado húmedo uniforme para formar un granulado seco; (e) opcionalmente pasar dicho granulado seco a través de un tamiz para formar un granulado seco uniforme; y (f) recubrir el granulado seco con uno o más agentes de recubrimiento para proporcionar una liberación modificada a dicho granulado seco. Los agentes de recubrimiento adecuados incluyen, por ejemplo, polímeros de celulosa, ácidos grasos, ceras y otros agentes de recubrimiento con capacidad de proporcionar una liberación modificada a dicho granulado seco. Como se explicó anteriormente, la formulación de aminoácidos según la presente invención comprende granulados de diez o más aminoácidos (como se ha descrito anteriormente), en donde los granulados se han recubierto con un recubrimiento de 1 % en peso a 15 % en peso de etilcelulosa con respecto al peso de los aminoácidos. Las técnicas de recubrimiento adecuadas incluyen, por ejemplo, recubrimiento de lecho fluidizado y granulación en estado fundido. Los granulados secos pueden incorporarse a cualquier forma farmacéutica convencional pero preferiblemente se usan como la forma farmacéutica, sin modificación adicional, donde pueden mezclarse fácilmente con otros ingredientes tales como sabores y excipientes o aditivos inactivos, o ingredientes activos tales como vitaminas, minerales y carbohidratos. Alternativamente, los granulados secos se pueden comprimir para formar un comprimido masticable.

Las ventajas adicionales de la invención se exponen en parte en la descripción que sigue.

Las ventajas de la invención se realizarán y obtendrán por medio de los elementos y combinaciones especialmente señalados en las reivindicaciones adjuntas. Debe entenderse que tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada son únicamente ilustrativas y explicativas, y no son restrictivas de la invención, como se reivindica.

Descripción de las figuras

La Figura 1 tabula los 19 aminoácidos utilizados por el cuerpo humano para sintetizar proteínas, y los clasifica según la estructura y las propiedades, a saber, alifáticos, aromáticos, ácidos, básicos, sulfurados y pK_a.

La Figura 2 tabula los aminoácidos esenciales, es decir, aquellos aminoácidos que no se producen en el cuerpo mediante síntesis bioquímica, sino que deben ingerirse con la dieta, como informan Montgomery y col., 1988.

La Figura 3 es una representación gráfica del perfil de liberación a lo largo del tiempo del triptófano no recubierto preparado según el método del Ejemplo 7, usando dos velocidades de paletas diferentes, en comparación con la formulación de triptófano del Ejemplo 7.

La Figura 4 es una representación gráfica del perfil de liberación del triptófano a lo largo del tiempo de la formulación del Ejemplo 8 usando un medio de disolución a pH 1,2 y una velocidad de paleta de 50 rpm.

La Figura 5 es una representación gráfica del perfil de liberación del triptófano a lo largo del tiempo de la formulación del Ejemplo 9 cuando se somete a las condiciones experimentales descritas en el Ejemplo 8 pero usando el método de cesta en lugar de la paleta.

La Figura 6 es una representación gráfica de los perfiles de liberación ponderal de una formulación que contiene la mezcla de aminoácidos a lo largo del tiempo de la formulación del Ejemplo 10, cuando se somete a las condiciones experimentales descritas en el Ejemplo 10.

La Figura 7 es una representación gráfica del perfil de disolución ponderal de la formulación de aminoácidos libres descrita en el Ejemplo 11, Tabla 10b, probada según los métodos descritos en el Ejemplo 11.

La Figura 8 representa el perfil de disolución para los 18 aminoácidos independientes de la mezcla APR AA (bKT037/71)

La Figura 9 es una representación gráfica del perfil de disolución ponderal de cuatro formulaciones de aminoácidos de liberación modificada recubiertos con etilcelulosa independientes, preparadas y analizadas según los métodos y la formulación informados en el Ejemplo 11 y la Tabla 10d y 10e.

La Figura 10 representa el perfil de disolución para los 18 aminoácidos independientes de APR Lote 2 (bKT037/72-2), Tabla 10f, cuando se analizan según los métodos indicados en el Ejemplo 11.

La Figura 11 representa el perfil de disolución para los 18 aminoácidos independientes de APR Lote 4 (bKT037/72-4), Tabla 10 g, cuando se analizan según los métodos indicados en el Ejemplo 11.

La Figura 12 representa el perfil de disolución ponderal de aminoácidos agregado de cuatro formulaciones de aminoácidos de liberación modificada recubiertos con etilcelulosa/dibehenato de glicerilo independientes, fabricadas y analizadas como se describe en el Ejemplo 12, que tiene las composiciones descritas en la Tabla 11a.

5 La Figura 13 representa el perfil de disolución de 18 aminoácidos independientes de APR Lote 5 (bkT037/73-5) (Tabla 11c), cuando se analizan según los métodos indicados en el Ejemplo 12.

La Figura 14 representa el perfil de disolución de 18 aminoácidos independientes de APR Lote 7 (bkT037/72-7) (Tabla 11d), cuando se analizan según los métodos indicados en el Ejemplo 12.

10 La Figura 15 representa los perfiles de disolución de aminoácidos ponderales agregados de cuatro formulaciones de ensayo independientes de la presente invención (APR lote 2/bkT037/72-2, APR lote 4/bkT037/72-4, APR lote 5/bkT037/73-5, APR lote 7/bkT037/72-7) y la mezcla de aminoácidos libres bkT037/71, fabricada y probada como se describe en los Ejemplos 11 y 12.

15 La Figura 16 informa de las concentraciones plasmáticas medias en cerdos de 14 aminoácidos a lo largo del tiempo, en base agregada, de dos formulaciones de aminoácidos de liberación modificada independientes de la presente invención, una formulación de aminoácidos libres y caseína, como se describe en el Ejemplo 14.

20 La Figura 17 informa de las concentraciones plasmáticas medias en cerdos de los aminoácidos esenciales a lo largo del tiempo, en base agregada, de dos formulaciones de aminoácidos de liberación modificada independientes de la presente invención, una formulación de aminoácidos libres y caseína, como se describe en el Ejemplo 14.

25 La Figura 18 informa de las concentraciones plasmáticas medias en cerdos de los aminoácidos de cadena ramificada a lo largo del tiempo, en base agregada, de dos formulaciones de aminoácidos de liberación modificada independientes de la presente invención, una formulación de aminoácidos libres y caseína, como se describe en el Ejemplo 14.

30 La Figura 19 informa de las concentraciones plasmáticas medias en cerdos de los aminoácidos de cadena neutros grandes a lo largo del tiempo, en base agregada, de dos formulaciones de aminoácidos de liberación modificada independientes de la presente invención, una formulación de aminoácidos libres y caseína, como se describe en el Ejemplo 14.

Descripción detallada

35 Definiciones

40 Cuando las formas singulares “un”, “una” y “el” o términos similares se usan en la presente memoria, se entenderá que incluyen referentes plurales a menos que el contexto lo indique claramente de cualquier otra manera. Así, por ejemplo, la referencia a “un hidrocarburo” incluye mezclas de dos o más de dichos hidrocarburos, y similares. La palabra “o” o términos similares como se usan en la presente memoria significa cualquier elemento de una lista particular y también incluye cualquier combinación de elementos de esa lista.

45 Cuando se usa en la presente memoria, el término “aproximadamente” o “aprox.”, compensará la variabilidad permitida en la industria farmacéutica e inherente en productos farmacéuticos, tales como diferencias en la concentración del producto y la biodisponibilidad debido a variaciones en fabricación y la degradación del producto inducida por el tiempo. El término permite cualquier variación que, en la práctica de productos farmacéuticos, permita que el producto que se evalúa se considere farmacéuticamente equivalente o bioequivalente, o ambos si el contexto lo requiere, a la concentración citada de un producto reivindicado. Se entenderá que todos los valores numéricos expresados en este documento pueden estar precedidos por el término “aproximadamente”

50 El término “independientemente” se usa para indicar que los elementos particulares modificados por un conjunto de variables potenciales pueden o no estar definidos por la misma variable. Así, por ejemplo, si una composición comprende z % del elemento A y z % del elemento B, y z puede ser independientemente 10 % o 20 %, la composición puede comprender 10 % del elemento A y 10 % del elemento B, o 10 % del elemento A y 20 % del elemento B, etc.

55 El término “aminoácido” se refiere a cualquier aminoácido natural que puede participar en la síntesis de péptidos y proteínas. Para facilitar la redacción, el aminoácido se escribirá con frecuencia sin su estereoconfiguración, aunque se entenderá que el aminoácido debe estar presente como su estereoisómero natural.

60 En las formulaciones de la presente invención, los aminoácidos pueden estar presentes como base libre, como sal de clorhidrato o como otra sal adecuada. El término aminoácido esencial se refiere a cualquier aminoácido que el cuerpo no puede fabricar por sí mismo, que debe derivarse de una fuente externa. Los aminoácidos esenciales que pueden incluirse en las formulaciones de la presente invención incluyen L-Isoleucina, L-Leucina, L-Lisina, L-Treonina, L-Triptófano, L-Valina, L-Metionina, L-Fenilalanina, L-Histidina y L-Arginina o cualquiera de sus sales farmacéuticamente

aceptables (estos dos últimos se consideran esenciales solo para lactantes, aunque, para simplificar, se denominan “aminoácidos esenciales en la presente memoria”).

El término aminoácido no esencial se refiere a cualquier aminoácido distinto de un aminoácido esencial y, por lo tanto, incluye, por ejemplo, L-Alanina, ácido L-Aspártico, Cistina, L-Glutamina y/o ácido L-Glutámico, Glicina, L-Prolina, L-Serina, Taurina, L-Tirosina, y L-Carnitina o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables. Cualquiera de estos aminoácidos puede estar presente, como base libre, sal de clorhidrato o cualquier otra sal adecuada.

La expresión “aminoácidos de cadena ramificada” se refiere a valina, isoleucina y leucina, o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables.

El término “aminoácidos neutros grandes” en una realización se refiere a triptófano, treonina, valina, isoleucina, leucina e histidina, o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables. En otra realización, el término también incluye fenilalanina, metionina y tirosina.

El término “formulación” se refiere a una combinación acabada o semiacabada de alimentos o ingredientes alimentarios farmacéuticos o médicos, incluyendo tanto ingredientes activos como excipientes o aditivos inactivos. El término se refiere a formulaciones en proceso, formulaciones terminadas y formulaciones envasadas como dosis unitaria final.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones de esta memoria descriptiva, la palabra “comprender” y variaciones de la misma, tales como “que comprende” y “comprende” significa “que incluye aunque no de forma limitativa” y no pretende excluir, por ejemplo, otros aditivos, componentes, números enteros o etapas.

Los términos “tratar” y “tratamiento”, cuando se usan en la presente memoria, se refieren al tratamiento médico de un paciente con la intención de curar, mejorar, estabilizar o prevenir una enfermedad, afección patológica o trastorno. Este término incluye el tratamiento activo, es decir, el tratamiento dirigido específicamente hacia la mejora de una enfermedad, afección patológica o trastorno, y también incluye el tratamiento causal, es decir, el tratamiento dirigido hacia la eliminación de la causa de la enfermedad asociada, afección patológica o trastorno. Además, este término incluye el tratamiento paliativo, es decir, el tratamiento diseñado para el alivio de los síntomas en lugar de la curación de la enfermedad, afección patológica o trastorno; el tratamiento preventivo, es decir, el tratamiento dirigido a minimizar o inhibir parcial o completamente el desarrollo de la enfermedad, afección patológica o trastorno asociado; y el tratamiento de soporte, es decir, el tratamiento empleado para complementar otra terapia específica dirigida hacia la mejora de la enfermedad, afección patológica o trastorno asociado. El término incluye también la gestión dietética de un paciente que, debido a una enfermedad específica o dolencia médica, tiene una capacidad limitada o alterada para ingerir, digerir, adsorber o metabolizar productos alimenticios o nutrientes o que tiene otros requisitos de nutrientes médicamente determinados especiales, cuya gestión dietética no puede lograrse mediante la mera modificación de la dieta habitual.

El término “liberación modificada” se refiere a cualquier formulación farmacéutica en la que la tasa de liberación se altera intencionalmente para lograr una respuesta terapéutica o farmacocinética deseada. Por lo tanto, el término incluye formulaciones de liberación prolongada, en las que la liberación del fármaco se extiende a lo largo del tiempo, o una tasa de liberación que es independiente del pH del entorno circundante. El término también incluye formulaciones de liberación retardada, donde se retrasa la liberación del ingrediente activo de la formulación (o una porción de la misma) después de la ingestión inicial. Una formulación de liberación retardada se diseña típicamente de modo que la liberación se produce predominantemente una vez que la formulación alcanza el intestino delgado.

Como se usa en la presente memoria, “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a una cantidad suficiente para producir la respuesta biológica deseada. La cantidad o dosis terapéuticamente eficaz dependerá de la edad, el sexo y el peso del paciente, y la dolencia médica actual del paciente. El experto en la técnica podrá determinar las dosis apropiadas dependiendo de estos y otros factores además de la presente descripción. Cuando se usa para referirse a nutrientes tales como aminoácidos, minerales, vitaminas, etc., el término se refiere a esa cantidad reconocida generalmente según sea necesario para soportar las necesidades metabólicas del cuerpo humano.

“Farmacéuticamente aceptable” significa aquello que es útil para preparar una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y ni biológicamente ni de otro modo indeseable e incluye aquello que es aceptable para uso veterinario así como alimentos médicos humanos, alimentos y uso farmacéutico. “Sales farmacéuticamente aceptables” significa sales que son alimentos o alimentos farmacéuticos o médicos aceptables, como se ha definido anteriormente, y que poseen la actividad farmacológica o nutritiva deseada.

Cuando en la presente memoria se expresan intervalos especificando límites superior e inferior alternativos del intervalo, se entenderá que los puntos finales se pueden combinar de cualquier manera matemáticamente factible. Así, por ejemplo, un intervalo de 50 u 80 a 100 o 70 puede expresarse alternativamente como una serie de intervalos de 50 a 100, de 50 a 70, y de 80 a 100. Cuando una serie de límites superiores y límites inferiores se citan usando la expresión y/o, se entenderá que los límites superiores pueden no estar limitados por los límites inferiores o combinarse

con los límites inferiores, y viceversa. Así, por ejemplo, un intervalo de más del 40 % y/o menos del 80 % incluye intervalos de más del 40 %, menos del 80 % y más del 40 % pero menos del 80 %.

5 Cuando se proporciona una metodología de prueba específica de la Farmacopea de los Estados Unidos u otro compendio aceptado por la industria en la presente memoria, se entenderá que el método de prueba puede modificarse según las prácticas habituales y usuales sin alterar los principios físicos básicos o los resultados finales basados en la habilidad convencional del experto en la técnica, y los ejemplos proporcionados en la presente memoria, como, por ejemplo, pueden ser necesarios para probar diferentes formas farmacéuticas.

10 Cuando se dan porcentajes en la presente memoria, se entenderá que los porcentajes son porcentajes en peso, y que las proporciones están basadas en el peso, salvo que se indique lo contrario.

Discusión

15 La invención se define en términos de realizaciones y subrealizaciones principales, y se entenderá que las realizaciones principales pueden combinarse para definir otras realizaciones principales, que las subrealizaciones pueden combinarse para definir subrealizaciones adicionales, y que las subrealizaciones y combinaciones de subrealizaciones pueden combinarse con todas las realizaciones principales para definir realizaciones adicionales de la presente invención. La capacidad de combinar realizaciones y subrealizaciones está limitada solo por lo que es matemática o físicamente imposible.

20

En una primera realización principal, la invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, que comprende granulados de quince o más de los siguientes aminoácidos en las partes en peso mencionadas:

Aminoácido	Partes en peso
L-Alanina	2,0-12,0
L-Arginina	3,0-10,5
Ácido L-Aspártico	5,0-10,5
L-Cistina	1,5-4,0
Ácido L-Glutámico + Glutamina	7,0-25,0
Glicina	3,5-15,0
L-Histidina	2,0-6,5
L-Isoleucina	2,0-8,5
L-Leucina	8,0-15,0
L-Lisina	4,5-10,5
L-Metionina	1,0-3,0
L-Fenilalanina	0,0 o 4,0-7,5
L-Prolina	3,5-15,0
L-Serina	2,0-8,5
L-Treonina	4,0-7,5
L-Triptófano	1,0-4,0
L-Tirosina	0,0 o 2,5-14,0
L-Valina	2,5-10,0
L-Carnitina	0,0-0,2
Taurina	0,05-1,0

25 en donde los granulados se recubren mediante un recubrimiento de 1 % en peso a 15 % en peso de etilcelulosa con respecto al peso de los aminoácidos; y

30 en donde 2 g de dichos aminoácidos en dichos granulados liberan no más del x % de los aminoácidos en 30 minutos durante una prueba de disolución realizada en un equipo de paletas según la norma <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 500 ml, ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x % es 60 %, 50 % o incluso 40 %.

En una segunda realización principal, la invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, como se define en la primera realización principal anterior, en donde dichos diez o más aminoácidos comprenden al menos uno de arginina, isoleucina, leucina, tirosina y valina.

5 En una tercera realización principal, la invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, como se define en la primera realización principal anterior, en donde dichos diez o más aminoácidos comprenden los aminoácidos de cadena ramificada citados.

10 En una cuarta realización principal, la invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, como se define en la primera realización principal, en donde dichos diez o más aminoácidos comprenden los aminoácidos esenciales citados.

15 En una quinta realización principal, la invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, como se define en la primera realización principal, en donde dichos diez o más aminoácidos comprenden los aminoácidos neutros grandes citados, en donde los aminoácidos neutros grandes se refieren a triptófano, treonina, valina, isoleucina, leucina e histidina.

20 En una sexta realización principal, la invención proporciona una formulación de la presente invención como se define por cualquiera de las realizaciones principales o subrealizaciones para su uso en el tratamiento de un trastorno metabólico seleccionado del grupo que consiste en fenilcetonuria, tirosinemia, leucinosi, acidemia metilmalónica, homocistinuria, hiperglicinemia, acidemia isovalérica, acidemia propiónica y acidemia glutámica, en donde la formulación se administra por vía oral.

25 En una séptima realización principal, la invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, como se define en la primera realización principal, en donde dichos quince o más aminoácidos comprenden los aminoácidos no esenciales citados.

30 En diversas subrealizaciones, la formulación puede comprender todos, o cualquier combinación de aminoácidos esenciales y no esenciales, y puede diseñarse específicamente para cualquier aplicación donde se desee la complementación de aminoácidos. Las formulaciones están especialmente bien adecuadas para el tratamiento de personas con trastornos de procesamiento de aminoácidos tales como fenilcetonuria, tirosinemia, leucinosi, acidemia metilmalónica, homocistinuria, hiperglicinemia, acidemia isovalérica, acidemia propiónica y acidemia glutámica. Otras subrealizaciones más particulares se describen más específicamente en las Tablas B-D. Sin embargo, se entenderá que debe incluirse cierta flexibilidad en esta formulación para tener en cuenta, por ejemplo, los requisitos de aminoácidos para bebés y niños, lo que podría causar que parte del aminoácido salga de las proporciones mencionadas.

40 La Tabla B presenta partes de peso relativas de diecinueve aminoácidos, para su uso generalmente como aminoácidos de liberación modificada en formulaciones destinadas a complementación de aminoácidos, así como para fenilcetonuria y tirosinemia. La columna A presenta intervalos preferidos de proporciones adecuadas de aminoácidos, mientras que la columna B presenta intervalos más preferidos de proporciones adecuadas. La Tabla B solo describe las proporciones relativas de aminoácidos en la formulación. Por lo tanto, se pueden incluir otros ingredientes. Las tasas agregadas de liberación de aminoácidos de cualquiera de las formulaciones descritas en la Tabla B son preferiblemente como se cita en la primera realización principal.

45 Tabla B

	General		Fenilcetonuria		Tirosinemia	
	A	B	A	B	A	B
L-Alanina	2,0-12,0	2,0-7,0	2,0-12,0	2,0-7,0	2,0-12,0	3,5-5,0
L-Arginina	3,0-10,5	3,0-8,2	3,0-10,5	3,0-8,0	3,0-10,5	7,0-8,0
Ácido L-Aspártico	5,0-10,5	5,0-10,5	5,0-10,5	5,0-10,5	5,0-10,5	6,0-8,0
L-Cistina	1,5-4,0	1,5-4,0	1,5-4,0	1,5-3,0	1,5-4,0	2,5-3,5
Ácido L-Glutámico + Glutamina	7,0-25,0	10,0-22,0	7,0-25,0	11,0-22,0	7,0-25,0	8,0-12,0
Glicina	3,5-15,0	4,0-8,0	3,5-15,0	4,0-6,0	3,5-15,0	6,0-8,0
L-Histidina	2,0-6,5	2,5-5,0	2,0-6,5	2,0-3,5	2,0-6,5	4,0-5,0
L-Isoleucina	2,0-8,5	4,0-7,0	2,0-8,5	4,5-6,5	2,0-8,5	6,0-8,0
L-Leucina	8,0-15,0	8,0-14,0	8,0-15,0	8,0-13,0	8,0-15,0	10,0-12,5
L-Lisina	4,5-10,5	4,9-9,0	4,5-10,5	4,9-8,0	4,5-10,5	7,5-9,5

	General		Fenilcetonuria		Tirosinemia	
	A	B	A	B	A	B
L-Metionina	1,0-3,0	1,0-3,0	1,0-3,0	1,0-3,0	1,0-3,0	1,5-2,5
L-Fenilalanina	4,0-7,5	4,5-7,0	0,0	0,0	0,0	0,0
L-Prolina	3,5-15,0	4,0-10,0	3,5-15,0	5,0-8,2	3,5-15,0	7,5-9,0
L-Serina	2,0-8,5	3,0-7,0	2,0-8,5	3,0-7,0	2,0-8,5	4,5-6,0
L-Treonina	4,0-7,5	4,0-6,5	4,0-7,5	4,0-6,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptófano	1,0-4,0	1,5-3,0	1,0-4,0	1,5-3,0	1,0-4,0	1,5-3,0
L-Tirosina	2,5-14,0	6,5-12,0	2,5-14,0	6,5-12,0	0,0	0,0
L-Valina	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	6,5-8,0
L-Carnitina	0,0-0,2	0,05-0,2	0,0-0,2	0,05-0,2	0,0-0,2	0,0-0,2
Taurina	0,05-1,0	0,1-0,7	0,05-1,0	0,2-0,5	0,05-1,0	0,05-0,5

Se definen realizaciones adicionales cuando la primera realización principal incluye como dichos aminoácidos 10 o más, o 15 o más, o incluso todos los aminoácidos abarcados por las formulaciones generales de la Tabla B (definidas en la columna A o B) en las proporciones mencionadas en las columnas A o B.

5 Se definen realizaciones adicionales cuando la primera realización principal incluye como dichos aminoácidos los aminoácidos esenciales, los aminoácidos de cadena ramificada o los aminoácidos neutros grandes abarcados por las formulaciones generales de la Tabla B (definidas en la columna A o B) en las proporciones mencionadas en las columnas A o B.

10 Se definen realizaciones adicionales cuando la primera realización principal incluye como dichos aminoácidos 10 o más, o 15 o más, o incluso todos los aminoácidos abarcados por las formulaciones para fenilcetonuria de la Tabla B (definidas en la columna A o B) en las proporciones mencionadas en las columnas A o B.

15 Se definen realizaciones adicionales cuando la primera realización principal incluye como dichos aminoácidos los aminoácidos esenciales, los aminoácidos de cadena ramificada o los aminoácidos neutros grandes abarcados por las formulaciones para fenilcetonuria de la Tabla B (definidas en la columna A o B) en las proporciones mencionadas en las columnas A o B.

20 Se definen realizaciones adicionales cuando la primera realización principal incluye como dichos aminoácidos 10 o más, o 15 o más, o incluso todos los aminoácidos abarcados por las formulaciones para tirosinemia de la Tabla B (definidas en la columna A o B) en las proporciones mencionadas en las columnas A o B.

25 Se definen realizaciones adicionales cuando la primera realización principal incluye como dichos aminoácidos los aminoácidos esenciales, los aminoácidos de cadena ramificada o los aminoácidos neutros grandes abarcados por las formulaciones para tirosinemia de la Tabla B (definidas en la columna A o B) en las proporciones mencionadas en las columnas A o B.

30 La Tabla C presenta partes de peso relativas de diecinueve aminoácidos para su uso como aminoácidos de liberación modificada para leucinos, acidemia metilmalónica, acidemia propiónica y acidemia glutárica. La columna A presenta intervalos preferidos de proporciones adecuadas de aminoácidos para cada uno de estos trastornos metabólicos, mientras que la columna B presenta un intervalo más preferido de proporciones adecuadas. La Tabla C solo describe las proporciones relativas de aminoácidos en la formulación. Por lo tanto, se pueden incluir otros ingredientes. Las tasas agregadas de liberación de aminoácidos de cualquiera de las formulaciones descritas en la Tabla C son

35 preferiblemente como se cita en la primera realización principal.

Tabla C

	Leucinos		Acidemia metilmalónica o acidemia propiónica		Acidemia glutárica	
	A	B	A	B	A	B
L-Alanina	2,0-12,0	4,5-6,0	2,0-12,0	9,0-11,0	2,0-12,0	4,0-5,0
L-Arginina	3,0-10,5	8,5-10,5	3,0-10,5	8,0-10,0	3,0-10,5	7,0-8,5
Ácido L-Aspártico	5,0-10,5	7,0-8,5	5,0-10,5	7,0-9,0	5,0-10,5	6,0-7,0

	Leucinosi		Acidemia metilmalónica o acidemia propiónica		Acidemia glutárica	
	A	B	A	B	A	B
L-Cistina	1,5-4,0	3,0-4,0	1,5-4,0	3,0-4,0	1,5-4,0	2,5-3,5
Ácido L-Glutámico + Glutamina	7,0-25,0	9,0-13,0	7,0-25,0	9,0-11,0	7,0-25,0	8,0-10,0
Glicina	3,5-15,0	7,5-9,5	3,5-15,0	3,5-4,5	3,5-15,0	6,5-8,0
L-Histidina	2,0-6,5	4,5-6,0	2,0-6,5	5,5-7,0	2,0-6,5	3,5-5,5
L-Isoleucina	0,0	0,0	0,0-0,5	0,0-0,5	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	12,0-15,0	10,0-15,0	10,5-13,0
L-Lisina	4,5-10,5	8,5-10,5	4,5-10,5	8,0-10,5	0,0	0,0
L-Metionina	1,0-3,0	1,5-3,0	0,0	0,0	1,0-3,0	1,5-2,5
L-Fenilalanina	4,0-7,5	5,5-7,0	4,0-7,5	5,5-7,5	4,0-7,5	4,5-6,0
L-Prolina	3,5-15,0	9,5-11,0	3,5-15,0	3,5-5,0	3,5-15,0	7,5-9,0
L-Serina	2,0-8,5	5,5-7,5	2,0-8,5	5,0-6,5	2,0-8,5	4,5-6,0
L-Treonina	4,0-7,5	6,5-8,0	0,0	0,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptófano	1,0-4,0	2,5-3,5	1,0-4,0	2,0-3,5	0,0-0,5	0,0-0,5
L-Tirosina	2,5-14,0	2,5-7,0	2,5-14,0	5,0-7,0	2,5-14,0	4,5-6,0
L-Valina	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5-10,0	6,5-8,0
L-Carnitina	0,0-0,2	0,02-0,12	0,0-0,2	0,0-0,15	0,0-0,2	0,0-0,2
Taurina	0,05-1,0	0,05-1,0	0,05-1,0	0,05-1,0	0,05-1,0	0,5-0,5

La Tabla D presenta partes de peso relativas de diecinueve aminoácidos para su uso como aminoácidos de liberación modificada para la acidemia isovalérica, homocistinuria e hiperglicinemia. La columna A presenta intervalos preferidos de proporciones adecuadas de aminoácidos para cada uno de estos trastornos metabólicos, mientras que la columna B presenta intervalos más preferidos de proporciones adecuadas. La Tabla D solo describe las proporciones relativas de aminoácidos en la formulación. Por lo tanto, se pueden incluir otros ingredientes. Las tasas agregadas de liberación de aminoácidos de cualquiera de las formulaciones descritas en la Tabla D son preferiblemente como se cita en la primera realización principal.

Tabla D

	Acidemia isovalérica		Homocistinuria		Hiperglicinemia	
	A	B	A	B	A	B
L-Alanina	2,0-12,0	4,0-6,0	2,0-12,0	3,0-5,0	2,0-12,0	3,5-5,0
L-Arginina	3,0-10,5	7,0-9,0	3,0-10,5	6,5-8,0	3,0-10,5	6,5-8,5
Ácido L-Aspártico	5,0-10	6,0-7,0	5,0-10,0	5,0-7,0	5,0-10,0	6,0-8,0
L-Cistina	1,5-4,0	2,5-3,5	1,5-4,0	2,0-3,0	1,5-4,0	2,0-3,5
Ácido L-Glutámico + Glutamina	7,0-25,0	8,0-9,5	7,0-25,0	7,5-9,0	7,0-25,0	7,0-10,0
Glicina	3,5-15,0	13,0-16,0	3,5-15,0	5,5-7,0	0,0	0,0
L-Histidina	2,0-6,5	4,0-5,0	2,0-6,5	3,5-4,5	2,0-6,5	4,0-5,0
L-Isoleucina	2,0-8,5	2,0-3,5	2,0-8,5	5,5-7,0	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	10,0-12,0	10,0-15,0	10,0-12,5
L-Lisina	4,5-10,5	6,0-7,5	4,5-10,5	7,0-8,0	4,5-10,5	7,0-8,5
L-Metionina	1,0-3,0	1,5-2,5	0,0	0,0	1,0-3,0	1,0-2,5
L-Fenilalanina	4,0-7,5	5,0-6,0	4,0-7,5	4,0-5,5	4,0-7,5	4,5-6,0
L-Prolina	3,5-15,0	13,0-15,0	3,5-15,0	7,0-8,5	3,5-15,0	7,0-9,0
L-Serina	2,0-8,5	4,0-5,0	2,5-8,5	5,0-8,5	2,5-8,5	4,5-5,5

	Acidemia isovalérica		Homocistinuria		Hiperglicinemia	
	A	B	A	B	A	B
L-Treonina	4,0-7,5	4,0-5,5	4,0-7,5	5,0-6,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptófano	1,0-4,0	1,5-2,5	1,0-4,0	1,5-2,5	1,0-4,0	2,0-3,0
L-Tirosina	2,5-14,0	4,5-6,0	2,5-14,0	4,5-6,0	2,5-14,0	4,0-6,0
L-Valina	2,5-10,0	2,5-4,0	2,5-8,0	6,0-8,0	2,5-10,0	6,0-8,0
L-Carnitina	0,0-0,2	0,0-0,15	0,0-0,2	0,0-0,1	0,0-0,2	0,05-0,2
Taurina	0,05-1,0	0,05-0,5	0,05-1,0	0,5-0,5	0,05-1,0	0,1-0,5

Se definen subrealizaciones adicionales cuando la tercera realización principal está limitada por las proporciones relativas de aminoácidos de cadena ramificada citados en la Tabla E1-E3.

5 Tabla E1

	General		Fenilcetonuria		Tirosinemia	
	A	B	A	B	A	B
L-Isoleucina	2,0-8,5	4,0-7,0	2,0-8,5	4,5-6,5	2,0-8,5	6,0-8,0
L-Leucina	8,0-15,0	8,0-14,0	8,0-15,0	8,0-13,0	8,0-15,0	10,0-12,5
L-Valina	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	6,5-8,0

Tabla E2

	Leucinosi		Acidemia metilmalónica o acidemia propiónica		Acidemia glutárica	
	A	B	A	B	A	B
L-Isoleucina	0,0	0,0	0,0-0,5	0,0-0,5	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	12,0-15,0	10,0-15,0	10,5-13,0
L-Valina	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5-10,0	6,5-8,0

10

Tabla E3

	Acidemia isovalérica		Homocistinuria		Hiperglicinemia	
	A	B	A	B	A	B
L-Isoleucina	2,0-8,5	2,0-3,5	2,0-8,5	5,5-7,0	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	10,0-12,0	10,0-15,0	10,0-12,5
L-Valina	2,5-10,0	2,5-4,0	2,5-8,0	6,0-8,0	2,5-10,0	6,0-8,0

15 Se definen subrealizaciones adicionales cuando la cuarta realización principal está limitada por las porciones relativas de aminoácidos esenciales (Arginina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Treonina, Triptófano y Valina) citadas en las Tablas F1-F3.

Tabla F1

	General		Fenilcetonuria		Tirosinemia	
	A	B	A	B	A	B
L-Arginina	3,0-10,5	3,0-8,2	3,0-10,5	3,0-8,0	3,0-10,5	7,0-8,0
L-Histidina	2,0-6,5	2,5-5,0	2,0-6,5	2,0-3,5	2,0-6,5	4,0-5,0
L-Isoleucina	2,0-8,5	4,0-7,0	2,0-8,5	4,5-6,5	2,0-8,5	6,0-8,0
L-Leucina	8,0-15,0	8,0-14,0	8,0-15,0	8,0-13,0	8,0-15,0	10,0-12,5
L-Lisina	4,5-10,5	4,9-9,0	4,5-10,5	4,9-8,0	4,5-10,5	7,5-9,5

	General		Fenilcetonuria		Tirosinemia	
	A	B	A	B	A	B
L-Treonina	4,0-7,5	4,0-6,5	4,0-7,5	4,0-6,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptófano	1,0-4,0	1,5-3,0	1,0-4,0	1,5-3,0	1,0-4,0	1,5-3,0
L-Valina	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	6,5-8,0

Tabla F2

	Leucinosi		Acidemia metilmalónica o acidemia propiónica		Acidemia glutárica	
	A	B	A	B	A	B
L-Arginina	3,0-10,5	8,5-10,5	3,0-10,5	8,0-10,0	3,0-10,5	7,0-8,5
L-Histidina	2,0-6,5	4,5-6,0	2,0-6,5	5,5-7,0	2,0-6,5	3,5-5,5
L-Isoleucina	0,0	0,0	0,0-0,5	0,0-0,5	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	12,0-15,0	10,0-15,0	10,5-13,0
L-Lisina	4,5-10,5	8,5-10,5	4,5-10,5	8,0-10,5	0,0	0,0
L-Treonina	4,0-7,5	6,5-8,0	0,0	0,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptófano	1,0-4,0	2,5-3,5	1,0-4,0	2,0-3,5	0,0-0,5	0,0-0,5
L-Valina	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5-10,0	6,5-8,0

5 Tabla F3

	Acidemia isovalérica		Homocistinuria		Hiperglicinemia	
	A	B	A	B	A	B
L-Arginina	3,0-10,5	7,0-9,0	3,0-10,5	6,5-8,0	3,0-10,5	6,5-8,5
L-Histidina	2,0-6,5	4,0-5,0	2,0-6,5	3,5-4,5	2,0-6,5	4,0-5,0
L-Isoleucina	2,0-8,5	2,0-3,5	2,0-8,5	5,5-7,0	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	10,0-12,0	10,0-15,0	10,0-12,5
L-Lisina	4,5-10,5	6,0-7,5	4,5-10,5	7,0-8,0	4,5-10,5	7,0-8,5
L-Treonina	4,0-7,5	4,0-5,5	4,0-7,5	5,0-6,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptófano	1,0-4,0	1,5-2,5	1,0-4,0	1,5-2,5	1,0-4,0	2,0-3,0
L-Valina	2,5-10,0	2,5-4,0	2,5-8,0	6,0-8,0	2,5-10,0	6,0-8,0

Se definen subrealizaciones adicionales cuando la quinta realización principal está limitada por las proporciones relativas de aminoácidos neutros grandes citados en la Tabla G1-G3.

10

Tabla G1

	General		Fenilcetonuria		Tirosinemia	
	A	B	A	B	A	B
L-Histidina	2,0-6,5	2,5-5,0	2,0-6,5	2,0-3,5	2,0-6,5	4,0-5,0
L-Isoleucina	2,0-8,5	4,0-7,0	2,0-8,5	4,5-6,5	2,0-8,5	6,0-8,0
L-Leucina	8,0-15,0	8,0-14,0	8,0-15,0	8,0-13,0	8,0-15,0	10,0-12,5
L-Treonina	4,0-7,5	4,0-6,5	4,0-7,5	4,0-6,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptófano	1,0-4,0	1,5-3,0	1,0-4,0	1,5-3,0	1,0-4,0	1,5-3,0
L-Valina	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	6,5-8,0

Tabla G2

	Leucinosis		Acidemia metilmalónica o acidemia propiónica		Acidemia glutárica	
	A	B	A	B	A	B
L-Histidina	2,0-6,5	4,5-6,0	2,0-6,5	5,5-7,0	2,0-6,5	3,5-5,5
L-Isoleucina	0,0	0,0	0,0-0,5	0,0-0,5	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	12,0-15,0	10,0-15,0	10,5-13,0
L-Treonina	4,0-7,5	6,5-8,0	0,0	0,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptófano	1,0-4,0	2,5-3,5	1,0-4,0	2,0-3,5	0,0-0,5	0,0-0,5
L-Valina	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5-10,0	6,5-8,0

Tabla G3

	Acidemia isovalérica		Homocistinuria		Hiperglicinemia	
	A	B	A	B	A	B
L-Histidina	2,0-6,5	4,0-5,0	2,0-6,5	3,5-4,5	2,0-6,5	4,0-5,0
L-Isoleucina	2,0-8,5	2,0-3,5	2,0-8,5	5,5-7,0	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	10,0-12,0	10,0-15,0	10,0-12,5
L-Treonina	4,0-7,5	4,0-5,5	4,0-7,5	5,0-6,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptófano	1,0-4,0	1,5-2,5	1,0-4,0	1,5-2,5	1,0-4,0	2,0-3,0
L-Valina	2,5-10,0	2,5-4,0	2,5-8,0	6,0-8,0	2,5-10,0	6,0-8,0

5 En otra subrealización para el tratamiento de la fenilcetonuria, definida sin tener en cuenta las proporciones de aminoácidos, la formulación de la presente invención comprende entre dichos aminoácidos la totalidad de arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano y valina, o una o más sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10 En otra subrealización para el tratamiento de fenilcetonuria, de nuevo definida sin tener en cuenta las proporciones de aminoácidos, las formulaciones de la presente invención comprenden entre dichos aminoácidos la totalidad de arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano y valina, o una o más sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y la totalidad de alanina, ácido aspártico, carnitina, cistina, glutamina y/o ácido glutámico, glicina, prolina, serina, taurina y tirosina o una o más sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

15 En una subrealización particular, que es adecuada para el tratamiento de cualesquiera de los trastornos metabólicos descritos en la presente memoria, definida sin tener en cuenta las proporciones de ingredientes, la formulación comprende entre dichos aminoácidos arginina e histidina, o una o más sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y alanina, ácido aspártico, carnitina, cistina, glutamina y/o ácido glutámico, prolina, serina y taurina, o una o más sales aceptables de los mismos.

20 En una realización especialmente preferida, la formulación se proporciona como una forma farmacéutica unitaria de dosis única, que comprende de 1 a 40 gramos de aminoácidos, en donde la formulación es terapéuticamente eficaz para satisfacer las necesidades dietéticas de aminoácidos de un paciente humano cuando se administran de tres a cuatro veces al día. Es decir, la formulación es adecuada para satisfacer las necesidades dietéticas del paciente para los aminoácidos que están realmente presentes en la formulación.

25 En otra realización principal, la invención proporciona un método para fabricar la formulación definida por cualquiera de las realizaciones principales o subrealizaciones de la presente invención, que comprende: (a) proporcionar una primera mezcla que comprende una pluralidad de aminoácidos; (b) poner en contacto la mezcla con un agente humectante y un aglutinante para formar una mezcla húmeda; (c) opcionalmente hacer pasar la mezcla húmeda a través de un tamiz para formar un granulado húmedo uniforme; (d) secar el granulado húmedo uniforme para formar un granulado seco; (e) opcionalmente pasar el granulado seco a través de un tamiz para formar un granulado seco uniforme; y (f) recubrir el granulado seco uniforme con una composición de liberación modificada.

30 El método es especialmente adecuado para mezclar un gran número de aminoácidos, y podría adaptarse adicionalmente preparando más de un granulado con diferentes mezclas de aminoácidos, y combinando los diferentes granulados para fabricar la formulación final. Por lo tanto, en una realización preferida del método de fabricación, la

40

primera mezcla podría comprender solo un tipo de aminoácido, o incluso 6 aminoácidos, que comprende además repetir las etapas (a)-(d), opcionalmente (e) y (f) con una segunda mezcla diferente de aminoácidos que comprende solo un aminoácido, o incluso 6 aminoácidos para formar un segundo granulado seco uniforme, y combinar los granulados secos uniformes para fabricar la formulación. En una realización, los granulados se comprimen para formar un comprimido masticable. En otra realización, después de formar la mezcla de granulado, esta se procesa adicionalmente, por ejemplo, mediante la adición de saborizantes o nutrientes.

Las formulaciones también se pueden definir basándose en el porcentaje de aminoácidos en la formulación. Por lo tanto, por ejemplo, la invención proporciona además formulaciones que comprenden más de 20 % en peso, 70 % en peso o 90 % en peso de aminoácidos, en donde (a) dichos aminoácidos comprenden de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 80 % en peso, de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 60 % en peso, de aproximadamente 30 a aproximadamente 50 %, o de aproximadamente 35 a aproximadamente 45 % de aminoácidos esenciales; y (b) dichos aminoácidos esenciales comprenden la totalidad o cualquier combinación de L-Isoleucina, L-Leucina, L-Lisina, L-Treonina, L-Triptófano, L-Valina, L-Metionina, L-Histidina y L-Arginina (los dos últimos se consideran esenciales solo para bebés).

Alternativamente, la formulación de liberación modificada puede definirse basándose en la relación entre aminoácidos esenciales y no esenciales en la formulación. Por lo tanto, en diversas realizaciones, la invención proporciona una formulación de aminoácidos para administración oral, que comprende más del 20 % en peso, 50 %, 70 % en peso o 90 % en peso de aminoácidos, en donde (a) dichos aminoácidos comprenden aminoácidos esenciales y no esenciales en una relación en peso de aproximadamente 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20 a aproximadamente 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70 o 20:80; y (b) dichos aminoácidos esenciales comprenden la totalidad o cualquier combinación de L-Isoleucina, L-Leucina, L-Lisina, L-Treonina, L-Triptófano, L-Valina, L-Metionina, L-Histidina y L-Arginina (los dos últimos se consideran esenciales solo para bebés).

La formulación incluye uno o más excipientes o aditivos con capacidad de controlar la liberación de todos los aminoácidos de la formulación o de un subconjunto de los aminoácidos. Estos excipientes o aditivos se denominan en la presente memoria generalmente como “excipientes o aditivos retardantes de la liberación”, y tienen la capacidad de proporcionar un perfil de liberación prolongada, un perfil de liberación retardada, una combinación de perfiles de liberación inmediata y liberación prolongada o de liberación retardada. En una realización, los excipientes o aditivos son excipientes o aditivos de liberación retardada y se denominan “medios para liberar preferiblemente dichos aminoácidos a un pH entre 4 y 7” o “medios para liberar preferiblemente dichos aminoácidos en el yeyuno cuando se administran por vía oral”. En tal caso, el excipiente típicamente está presente en una cantidad eficaz para producir la liberación preferencial de dichos aminoácidos desde dicha formulación a un pH entre 4 y 7.

El término “liberación preferencial” no excluye la posibilidad de que parte del excipiente libere aminoácidos en un entorno de pH más bajo, o incluso que la tasa de liberación en un entorno de pH más bajo sea igual que la que se produce en un ambiente de pH más alto. El punto importante es que el excipiente reduce la cantidad total de aminoácidos que de otro modo se liberarían en el ambiente de pH bajo del estómago en comparación con una forma farmacéutica de liberación inmediata. Así, por ejemplo, el excipiente puede producir un perfil de liberación más lenta a lo largo del tiempo a medida que la formulación se desplaza a través del tracto GI de lo que se produciría con una formulación de liberación inmediata, o como se modela en un experimento in vitro adecuado. Alternativamente, el excipiente puede retardar la liberación hasta que la formulación alcance el medio de pH más alto del yeyuno.

Los excipientes modificadores de la liberación o aditivos/agentes de recubrimiento son bien conocidos de los expertos en la técnica e incluyen, por ejemplo, etilcelulosa, acetato de celulosa, copolímeros de acetato de vinilo/cloruro de vinilo, copolímeros de acrilato/metacrilato, óxido de polietileno, hidroxipropilmetilcelulosa, carragenato, ácido alginico y sales del mismo, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, goma karaya, goma de acacia, goma de tragacanto, goma de algarrobo, goma guar, goma de xantano, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, cera de abeja, cera de carnaúba, alcohol cetílico, aceites vegetales hidrogenados, alcohol estearílico, copolímeros de ácido acrílico, carragenato, pectina, una carboximetilcelulosa sódica, mono y diglicéridos de ácidos grasos, ácidos grasos y sus ésteres o derivados, entre los que se incluyen behenatos de glicerilo y dipalmitoilestearato de glicerilo, almidones y sus derivados tales como acetato de maíz.

Formulaciones

Las composiciones de la presente invención pueden prepararse de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica y de suplementos alimenticios, y pueden administrarse por una variedad de vías dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico. La vía de administración más preferida es la oral. Las composiciones contendrán típicamente, además de los aminoácidos, uno o más portadores aceptables (excipientes o aditivos).

Usando esta tecnología es posible diseñar diversos productos de aminoácidos en los que la totalidad o solo una porción seleccionada de aminoácidos tiene el perfil de liberación modificada.

Están disponibles varias estrategias para controlar la liberación de aminoácidos de la formulación, dependiendo del perfil farmacocinético deseado. Estas estrategias típicamente involucran excipientes o aditivos no dependientes de

pH, de modo que la formulación libera aminoácidos independientemente de su ubicación en el tracto gastrointestinal, o bien excipientes o aditivos dependientes del pH, para retrasar la liberación de aminoácidos hasta que la formulación alcance el entorno de pH más alto del intestino delgado.

Los agentes/recubrimientos de liberación sostenida no dependientes del pH que pueden incluirse en la composición incluyen, aunque no de forma limitativa, etilcelulosa, acetato de celulosa, copolímeros de acetato de vinilo/cloruro de vinilo, copolímeros de acrilato/metacrilato, óxido de polietileno, hidroxipropilmetilcelulosa, carragenato, ácido algínico y sales del mismo, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, goma de xantano, goma karaya, goma de acacia, goma de tragacanto, goma de algarrobo, goma guar, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, cera de abeja, cera de carnaúba, alcohol cetílico, aceites vegetales hidrogenados, alcohol estearílico, ácidos grasos y sus ésteres o derivados, incluidos, por ejemplo, behenatos de glicerilo y dipalmitoestearato de glicerilo, goma de xantano, almidones y derivados de almidones tales como acetato de maíz. Como se define en la reivindicación 1, en las composiciones de según la invención reivindicada, los granulados se recubren mediante un recubrimiento de 1 % en peso a 15 % en peso de etilcelulosa con respecto al peso de los aminoácidos.

En general, el al menos un agente de liberación modificada no dependiente de pH está presente en la composición en una cantidad de aproximadamente 1 % en peso o 5 % en peso a aproximadamente 50 % en peso o 25 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 1 % en peso a aproximadamente 30 % en peso. Debe entenderse, sin embargo, que el alcance de la presente invención no debe limitarse a ningún agente de liberación sostenida no dependiente de pH en particular.

Los agentes dependientes del pH que aumentan la tasa de liberación de los aminoácidos de la formulación a un pH superior a 5,5 incluyen, aunque no de forma limitativa, polímeros que se hinchan a un pH superior a 5,5, agentes entéricos para recubrir el aminoácido y agentes que aumentan la solubilidad de los aminoácidos a un pH superior a 5,5, manteniendo un microambiente ácido en la formulación, por ejemplo, un ácido orgánico. Los ácidos orgánicos adecuados incluyen, por ejemplo, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico, ácido caproico, ácido oxálico, ácido láctico, ácido málico, ácido cítrico, ácido benzoico y ácido carbónico. Se puede emplear cualquier combinación de estas estrategias para fomentar la liberación de aminoácidos a un pH superior a 5,5. El al menos un agente dependiente del pH está típicamente presente en la composición en una cantidad de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 40 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 1 % en peso a aproximadamente 20 % en peso.

Los polímeros que se hinchan a un pH superior a 5,5 incluyen, aunque no de forma limitativa, copolímeros de ácido acrílico, copolímeros de ácido metacrílico (incluidos, por ejemplo, los comercializados bajo la marca Eudragit®), alginato de sodio, carragenato, ácido algínico, pectina y carboximetilcelulosa de sodio.

Los agentes entéricos incluyen, aunque no de forma limitativa, ftalato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, ftalato de acetato de polivinilo, copolímeros de ácido metacrílico, trimelitato de acetato de celulosa, acetato de hidroxipropilmetilcelulosa, succinato, goma laca y zeína.

Los agentes que aumentan la solubilidad de los aminoácidos a un pH superior a 5,5 incluyen, aunque no de forma limitativa, ácidos orgánicos. Dichos ácidos orgánicos mantienen un microambiente ácido en el comprimido e incluyen, aunque no de forma limitativa, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido adípico, gluconodelta-lactona y ácido málico.

Las composiciones de la presente invención se preparan típicamente primero por granulación en húmedo, recubrimiento y, si se desea una galleta, posteriormente se comprime en una forma farmacéutica de galleta después de mezclar con otros excipientes o aditivos adecuados tales como lubricantes, antiadherentes y agentes disgregantes. Los agentes aromatizantes se pueden añadir durante las etapas de granulación de modo que formen parte de los gránulos o “intragranular” o posteriormente se mezclan con los granulados, antes de la compresión de los granulados y, opcionalmente, antes de comprimirse en un comprimido/galleta.

En el método de granulación en húmedo, los aminoácidos y otros ingredientes se granulan con un fluido de granulación (por ejemplo, alcohol isopropílico, alcohol etílico, triclorometano o agua) en un mezclador orbital, un mezclador de alto cizallamiento o un granulador de lecho fluidizado. Los agentes aglutinantes pueden estar contenidos en el fluido de granulación o pueden estar en la mezcla seca. Los gránulos húmedos se secan en un horno o un secador de lecho fluidizado, y después se tamizan a través de un tamiz adecuado para obtener gránulos de flujo libre que se pueden recubrir después con excipientes funcionales o aditivos que pueden proporcionar un perfil de liberación modificada o prolongada o retardada.

Los agentes de carga pueden incluirse dentro de los gránulos o la formulación de galleta e incluyen, aunque no de forma limitativa, celulosa microcristalina, manitol, xilitol, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, almidones, lactosa, sacarosa, dextrosa, sorbitol, fructosa y polvo de celulosa. Cuando está presente, el agente de carga puede estar presente en la composición en una cantidad de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 90 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 50 % en peso.

Los agentes disgregantes que pueden incluirse en las formulaciones incluyen, aunque no de forma limitativa, celulosa microcristalina, almidones, crospovidona, almidón glicolato de sodio y croscarmelosa de sodio. Cuando está presente, el agente disgregante puede estar presente en la composición en una cantidad de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 30 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 1 % en peso a aproximadamente 15 % en peso.

Los antiadherentes y deslizantes que pueden emplearse en la composición incluyen, aunque no de forma limitativa, talco, almidón de maíz, dióxido de silicio, laurilsulfato de sodio y estearatos metálicos. Cuando está presente, el antiadherente o deslizante puede estar presente en la composición en una cantidad de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 15 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 5 % en peso.

Los lubricantes que pueden emplearse en la composición incluyen, aunque no de forma limitativa, estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de sodio, ácido esteárico, estearilfumarato de sodio, aceite de semilla de algodón hidrogenado, talco y ceras que incluyen, aunque no de forma limitativa, cera de abejas, cera de carnaúba, alcohol cetílico, estearato de glicerilo, palmitato de glicerilo, behenato de glicerilo, aceites vegetales hidrogenados y alcohol estearílico. Cuando está presente, el lubricante puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 20 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 5 % en peso.

Los agentes de unión ("aglutinantes") que pueden emplearse incluyen, aunque no de forma limitativa, polivinilpirrolidona, almidón, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, solución de sacarosa, solución de dextrosa, goma guar, goma de xantano, acacia, tragacanto, goma de algarrobo y alginato de sodio o cualquier otra sal de ácido algínico. Cuando está presente, el agente aglutinante puede estar presente en la composición en una cantidad de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 10 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 5 % en peso.

Los agentes de recubrimiento que pueden incluirse en la composición incluyen, aunque no de forma limitativa, etilcelulosa, acetato de celulosa, copolímeros de acetato de vinilo/cloruro de vinilo, copolímeros de acrilato/metacrilato, óxido de polietileno, hidroxipropilmetilcelulosa, carragenato, ácido algínico y sales del mismo, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, goma karaya, goma de acacia, goma de tragacanto, goma de algarrobo, goma guar, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, cera de abeja, cera de carnaúba, alcohol cetílico, aceites vegetales hidrogenados, alcohol estearílico, ácidos grasos y sus ésteres o derivados, incluidos behenatos de glicerilo y dipalmitoestearato de glicerilo, goma de xantano, almidones y derivados de almidón tales como acetato de maíz. Como se define en la reivindicación 1, en las composiciones de según la invención reivindicada, los granulados se recubren mediante un recubrimiento de 1 % en peso a 15 % en peso de etilcelulosa con respecto al peso de los aminoácidos.

Materiales de enmascaramiento del sabor

Los aminoácidos tienen inherentemente sabor amargo y, en una realización de la presente invención, estos aminoácidos amargos están microencapsulados con un material enmascarante del sabor. Los materiales útiles para enmascarar el sabor de las formulaciones farmacéuticas incluyen aquellos materiales que pueden microencapsular el aminoácido, protegiendo así los sentidos de su sabor amargo. Los materiales de enmascaramiento del sabor de la presente invención proporcionan formulaciones farmacéuticas superiores mediante, por ejemplo, la creación de una formulación farmacéutica más sabrosa en comparación con las formulaciones farmacéuticas y/o mediante la creación de una forma farmacéutica que requiere menos agentes de enmascaramiento de sabor o saborizantes tradicionales.

Los materiales de enmascaramiento del sabor incluyen, por ejemplo, éteres de hidroxipropilcelulosa (HPC); éteres de hidroxipropilo de baja sustitución (L-HPC); éteres de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC); polímeros de metilcelulosa; etilcelulosas (EC) y mezclas de las mismas; poli(alcohol vinílico) (PVA); hidroxietilcelulosas; carboximetilcelulcelulosas y sales de carboximetilcelulosas (CMC); copolímeros de poli(alcohol vinílico) y polietilenglicol; monoglicéridos, triglicéridos, polietilenglicoles, almidón alimentario modificado, polímeros acrílicos y mezclas de polímeros acrílicos con éteres de celulosa; ftalato de acetato de celulosa; sepifilms tales como mezclas de HPMC y ácido esteárico, ciclodextrinas y mezclas de estos materiales.

Además de microencapsular los aminoácidos con un material enmascarante del sabor o un material que mejora la vida útil de la formulación como se describe en la presente memoria, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden comprender uno o más agentes saborizantes. Los "agentes saborizantes" o "edulcorantes", útiles en las formulaciones farmacéuticas de la presente invención incluyen por ejemplo, jarabe de acacia, acesulfamo K, alitamo, anís, manzana, aspartamo, plátano, crema bávara, baya, grosella negra, sirope de caramelo, citrato de calcio, alcanfor, caramelo, cereza, crema de cereza, chocolate, canela, chicle de globo, cítricos, ponche de cítricos, crema de cítricos, algodón de azúcar, cacao, cola, cereza refrescante, cítrico refrescante, ciclamato, dextrosa, eucalipto, eugenol, fructosa, ponche de frutas, jengibre, glicirretinato, jarabe de glycyrrhiza (regaliz), uva, pomelo, miel, isomalt, limón, lima, crema de limón, glicirricinato de monoamonio, maltol, manitol, arce, malvavisco, mentol, crema de menta, mezcla de bayas, neohesperidina DC, neotamo, naranja, pera, melocotón, menta piperita, crema de menta piperita, frambuesa, cerveza de raíz, ron, sacarina, safrol, sorbitol, hierbabuena, crema de hierbabuena, fresa, crema

de fresa, estevia, sucralosa, sacarosa, sacarina sódica, sacarina, aspartamo, acesulfamo potásico, manitol, talina, xilitol, sucralosa, sorbitol, crema suiza, tagatosa, mandarina, taumatina, tutti frutti, vainilla, nuez, sandía, cereza silvestre, gaulteria, xilitol o cualquier combinación de estos ingredientes saborizantes, por ejemplo, anís-mentol, cereza-anís, canela-naranja, cereza-canela, chocolate-menta, miel-limón, limón-lima, limón-menta, mentol-eucalipto, naranja-nata, vainilla-menta y mezclas de los mismos. En otras realizaciones se incorpora cloruro de sodio en la formulación farmacéutica.

Basándose en los aminoácidos y excipientes o aditivos, un experto en la técnica sería capaz de determinar la mejor combinación de sabores para proporcionar al producto un sabor óptimo para la demanda de consumidor y el cumplimiento. Véase, por ejemplo, Roy y col., *Modifying Bitterness: Mechanism, Ingredients, and Applications* (1997).

Métodos de microencapsulación

El aminoácido puede microencapsularse con métodos conocidos por un experto en la técnica. Dichos métodos conocidos incluyen, por ejemplo, procesos de secado por pulverización, procesos de disco giratorio, procesos de fusión en caliente, métodos de congelación por pulverización, lecho fluidizado, deposición electrostática, extrusión centrífuga, separación con suspensión rotacional, polimerización en una interfase líquido-gas o sólido-gas, extrusión con presión o baño de extracción con disolvente pulverizado. Además de estas, también podrían usarse varias técnicas químicas, por ejemplo, coacervación compleja, evaporación de disolvente, incompatibilidad entre polímeros, polimerización interfacial en medio líquido, polimerización in situ, secado en el líquido y desolvatación en medio líquido. Además, también se pueden usar otros métodos tales como granulación en seco (es decir, compactación con rodillos y compresión), extrusión/esferonización o recubrimiento de nanopartículas.

Cuando se microencapsulan, los aminoácidos pueden estar presentes en tamaños de partícula que varían de 1 micrómetro a 1000 micrómetros, de 5 micrómetros a 200 micrómetros, o de 10 micrómetros a 100 micrómetros.

El secado por pulverización a menudo está más fácilmente disponible para su escalado a escala comercial. En diversas realizaciones, el material usado en el proceso de encapsulación en seco por pulverización se emulsiona o dispersa en el material de núcleo en una forma concentrada, por ejemplo, un 10-60 % de sólidos. En algunas realizaciones de la presente invención, la carga sólida está entre aproximadamente 10-20 %, o entre aproximadamente 10-40 %, o entre aproximadamente 40-60 %. En una realización, el material de microencapsulación se emulsiona hasta que se obtienen gotículas de aproximadamente 1 a 3 µm. En otras realizaciones, el material de microencapsulación se emulsiona hasta que se obtienen gotículas de aproximadamente 1 a 200 µm, o hasta que se obtienen gotículas de aproximadamente 1 a 100 µm. Una vez que se obtiene una dispersión de aminoácido y material de encapsulación, la emulsión se alimenta en forma de gotículas a la cámara calentada del secador por pulverización. En algunas realizaciones, las gotículas se pulverizan en la cámara o se centrifugan con un disco giratorio. A continuación, las microesferas se secan en la cámara calentada y caen hasta el fondo de la cámara de secado por pulverización, donde se recogen.

La coacervación implica la microencapsulación de materiales tales como ingredientes farmacéuticos activos e implica un proceso en tres partes de formación de partículas o gotículas, formación de la pared del coacervado y aislamiento de la cápsula. Este método puede producir microcápsulas de tamaño de partícula muy pequeñas (10-70 micrómetros).

La extrusión/esferonización es otro método que implica el amasado en húmedo de ingredientes farmacéuticos activos, seguido de la extrusión de la masa húmeda a través de una placa perforada para producir varillas cilíndricas cortas. Estas varillas se introducen posteriormente en un esferonizador que gira rápidamente para conformar las varillas cilíndricas en esferas uniformes. Las esferas se secan posteriormente usando un secador de lecho fluidizado y después se recubren con un recubrimiento funcional usando un lecho fluidizado provisto de una inserción Wurster y una boquilla de pulverización. Este método produce esferas lisas uniformes que son ideales para recibir un recubrimiento funcional. Son posibles cargas de fármaco tan altas como 80 % (dependiendo de las características del fármaco).

Métodos de recubrimiento por vía seca

Además de la microencapsulación, la estabilidad o el tiempo de liberación de los aminoácidos usados en la presente invención puede aumentarse con métodos alternativos tales como recubrimiento por vía seca y recubrimiento con nanopartículas. El recubrimiento por vía seca implica la formación de gránulos de aminoácido recubiertos que después se mezclan con otros componentes. La granulación en seco se consigue conformando polvos compactos densos que posteriormente se moliden hasta el tamaño de partícula deseado y después se mezclan con otros componentes de la composición farmacéutica. La granulación en seco y el recubrimiento con nanopartículas pueden proporcionar características mejoradas de estabilidad y enmascaramiento del sabor al producto farmacéutico activo, diluyendo y aislando dichos componentes en una matriz granulada de ingredientes compatibles que pueden mejorar la vida útil de los productos de aminoácidos y también enmascarar el sabor amargo si se usan edulcorantes o sabores en material de recubrimiento.

La técnica típica para la granulación en seco es usar compresión o compactación con rodillos. Durante el proceso de compresión, el polvo seco se comprime usando una máquina empastilladora convencional o, más habitualmente, una

prensa rotativa de alta velocidad y gran tamaño. El compactado resultante o “masa” se moltura después hasta el tamaño de partícula deseado. La compactación con rodillos es un método alternativo más suave; la mezcla de polvo se aprieta entre dos rodillos para formar una lámina comprimida. La lámina normalmente es débil y quebradiza y se disgrega inmediatamente en escamas. Estas escamas requieren un tratamiento más suave para disgregarlas en gránulos, y esto se puede lograr habitualmente con un mero cribado. Parikh, D. M., Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology, (Marcel Dekker ed. 1997).

Ingredientes adicionales

También se pueden incorporar otros ingredientes a las formulaciones de la presente invención, que incluyen vitaminas, minerales, grasas, ácidos grasos tales como DHA, EPA y ARA (ácido araquidónico), carbohidratos y otros compuestos, preferiblemente en cantidades terapéuticamente eficaces. Los minerales adecuados incluyen, por ejemplo, calcio, cloruro, cromo, cobre, fluoruro, yodo, hierro, magnesio, manganeso, molibdeno, fósforo, potasio, selenio, azufre, sodio y cinc. Los ejemplos de vitaminas adecuadas incluyen Vitamina A (Retinol, acetato y palmitato de retinilo, beta-caroteno), Tiamina (vitamina B1), Riboflavina (vitamina B2), Niacina (vitamina B3, ácido nicotínico), Ácido Pantoténico (vitamina B5), Vitamina B6 (piridoxina), Vitamina B12 (cobalamina), Biotina, Vitamina C (ácido ascórbico), Vitamina D (calciferol), Vitamina E (alfa-tocoferol), Ácido Fólico (folato) y Vitamina K (filoquinona, menaquinona).

En una realización, la formulación comprende uno o más, cinco o más, 10 o más, o todos los siguientes nutrientes, además de los aminoácidos presentes en la formulación, en cantidades terapéuticamente eficaces: colina, inositol, vitamina A, vitamina D, vitamina E, vitamina K, vitamina C, tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B6, folato, vitamina B12, biotina, ácido pantoténico, potasio, calcio, magnesio, hierro, cinc, cobre, manganeso, selenio, cromo, molibdeno, yodo, sodio, fósforo, cloruro, ácido docosahexaenoico, ácido araquidónico y luteína.

Por supuesto, se entenderá que cualquiera de los nutrientes anteriores puede estar presente en una forma bien conocida por los expertos en la técnica que proporcione un valor nutritivo similar, tales como sales y quelatos y ésteres y otros derivados de los nutrientes anteriores. La Tabla H describe un ejemplo de diversos nutrientes, dosis de nutrientes eficaces y derivados de nutrientes que pueden incorporarse a las formulaciones de la presente invención. La formulación puede incluir uno cualquiera o una combinación de estos nutrientes.

Tabla H

Sustancia		1-3 años gr/día	3-16 años gr/día	Durante 16 años gr/día
Vitamina	Vitamina A	0,00040000	0,00065000	0,00072000
	Vitamina D	0,00003200	0,00003250	0,00003600
	Vitamina E	0,00360000	0,00975000	0,02070000
	Vitamina K	0,00008000	0,00032500	0,00045000
	Vitamina C	0,04000000	0,07150000	0,13500000
	Tiamina	0,00060000	0,00104000	0,00135000
	Riboflavina	0,00060000	0,00195000	0,00270000
	Niacina	0,00720000	0,01300000	0,01800000
	Vitamina B6	0,00040000	0,00227500	0,00135000
	Folato	0,00012000	0,00013000	0,00036000
	Vitamina B12	0,00000600	0,00005200	0,00005400
	Biotina	0,00060000	0,00260000	0,00315000
	Ácido pantoténico	0,00400000	0,02275000	0,02700000
Mineral	Potasio	0,16000000	0,78000000	0,90000000
	Calcio	0,50000000	0,97500000	0,76500000
	Magnesio	0,06000000	0,22750000	0,19800000
	Hierro	0,01100000	0,01625000	0,01350000
	Cinc	0,00320000	0,01040000	0,01710000
	Cobre	0,00060000	0,00084500	0,00090000
	Manganeso	0,00040000	0,00182000	0,00252000

Sustancia		1-3 años gr/día	3-16 años gr/día	Durante 16 años gr/día
	Selenio	0,00001400	0,00003250	0,00009000
	Cromo	0,00000400	0,00003250	0,00006300
	Molibdeno	0,00002000	0,00006500	0,00007200
	Yodo	0,00008000	0,00011050	0,00015300
	Sodio	0,03600000	0,00000000	0,00000000
	Fósforo	0,20000000	0,78000000	0,63000000
	Cloruro	0,08000000	0,00000000	0,00000000
Otros nutrientes	DHA Ácido docosahexaenoico	0,08000000	0,26000000	0,27000000
	ARA ácido araquidónico	0,15000000	0,00000000	0,00000000
	Luteína	0,00600000	0,00000000	0,00000000
	Colina	0,07000000	0,14950000	0,18000000
	Inositol	0,06000000	0,07800000	0,09000000

Formulación final

- 5 La formulación según la invención comprende granulados de aminoácidos recubiertos con uno o más excipientes modificadores de la liberación, denominados también en la presente memoria “medios de recubrimiento para retrasar la velocidad de liberación de los aminoácidos” o “medios de recubrimiento para lograr la tasa de liberación citada”
- 10 Específicamente, como se ha explicado anteriormente, los granulados están recubiertos por una capa de entre un 1 % en peso y un 15 % en peso de etilcelulosa en función del peso de los aminoácidos. Los granulados se pueden preparar mediante técnicas de granulación en húmedo o en seco, como se ha descrito anteriormente, pero se fabrican
- 15 preferiblemente mediante granulación en húmedo. También se limitan preferiblemente a un intervalo de tamaños en particular, tal como 0,1-3 mm, 0,5-2,0 mm, 0,5-1,0 mm, 0,5-2,0 mm o 1,0-2,0 mm. Cada aminoácido puede estar contenido dentro de su propio granulado, pero los aminoácidos de liberación modificada están preferiblemente mezclados dentro de los granulados.
- 20 Las propiedades de liberación modificada se logran con un recubrimiento o recubrimientos modificadores de la liberación adecuados aplicados al granulado, en una cantidad de 1 % en peso a 30 % en peso o de 5 % en peso a 25 % en peso con respecto al peso de los aminoácidos. Los excipientes retardadores de la liberación adecuados para el recubrimiento se describen en otra parte de este documento. Según la presente invención, la composición comprende un recubrimiento de entre 1 % en peso y 15 % en peso, entre 2 % en peso y 10 % en peso, o entre 5 %
- 25 en peso y 7,5 % en peso de etilcelulosa basado en el peso de los aminoácidos. Otra composición preferida comprende un primer recubrimiento de etilcelulosa (como se ha descrito anteriormente) y un segundo recubrimiento de 5 % a 15 % o aproximadamente 10 % en peso de dibehenato de glicerilo con respecto al peso de los aminoácidos.

Ejemplos

- 25 Los siguientes ejemplos se exponen para proporcionar a los expertos en la técnica una descripción completa y de cómo se fabrican y evalúan las formulaciones reivindicadas en la presente memoria, y se pretende que sean meramente ilustrativas de la invención y no pretenden limitar el alcance de la invención. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números (p. ej., cantidades, temperatura, etc.), pero podrían existir
- 30 algunos errores y desviaciones.

Ejemplo 1 (Referencia) - Mezclas de aminoácidos ilustrativas para la fenilcetonuria

- 35 La Tabla 1 enumera cuatro mezclas de aminoácidos representativas independientes para la gestión dietética de la fenilcetonuria, en base porcentual.

Tabla 1

	A	B	C
Aminoácidos esenciales			
L-Isoleucina	5,11	7,18	5,11
L-Leucina	9,18	12,90	9,18

	A	B	C
Aminoácidos esenciales			
L-Lisina HCl	7,39	10,39	5,91 ¹
L-Treonina	3,8	5,34	5,28
L-Triptófano	1,68	2,36	1,68
L-Valina	6,39	8,98	6,39
L-Metionina	2,04	2,86	2,04
L-Histidina HCl	3,04	2,358	3,04 ¹
L-Arginina	6,14	4,764	6,14
AA es. totales	41,70	54,764	44,77
Aminoácidos no esenciales			
L-Alanina	6,0	4,665	6,0
Ácido L-Aspártico	9,18	7,122	9,20
L-Cistina	2,03	1,57	2,03
L-Glutamina	12,49	9,691	12,49
Glicina	4,48	3,47	4,48
L-Prolina	7,21	5,594	7,21
L-Serina	5,9	4,57	5,9
Taurina	0,300	0,232	0,25
L-Tirosina	7,51	5,82	7,51
L-Carnitina	0,16	0,124	0,16
AA no es. totales	58,30	45,236	55,23
AA totales	100	100	100

Ejemplo 2 (Referencia) - Formulaciones de polvo ilustrativas y proceso de fabricación

- 5 La siguiente tabla describe formulaciones de cinco productos independientes que contienen 18 aminoácidos (excluida la Metionina) usando Plasdone K26/32 como agente aglutinante y un agente de enmascarado del sabor (Productos 2, 3, 4 y 5). La formulación de referencia (Producto 1) no tiene Plasdone K26/32 ni saborizantes.

Tabla 2a. Composición de los Productos 1, 2, 3, 4 y 5

	Producto 1	Producto 2	Producto 3	Producto 4	Producto 5
<i>Componente</i>	g	g	g	g	g
L-Alanina	5,240	5,240	5,240	5,240	5,240
L-Arginina	6,140	6,140	6,140	6,140	6,140
Ácido L-Aspártico	9,180	9,180	9,180	9,180	9,180
L-Cistina	2,030	2,030	2,030	2,030	2,030
L-Glutamina	12,490	12,490	12,490	12,490	12,490
Glicina	4,480	4,480	4,480	4,480	4,480
L-Histidina HCl	3,040	3,040	3,040	3,040	3,040
L-Isoleucina	5,110	5,110	5,110	5,110	5,110
L-Leucina	9,180	9,180	9,180	9,180	9,180
L-Lisina HCl	7,390	7,390	7,390	7,390	7,390
L-Prolina	7,210	7,210	7,210	7,210	7,210
L-Serina	5,900	5,900	5,900	5,900	5,900

	Producto 1	Producto 2	Producto 3	Producto 4	Producto 5
<i>Componente</i>	g	g	g	g	g
Taurina	0,188	0,188	0,188	0,188	0,188
L-Treonina	4,540	4,540	4,540	4,540	4,540
L-Triptófano	1,680	1,680	1,680	1,680	1,680
L-Tirosina	7,510	7,510	7,510	7,510	7,510
L-Valina	6,360	6,360	6,360	6,360	6,360
L-Carnitina	0,116	0,116	0,116	0,116	0,116
<i>Suma</i>	97,784	97,784	97,784	97,784	97,784
Plasdane K26/32	0,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Saborizante ¹	0,000	0,000	1,250	1,400	1,500
¹ Producto 1 sin saborizante; Producto 2 sin saborizante; Producto 3 saborizante de caramelo; Producto 4 saborizante de vainilla; Producto 5 saborizante de plátano					

Cada una de las formulaciones se fabricó según el siguiente método general.

Etapa 1

5

Equipo de fabricación:

- Balanzas de varios tipos
- Mezclador de alta cizalladura: Mezclador de laboratorio Diosna P1/6
- Tamices
- Horno estático
- Mezcladora mecánica

15

Mezcla de aminoácidos Producto 1

- 20 Pesar con precisión los aminoácidos y mezclar durante 20 minutos con la mezcladora mecánica.

Preparación de granulado sin saborizante Producto 2

- 25 Pesar con precisión los aminoácidos y mezclar durante 20 minutos con la mezcladora mecánica. Transferir la mezcla al Diosna y mezclar durante 1 minuto a una velocidad de pala de 250 rpm. Humedecer la mezcla con una solución alcohólica de Plasdane K26/32 (10 % en solución de etanol-10 g para 100 g de Etanol). Después de un minuto y 30 segundos, añadir la solución y granular y mezclar durante tres minutos a una velocidad de pala de 250 rpm y una velocidad de corte de 500 rpm. Descargar el granulado y pasar a través de un tamiz con una anchura de 0,8 mm. Secar en un horno estático durante aproximadamente cuatro horas a 40 °C. Descargar y pasar de nuevo a través de un tamiz con una anchura de 0,8 mm.

30

Preparación de granulado con saborizante Productos 3, 4 y 5

- 35 Pesar con precisión los aminoácidos y mezclar durante 20 minutos con la mezcladora mecánica. Transferir la mezcla al Diosna y mezclar durante 1 minuto y 30 segundos a una velocidad de pala de 250 rpm. Humedecer la mezcla con una solución alcohólica de Plasdane K26/32 (10 % en solución de etanol- -10 g para 100 g de AA) y el saborizante. Las cantidades de saborizantes añadidos a la solución alcohólica de Plasdane K26/32 son las siguientes:

- 1,13 g de un contenido del 58 % de caramelo en Etanol (para el Producto 3)
- 1,13 g de un contenido del 60 % de vainilla en Etanol (para el Producto 4)
- 1,46 g de un contenido del 14 % de plátano en Etanol (para el Producto 5)

40

- 45 Después de un minuto y 30 segundos, mezclar la solución y granular durante tres minutos a una velocidad de pala de 250 rpm y una velocidad de corte de 500 rpm. Descargar el granulado y pasar a través de un tamiz con una anchura

ES 2 993 275 T3

de 0,8 mm. Secar en un horno estático durante aproximadamente cuatro horas a 40 °C. Descargar y pasar la mezcla a través de un tamiz con una anchura de 0,8 mm.

Etapa 2

- 5 Preparación de Metionina usando Plasdone K26/32 como agente aglutinante y agente de enmascarado del sabor junto con una cantidad muy pequeña de saborizante de caramelo usando un método de fabricación similar al método usado para los Productos 3, 4 y 5 indicados en la etapa 1.

10 Tabla 2b. Composición de L-Metionina granulada Producto 6

	Producto 6
<i>Componente</i>	g
L-Metionina ¹	250,0
Plasdone K26/32 ²	30
Saborizante de caramelo ³	3,6
<i>Suma</i>	289
¹ 100 g de L-Metionina corresponden a 103,2 g de L-Metionina granulada	
² Plasdone K26/32 20 % en solución etanólica: 30 g corresponden a 6 g de Plasdone K29/32	
³ Caramelo en solución etanólica al 58 %: 3,6 g corresponden a 2,088 g de caramelo puro	

Etapa 3

- 15 Preparación de la formulación final mezclando el polvo/granulados de la Etapa 1 con el granulado de la Etapa 2 en la cantidad indicada a continuación.

Tabla 2c. Composición de la formulación final de los Productos 7, 8, 9, 10 y 11

	Producto 7	Producto 8	Producto 9	Producto 10	Producto 11
<i>Componente</i>	g	g	g	g	g
L-Alanina	5,240	5,240	5,240	5,240	5,240
L-Arginina	6,140	6,140	6,140	6,140	6,140
Ácido L-Aspártico	9,180	9,180	9,180	9,180	9,180
L-Cistina	2,030	2,030	2,030	2,030	2,030
L-Glutamina	12,490	12,490	12,490	12,490	12,490
Glicina	4,480	4,480	4,480	4,480	4,480
L-Histidina HCl	3,040	3,040	3,040	3,040	3,040
L-Isoleucina	5,110	5,110	5,110	5,110	5,110
L-Leucina	9,180	9,180	9,180	9,180	9,180
L-Lisina HCl	7,390	7,390	7,390	7,390	7,390
L-Prolina	7,210	7,210	7,210	7,210	7,210
L-Serina	5,900	5,900	5,900	5,900	5,900
Taurina	0,188	0,188	0,188	0,188	0,188
L-Treonina	4,540	4,540	4,540	4,540	4,540
L-Triptófano	1,680	1,680	1,680	1,680	1,680
L-Tirosina	7,510	7,510	7,510	7,510	7,510
L-Valina	6,360	6,360	6,360	6,360	6,360
L-Carnitina	0,116	0,116	0,116	0,116	0,116
L-Metionina ¹	2,115	2,115	2,115	2,115	2,115
<i>Suma AA</i>	99,899	99,899	99,899	99,899	99,899

	Producto 7	Producto 8	Producto 9	Producto 10	Producto 11
<i>Componente</i>	g	g	g	g	g
Plasdone K26/32	0,050	1,050	1. 050	1,050	1,050
Sabor ²	0,000	0,000	1,250	1,400	1,500
2,115 g de <i>L-Metionina granulada en el Producto 7</i> corresponden a 2,050 g de Metionina ² Producto 7 sin saborizante (solamente una pequeña cantidad de caramelo procedente de la Metionina en polvo), Producto 8 sin saborizante (solamente una pequeña cantidad de caramelo procedente de la Metionina en polvo) Producto 9 saborizante de caramelo, Producto 10 saborizante de caramelo y vainilla, Producto 11 saborizante de caramelo y plátano					

Todos los Productos mencionados anteriormente se fabricaron mezclando polvo o granulados de los Productos 2, 3, 4 y 5 con el granulado del Producto 6.

5 Ejemplo 3 (Referencia) - Prueba de sabor

En las formulaciones finales indicadas en el Ejemplo 2 (Productos 8, 9, 10 y 11), se realizó el siguiente ensayo en 6 adultos sanos. Los resultados notificados son valores promedio:

10 Tabla 3. Resultados de la prueba de sabor

	Producto comercializado de referencia	Producto 8	Producto 9	Producto 10	Producto 11
Producto en yogur con saborizante de plátano:					
- OLOR	4,25	4,6	-	-	-
- SABOR	3,75	4,6	-	-	-
- Persistencia (mal sabor en la boca)	3	2,2	-	-	-
Producto en zumo de naranja:					
- OLOR	4	5	-	-	-
- SABOR	3,25	4,125	-	-	-
- Persistencia (mal sabor en la boca)	2,5	1,75	-	-	-
Producto en plátano prensado					
- OLOR	3,5	5	-	-	-
- SABOR	1	4,375	-	-	-
- Persistencia (mal sabor en la boca)	2,75	2,25	-	-	-
Producto disperso en agua:					
- OLOR	2,4	-	4,3	4,8	4,3
- SABOR	0,8	-	3,9	3,5	5
- Persistencia (mal sabor en la boca)	4,6	-	2,4	2	1,4
- Dispersabilidad	2	4	4	4	4
Leyenda: -Olor/Sabor: 0 = malo 5 = bueno - Persistencia (mal sabor en la boca): 0 = baja persistencia 5 = persistencia prolongada -Dispersabilidad: 0 = malo 5 = bueno					

Como muestran los datos anteriores, las formulaciones anteriores son mejores que el Producto comercializado de referencia y mejor que la formulación sin Plasdone K26/32 en términos de dispersabilidad y sabor.

15

Ejemplo 4 (Referencia) - Formulaciones de galletas ilustrativas y proceso de fabricación

Se prepararon varias formulaciones de galletas a partir de Productos granulados similares a los citados en el Ejemplo 2 (cambiando ligeramente las cantidades de saborizantes).

20

Tabla 4a

ES 2 993 275 T3

	Producto 1	Producto 2	Producto 3
<i>Componente</i>	g	g	g
L-Alanina	5,240	5,240	5,240
L-Arginina	6,140	6,140	6,140
Ácido L-Aspártico	9,180	9,180	9,180
L-Cistina	2,030	2,030	2,030
L-Glutamina	12,490	12,490	12,490
Glicina	4,480	4,480	4,480
L-Histidina HCl	3,040	3,040	3,040
L-Isoleucina	5,110	5,110	5,110
L-Leucina	9,180	9,180	9,180
L-Lisina HCl	7,390	7,390	7,390
L-Prolina	7,210	7,210	7,210
L-Serina	5,900	5,900	5,900
Taurina	0,188	0,188	0,188
L-Treonina	4,540	4,540	4,540
L-Triptófano	1,680	1,680	1,680
L-Tirosina	7,510	7,510	7,510
L-Valina	6,360	6,360	6,360
L-Carnitina	0,116	0,116	0,116
L-Metionina ¹	2,115	2,115	2,115
<i>Suma</i>	99,899	99,899	99,899
Plasdone K26/32	1. 050	1,050	1,050
Sabor ²	0,986	1,02	0,306
¹ 2,115 g de L-Metionina granulada corresponden a 2,050 g de Metionina			
² Producto 1 saborizante de caramelo, Producto 2 saborizante de vainilla, Producto 3 saborizante de plátano			

A los productos mencionados anteriormente se añadieron sacarosa, dióxido de silicio y dibehenato de glicerilo con un procedimiento de mezcla simple. Las formulaciones finales fueron las siguientes:

5 Tabla 4b

	Producto 4 ¹	Producto 5 ¹	Producto 6 ¹
<i>Componente</i>	g	g	g
L-Alanina	5,240	5,240	5,240
L-Arginina	6,140	6,140	6,140
Ácido L-Aspártico	9,180	9,180	9,180
L-Cistina	2,030	2,030	2,030
L-Glutamina	12,490	12,490	12,490
Glicina	4,480	4,480	4,480
L-Histidina HCl	3,040	3,040	3,040
L-Isoleucina	5,110	5,110	5,110
L-Leucina	9,180	9,180	9,180
L-Lisina HCl	7,390	7,390	7,390
L-Prolina	7,210	7,210	7,210

	Producto 4 ¹	Producto 5 ¹	Producto 6 ¹
<i>Componente</i>	g	g	g
L-Serina	5,900	5,900	5,900
Taurina	0,188	0,188	0,188
L-Treonina	4,540	4,540	4,540
L-Triptófano	1,680	1,680	1,680
L-Tirosina	7,510	7,510	7,510
L-Valina	6,360	6,360	6,360
L-Carnitina	0,116	0,116	0,116
L-Metionina ²	2,115	2,115	2,115
<i>Suma</i>	99,899	99,899	99,899
Plasdone K26/32	1,050	1,050	1,050
Sabor	0,986	1,02	0,306
Sacarosa	50,000	50,000	50,000
Dibehenato de glicerilo	1,500	1,500	1,500
¹ Producto 4 saborizante de caramelo, Producto 5 saborizante de vainilla, Producto 6 saborizante de plátano ² 2,115 g de L-Metionina granulada corresponden a 2,050 g de Metionina			

Se prepararon comprimidos usando una máquina de formación de comprimidos de monopunzón con un peso promedio entre 5,5 y 6,2 g. Para corregir algunos problemas de adherencia en el punzón, se preparó una nueva formulación a partir del Producto 1:

5

Tabla 4c

	Producto 7
<i>Componente</i>	g
L-Alanina	5,240
L-Arginina	6,140
Ácido L-Aspártico	9,180
L-Cistina	2,030
L-Glutamina	12,490
Glicina	4,480
L-Histidina HCl	3,040
L-Isoleucina	5,110
L-Leucina	9,180
L-Lisina HCl	7,390
L-Prolina	7,210
L-Serina	5,900
Taurina	0,188
L-Treonina	4,540
L-Triptófano	1,680
L-Tirosina	7,510
L-Valina	6,360
L-Carnitina	0,116
L-Metionina ¹	2,115
<i>Suma</i>	99,899

	Producto 7
<i>Componente</i>	g
Polivinilpirrolidona	1. 050
Saborizante de caramelo	0,986
Comprizuker	50,000
Dióxido de silicio	2,500
Dibehenato de glicerilo	2,500
¹ 2,115 g de <i>L-Metionina</i> granulada corresponden a 2,050 g de Metionina	

Ejemplo 5 (Referencia) - Prueba de sabor de la formulación de galleta

Los Productos 4, 5 y 6 notificados en el Ejemplo 4 se probaron para determinar el olor y el sabor por 6 adultos sanos. Los resultados notificados son valores promedio.

Tabla 5

	Saborizante del Producto 4	Saborizante del Producto 5	Saborizante del Producto 6
Olor	4,6	3,8	4,8
Sabor	4,4	3,8	3,6
Persistencia (mal sabor en la boca)	2,6	3,2	3,2
Leyenda: -Olor-Sabor-Vista: 0 = malo 5 = bueno - Persistencia (mal sabor en la boca): 0 = baja persistencia 5 = persistencia prolongada -Dispersabilidad: 0 = malo 5 = bueno			

Ejemplo 6 (Referencia) - Preparación de formulaciones de liberación modificada

Preparación de mezcla

Pesar y tamizar cada aminoácido individual, diluyente (si se usa) y HPMC y mezclar durante 20 minutos en una mezcladora mecánica apropiada.

Preparación de granulado sin saborizante

Transferir la mezcla al mezclador Diosna, mezclar durante 1 minuto con la velocidad de la pala establecida en 250 rpm. Humedecer la mezcla con una solución alcohólica de EC (15 % de contenido). Después de un minuto y 30 segundos, añadir la solución y granular durante tres minutos con una velocidad de pala de 250 rpm y una velocidad de corte de 500 rpm. Descargar el granulado y pasar a través de un tamiz con una anchura de 0,63 mm. Secar en un horno estático durante aproximadamente cuatro horas a 45 °C. Descargar y pasar a través de un tamiz con una anchura de 0,8 mm.

También es posible procesar 4-5 aminoácidos para formar granulados simultáneamente, y mezclar todos los granulados de aminoácidos entre sí para fabricar el producto final. Algunos ejemplos de formulaciones potenciales se presentan en el Ejemplo 1, Tabla 1.

Ejemplo 7 (Referencia) - Formulación de liberación modificada

La siguiente fórmula se preparó para determinar la cantidad de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y etilcelulosa (EC) necesarias para modificar la liberación de triptófano en una prueba de disolución.

Tabla 6. Composición del Producto

Componente	g
L-Isoleucina	14
L-Lisina HCl	20

Componente	g
L-Treonina	12
L-Triptófano	4
Manitol	10
HPMC (Methocel 4KM)	5
Solución de EC al 15 % en EtOH	19,5 ¹
Correspondiente a 3 g de EC	

Preparación de mezcla

- 5 Pesar y tamizar los aminoácidos individuales, manitol y HPMC y mezclar durante 20 minutos en un recipiente apropiado con la mezcladora mecánica.

Preparación de granulado sin saborizante

- 10 Transferir la mezcla al mezclador Diosna, mezclar durante 1 minuto con la velocidad de la pala establecida en 250 rpm. Humedecer la mezcla con una solución alcohólica de EC (etil celulosa) (15 % de contenido). Después de un minuto y 30 segundos, añadir la solución y granular durante tres minutos con la velocidad de pala de 250 rpm y la velocidad de corte de 500 rpm. Descargar el granulado y pasar a través de un tamiz con una anchura de 0,63 mm. Secar en un horno estático durante aproximadamente cuatro horas a 45 °C. Descargar y pasar a través de un tamiz con una anchura de 0,8 mm.

- 15 La formulación se evaluó en las condiciones de disolución indicadas a continuación para determinar la velocidad de liberación de triptófano a partir de la formulación (pH 1,2 durante 2 horas, aumento a pH 6,8 después de 2 horas) en condiciones de cesta a 50 y 100 rpm frente a una mezcla simple de AA sin recubrir. Los resultados del ensayo de disolución se presentan en la Figura 3. El análisis se realizó mediante HPLC.

- 20 Condiciones del ensayo de disolución

Aparato:	Paleta
Temperatura:	37 °C ± 5 °C
Medio:	Ácido clorhídrico 0,1 N
Ajuste del pH:	solución de fosfato trisódico dodecahidrato 0,2 M. Medio de volumen: 450 ml de HCl 0,1 N. Después de 120 minutos, ajustar el medio de disolución a pH 6,8 ± 0,05 (según la sección 2.9.3 de la Farmacopea Europea: Formas farmacéuticas sólidas de liberación retardada, Método A).
Velocidad:	50 rpm o 100 rpm
Tiempo de muestreo:	5 y 15 minutos para la formulación no recubierta 5, 15, 30, 60, 120, 125, 135, 150, 180 minutos para la formulación recubierta (después de 120 minutos, el pH del medio se cambió a pH 6,8)
Concentración de recipientes:	aproximadamente 90 µg/ml (una fracción del polvo de la formulación retardada permanece como sobrenadante durante la prueba de disolución)

- 25 Ejemplo 8 (Referencia) - Formulación de liberación modificada sin manitol

La siguiente formulación se preparó según los procedimientos citados en el Ejemplo 7 y se sometió a pruebas de disolución en las condiciones indicadas a continuación. La velocidad de liberación de triptófano de la formulación se representa en la Figura 4. El análisis se realizó mediante HPLC.

- 30 Tabla 7. Composición del Producto

Componente	g
L-Isoleucina	56
L-Lisina HCl	80
L-Treonina	48
L-Triptófano	16

Componente	g
HPMC (Methocel 4KM)	20
Solución de EC al 15 % en EtOH	80

Condiciones del ensayo de disolución

Aparato:	Paleta
Temperatura:	37 °C ± 5 °C
Medio:	Ácido clorhídrico 0,1 N
Medio de volumen:	450 ml
Velocidad:	50 rpm
Tiempos de muestreo:	5', 15', 30', 60', 120', 180'
Concentración de recipientes:	aproximadamente 90 µg/ml (una fracción del polvo de la formulación retardada permanece como sobrenadante durante la prueba de disolución)

5 Ejemplo 9 (Referencia) - Formulación de liberación modificada sin manitol ni HPMC (Methocel 4KM)

La siguiente formulación se preparó según los procedimientos citados en el Ejemplo 7 y se sometió a pruebas de disolución en las condiciones indicadas a continuación. La velocidad de liberación de triptófano de la formulación se representa en la Figura 5. El análisis se realizó mediante HPLC.

10 Tabla 8. Composición del Producto

Componente	g
L-Isoleucina	56,0
L-Lisina	80,0
L-Treonina	48,0
L-Triptófano	16,0
Etilcelulosa ¹	10,0
Total	210 g
Correspondiente a 67 g de una solución etanólica de Etilcelulosa al 15 %	

15 Preparación de mezcla

Pesar y tamizar los aminoácidos individuales y mezclar durante 20 minutos en un recipiente apropiado con la mezcladora mecánica.

20 Preparación de granulado sin saborizante

Transferir la mezcla al mezclador Diosna, mezclar durante 1 minuto con la velocidad de la pala establecida en 250 rpm. Humedecer la mezcla con una solución alcohólica de EC (etil celulosa) (15 % de contenido). Después de un minuto y 30 segundos, añadir la solución y granular durante tres minutos con la velocidad de pala de 500 rpm y la velocidad de corte de 1500 rpm. Descargar el granulado y pasar a través de un tamiz con una anchura de 0,8 mm. Secar en un horno estático durante aproximadamente 5 horas y 30 minutos a 45 °C. Descargar y pasar a través de un tamiz con una anchura de 1,4 mm.

La formulación se evaluó en las condiciones de disolución indicadas a continuación para determinar la velocidad de liberación de triptófano a partir de la formulación (pH 1,2) en condiciones de cesta a 50 rpm. Los resultados del ensayo de disolución se presentan en la Figura 5.

30 Condiciones del ensayo de disolución

Aparato:	Cesta
Temperatura:	37 °C ± 5 °C
Medio:	Ácido clorhídrico 0,1 N

ES 2 993 275 T3

Medio de volumen: 450 ml
 Velocidad: 50 rpm
 Tiempos de muestreo: 5', 15', 30', 60', 120', 180', 240', 300' y 360'
 Concentración de recipientes: aproximadamente 90 µg/ml (una fracción del polvo de la formulación retardada permanece como sobrenadante durante la prueba de disolución)

Ejemplo 10 - Formulación de liberación modificada de 19 aminoácidos recubiertos con etilcelulosa y dibehenato de glicerilo

5 La siguiente formulación se preparó según los procedimientos descritos a continuación.

Tabla 9. Composición del Producto

Componente	Mezcla final (g)	Mezcla final (%)
L-Isoleucina	3,20	4,18
L-Lisina HCl	4,63	6,05 ¹
L-Treonina	3,31	4,33
L-Triptófano	1,05	1,37
L-Leucina	5,75	7,52
L-Valina	4,00	5,23
L-Metionina	1,28	1,67
L-Cistina	1,27	1,66
L-Glutamina	7,82	10,22
L-Histidina HCl	2,35	3,07 ²
L-Alanina	3,76	4,91
L-Arginina	3,84	5,02
L-Serina	3,69	4,82
Glicina	2,81	3,67
Prolina	4,52	5,91
Ácido L-Aspártico	5,76	7,53
Taurina	0,16	0,21
L-Tirosina	4,70	6,14
L-Carnitina	0,10	0,13
Dibehenato de glicerilo	9,12	11,92
Alginato sódico	0,02	0,03
Etilcelulosa	3,37	4,40
Total	76,51	100,00 ³
Correspondiente a 4,84 g de L-Lisina base		
² Correspondiente a 2,49 g de L-Histidina base		
³ Correspondiente a 98,21 g si L-Lisina y L-Histidina se consideran como base		

10 Equipo de fabricación utilizado en la preparación del Producto

Equipo utilizado para la producción:

- Balanzas de varios tipos
- ProCepT Mipro en configuración de 900 ml
- Tamices

- Horno estático
- Recubrimiento en fondo de lecho fluidizado ProCepT (boquilla en estado fundido) (o cualquier otro aparato adecuado para el recubrimiento de fundido en caliente del granulado)

5 Mezcla de aminoácidos

Mezclar todos los aminoácidos en un aparato adecuado

10 Preparación del granulado

Transferir la mezcla de aminoácidos al ProCepT Mipro, añadir la solución de granulación compuesta por una solución acuosa de alginato de sodio al 2 % y granular. Después de la granulación, tamizar el granulado; usar la fracción que tiene $0,5 \text{ mm} < \text{PSD} < 1 \text{ mm}$ en la siguiente etapa.

15 Recubrimiento con etilcelulosa (recubrimiento de polímero)

Transferir la fracción tamizada de granulado al aparato de lecho fluidizado y pulverizar el recubrimiento con una solución metanólica de etilcelulosa al 15 % (p/p). La cantidad total de polímero añadida debería ser igual a aproximadamente 5,00 % del peso del granulado.

20 Recubrimiento con dibehenato de glicerilo (recubrimiento en masa fundida)

Transferir el granulado recubierto con etilcelulosa al aparato de lecho fluidizado y pulverizar el recubrimiento con dibehenato de glicerilo fundido. La cantidad total de polímero añadido debería ser igual a aproximadamente 15,00 % del peso del granulado.

Prueba de disolución del Producto

Medio de disolución:	pH del medio $1,2 \pm 0,1$ (ácido clorhídrico 0,1 N)
Aparato:	Aparato de palas (Aparato 2, USP <711> modificado); 50 rpm
Tiempo:	30 - 60 - 120 -180 minutos
Temperatura:	$37 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$
Medio de volumen:	500 ml
Muestra:	2,0 g de mezcla de aminoácidos
Prueba de disolución ponderal:	30-60-120-180 minutos

30 Los resultados del ensayo de disolución ponderal tienen en cuenta que la etilcelulosa y el dibehenato de glicerilo no son solubles en la solución de HCl. A 30-60-120-180 minutos, el medio de disolución se filtró a través de un filtro de papel al vacío. El polvo filtrado y el filtro se secaron durante ± 4 horas en un horno de vacío a $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que se logró un peso constante y las muestras se pesaron. Para la diferencia, la cantidad liberada de aminoácidos se calculó y se notificó en la Figura 6.

Ejemplo 11 - Fabricación y ensayo de disolución de una formulación de aminoácidos libres y formulaciones de liberación modificada

40 La Tabla 10a notifica la composición cualitativa y cuantitativa de una mezcla de AA representativa de la formulación de aminoácidos (bkT037/71)

Tabla 10a

Aminoácido	% (con HCl)	Aminoácido	% (como base)
L-Alanina	5,87	L-Alanina	5,87
L-Arginina	6,01	L-Arginina	6,01
L-Cistina	1,99	L-Cistina	1,99
L-Glutamina	12,22	L-Glutamina	12,22
Glicina	4,38	Glicina	4,38
L-Histidina HCl	3,67	L-Histidina	2,98

Aminoácido	% (con HCl)	Aminoácido	% (como base)
Ácido L-Aspártico	9,00	Ácido L-Aspártico	9,00
L-Prolina	7,06	L-Prolina	7,06
L-Serina	5,77	L-Serina	5,77
Taurina	0,24	Taurina	0,24
L-Tirosina	7,35	L-Tirosina	7,35
L-Carnitina	0,16	L-Carnitina	0,16
L-Isoleucina	5,00	L-Isoleucina	5,00
L-Lisina HCl	7,23	L-Lisina	5,78
L-Treonina	5,17	L-Treonina	5,17
L-Triptófano	1,64	L-Triptófano	1,64
L-Leucina	8,98	L-Leucina	8,98
L-Valina	6,25	L-Valina	6,25
L-Metionina	2,00	L-Metionina	2,00
Total	100	Total	97,86

Método de fabricación (general)

Equipo de fabricación utilizado en la preparación del Producto

5

- Balanzas de varios tipos
- Tamices

10

- Horno estático

- Mezcladora mecánica

Tamizar y mezclar todos los aminoácidos en un aparato adecuado

15

Los aminoácidos se pasan mecánicamente a través de un tamiz de acero inoxidable de 350 μ m y se mezclan durante 30 minutos en el mezclador.

Prueba de disolución del Producto

20

Medio de disolución:	pH del medio $1,2 \pm 0,1$ (ácido clorhídrico 0,1 N)
Aparato:	Aparato de palas (Aparato 2, USP <711> modificado) 50 rpm
Tiempo:	30 - 60 minutos
Temperatura:	$37 \pm 0,5$ °C
Medio de volumen:	500 ml
Muestra:	2,0 g de mezcla de aminoácidos
Prueba de disolución ponderal:	30-60-120-180 minutos

Cada punto temporal tiene su propio recipiente de disolución. A 30-60-120-180 minutos, el medio de disolución se filtró a través de un filtro de papel al vacío. El polvo filtrado y el filtro se secaron durante ± 4 horas en un horno de vacío a 50 °C hasta que se logró un peso constante y las muestras se pesaron. Para la diferencia, se calculó la cantidad liberada de aminoácidos

25

Resultados

Los resultados de la prueba de disolución ponderal se presentan en la Tabla 10b y la Figura 7.

30

Tabla 10b

Tiempo (min)	% AA liberado
0	0
30	99,96
60	100,00
120	99,95
180	99,99

Condiciones analíticas:

• HPLC: Agilent serie 1200

• Detector: Fluorímetro Agilent serie 1200

• Columna cromatográfica: YMC-Triart C18 12 nm S (250 x 4,6 mm - 5 µm)

Los aminoácidos se analizan después de la extracción (en diferentes formas) y la derivatización con FMOC (cloroformiato de 9-fluorenil metilo). Nota: La carnitina se analiza por CL/EM.

Los resultados de la prueba de disolución para la mezcla de AA (bkT037/71) se presentan en la Tabla 10c y la Figura 8.

Tabla 10c

	Tiempo (min)		
Aminoácido	0	30	60
Alanina	0	111,8	109,0
Arginina	0	110,1	107,0
Glutamina	0	85,9	84,3
Glicina	0	112,6	109,4
Histidina	0	102,7	96,3
Ácido Aspártico	0	103,7	106,6
Prolina	0	109,9	108,1
Serina	0	108,1	105,2
Taurina	0	120,0	125,8
Tirosina	0	103,9	101,2
Carnitina	0	122,5	121,3
Isoleucina	0	103,6	100,6
Lisina	0	103,8	101,6
Treonina	0	97,7	96,3
Triptófano	0	100,0	100,6
Leucina	0	110,1	106,6
Valina	0	105,4	103,4
Metionina	0	107,0	104,5

La Tabla 10d notifica las formulaciones cuantitativas y cualitativas de cuatro lotes diferentes de partículas de aminoácidos recubiertas con etilcelulosa.

Tabla 10d

ES 2 993 275 T3

Componente	APR Lote 1 (bkT037/72-1)	APR Lote 2 (bkT037/72-2)	APR Lote 3 (bkT037/72-3)	APR Lote 4 (bkT037/72-4)
PSD	0,5 mm < fracción < 1 mm	0,5 mm < fracción < 1 mm	1,0 mm < fracción < 1,6 mm	1,0 mm < fracción < 1,6 mm
Alanina	5,57	5,43	5,57	5,43
Arginina	5,70	5,55	5,70	5,55
Cistina	1,89	1,84	1,89	1,84
Glutamina	11,60	11,30	11,60	11,30
Glicina	4,16	4,05	4,16	4,05
Histidina HCl	3,48	3,39	3,48	3,39
Ácido Aspártico	8,55	8,32	8,55	8,32
Prolina	6,70	6,52	6,70	6,52
Serina	5,48	5,34	5,48	5,34
Taurina	0,23	0,23	0,23	0,23
Tirosina	6,98	6,79	6,98	6,79
Carnitina	0,15	0,14	0,15	0,14
Isoleucina	4,75	4,62	4,75	4,62
Lisina HCl	6,86	6,68	6,86	6,68
Treonina	4,90	4,78	4,90	4,78
Triptófano	1,56	1,52	1,56	1,52
Leucina	8,53	8,30	8,53	8,30
Valina	5,94	5,78	5,94	5,78
Metionina	1,90	1,85	1,90	1,85
Alginato sódico	0,07	0,07	0,07	0,07
Etilcelulosa	5,00	7,50	5,00	7,50
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

Método de fabricación (general)

Equipo de fabricación utilizado en la preparación del Producto

- 5
 - Balanzas de varios tipos
 - ProCepT Mipro en configuración de 900 ml
- 10
 - Tamices
 - Horno estático
- 15
 - Recubrimiento en fondo de lecho fluidizado ProCepT (boquilla en estado fundido) (o cualquier otro aparato adecuado para el recubrimiento de fundido en caliente del granulado)

Mezcla de aminoácidos

Mezclar todos los aminoácidos en un aparato adecuado.

- 20
 - Preparación del granulado
- 25
 - Transferir la mezcla de aminoácidos al ProCepT Mipro, añadir la solución de granulación compuesta por una solución acuosa de alginato de sodio al 2 % y granular. Después de la granulación, tamizar el granulado; usar la fracción que tiene 0,5 mm < PSD < 1 mm y 0,5 mm < PSD < 1,5 mm en la siguiente etapa.

Recubrimiento con etilcelulosa (recubrimiento de polímero)

Transferir la fracción tamizada del granulado al aparato de lecho fluidizado y pulverizar el recubrimiento con una solución etanólica de etilcelulosa al 15 % (p/p). La cantidad total de polímero añadido debería ser igual a aproximadamente 5,00 % y 7,50 % del peso del granulado.

Prueba de disolución del Producto

Condiciones de disolución:

Medio de disolución: pH del medio $1,2 \pm 0,1$ (ácido clorhídrico 0,1 N)
 Aparato: Aparato de paletas (Aparato 2. USP <711> modificado); 50 rpm
 Tiempo: 30 - 60 - 120 -180 -240 minutos
 Temperatura: $37 \pm 0,5$ °C
 Medio de volumen: 500 ml
 Muestra: 2,0 g de mezcla de aminoácidos
 Prueba de disolución ponderal: Tiempo de muestreo: 30-60-120-180 minutos
 Cada punto temporal tiene su propio recipiente de disolución.

A 30-60-120-180 minutos, el medio de disolución se filtró a través de un filtro de papel al vacío. El polvo filtrado y el filtro se secaron durante ± 4 horas en un horno de vacío a 50 °C hasta que se logró un peso constante y las muestras se pesaron. Para la diferencia, se calculó la cantidad liberada de aminoácidos.

Resultados

Los resultados de la prueba de disolución ponderal se presentan en la Tabla 10e y la Figura 9.

Tabla 10e

Lote	Tiempo (min)	% Aa liberado
APR Lote 1 bKT037/72-1)	0	0
	30	59
	60	73
	120	86
	180	90
APR Lote 2 (bKT037/72-2)	0	0
	30	59
	60	70
	120	82
	180	90
APR Lote 3 (bKT037/72-3)	0	0
	30	57
	60	70
	120	82
	180	88
APR Lote 4 (bKT037/72-4)	0	0
	30	44
	60	59
	120	62
	180	81

Los análisis de la liberación de los aminoácidos individuales se han realizado solo en los prototipos APR Lote 2 y APR Lote 4

Condiciones analíticas:

• HPLC: Agilent serie 1200

• Detector: Fluorímetro Agilent serie 1200

• Columna cromatográfica: YMC-Triart C18 12 nm S (250 x 4,6 mm - 5 µm)

Los aminoácidos se analizan después de la extracción (en diferentes formas) y la derivatización con FMOC (cloroformiato de 9-fluorenil metilo). Nota: La carnitina se analiza por CL/EM.

Resultados (aminoácidos individuales)

Los resultados de la prueba de disolución para la mezcla de APR Lote 2 (bkT03 7/72-2) se presentan en la Tabla 10f y la Figura 10.

Tabla 10f

	Tiempo (min)					
Aminoácido	0	30	60	120	180	240
Alanina	0	80,1	94,1	100,0	102,0	102,9
Arginina	0	113,7	111,9	109,7	108,8	109,2
Glutamina	0	53,2	70,7	83,7	82,8	82,5
Glicina	0	85,9	94,3	95,6	96,3	96,3
Histidina	0	84,0	102,2	104,0	108,4	105,5
Ácido Aspártico	0	48,1	57,9	71,8	84,0	91,2
Prolina	0	104,1	105,8	102,3	101,8	101,5
Serina	0	91,2	97,6	98,7	98,3	98,7
Taurina	0	85,7	89,6	90,0	82,2	83,5
Tirosina	0	4,5	6,8	12,4	23,0	32,1
Carnitina	0	128,6	112,9	108,6	121,4	112,1
Isoleucina	0	28,8	48,9	72,9	85,9	91,8
Lisina	0	98,1	103,4	102,8	102,2	101,7
Treonina	0	77,4	93,5	102,7	102,7	104,6
Triptófano	0	82,2	90,8	92,8	94,1	92,8
Leucina	0	33,0	53,1	76,9	89,8	95,8
Valina	0	65,9	83,6	94,1	98,6	100,2
Metionina	0	69,7	77,8	87,6	94,1	97,8

Los resultados de la prueba de disolución para la mezcla de APR Lote 4 (bkT037/72-4) se presentan en la Tabla 10g y la Figura 11.

Tabla 10g

	Tiempo (min)					
Aminoácido	0	30	60	120	180	240
Alanina	0	63,2	79,2	92,3	98,5	97,1
Arginina	0	89,9	98,7	103,4	106,5	107,7
Glutamina	0	35,6	48,8	67,1	76,5	79,5

	Tiempo (min)					
Glicina	0	73,6	86,9	94,6	98,8	97,8
Histidina	0	74,2	81,8	103,6	106,5	94,9
Ácido Aspártico	0	42,3	54,7	68,9	80,2	86,1
Prolina	0	92,5	100,6	105,4	108,0	106,7
Serina	0	78,1	91,4	95,9	100,4	99,1
Taurina	0	60,0	68,7	74,3	83,9	82,2
Tirosina	0	3,2	6,5	5,8	9,4	11,1
Carnitina	0	114,3	121,4	107,1	108,6	125,0
Isoleucina	0	15,6	28,8	47,0	63,4	73,2
Lisina	0	88,8	97,8	101,5	104,3	103,6
Treonina	0	60,0	78,0	96,2	104,2	105,2
Triptófano	0	65,7	77,6	86,2	91,4	91,4
Leucina	0	18,4	31,6	49,4	66,0	74,9
Valina	0	42,9	60,0	77,9	90,1	94,1
Metionina	0	43,2	61,6	67,6	88,1	85,4

Ejemplo 12 - Fabricación y prueba de disolución de formulaciones de liberación modificada usando etilcelulosa y dibehenato de glicerilo como agentes de recubrimiento

- 5 La Tabla 11a notifica la composición cualitativa y cuantitativa de 4 formulaciones de aminoácidos independientes recubiertas con etilcelulosa y dibehenato de glicerilo como agentes modificadores de la velocidad de liberación.

Tabla 11a

Componente	APR Lote 5 (bkT037/73-5)	APR Lote 6 (bkT037/73-6)	APR Lote 7 (bkT037/73-7)	APR Lote 8 (bkT037/73-8)
PSD	0,5 mm < fracción < 1 mm	0,5 mm < fracción < 1 mm	1,0 mm < fracción < 1,6 mm	1,0 mm < fracción < 1,6 mm
Alanina	5,00	4,87	5,00	4,87
Arginina	5,12	4,98	5,12	4,98
Cistina	1,69	1,65	1,69	1,65
Glutamina	10,41	10,13	10,41	10,13
Glicina	3,73	3,63	3,73	3,63
Histidina HCl	3,12	3,04	3,12	3,04
Ácido Aspártico	7,67	7,46	7,67	7,46
Prolina	6,01	5,85	6,01	5,85
Serina	4,92	4,79	4,92	4,79
Taurina	0,21	0,20	0,21	0,20
Tirosina	6,26	6,09	6,26	6,09
Carnitina	0,13	0,13	0,13	0,13
Isoleucina	4,26	4,15	4,26	4,15
Lisina HCl	6,16	6,00	6,16	6,00
Treonina	4,40	4,28	4,40	4,28
Triptófano	1,40	1,36	1,40	1,36
Leucina	7,65	7,45	7,65	7,45
Valina	5,32	5,18	5,32	5,18

Componente	APR Lote 5 (bkT037/73-5)	APR Lote 6 (bkT037/73-6)	APR Lote 7 (bkT037/73-7)	APR Lote 8 (bkT037/73-8)
Metionina	1,70	1,65	1,70	1,65
Alginato sódico	0,06	0,06	0,06	0,06
Etilcelulosa	4,49	6,71	4,49	6,71
Dibehenato de glicerilo	10,0	10,00	10,00	10,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

Método de fabricación (general)

Equipo de fabricación utilizado en la preparación del Producto

- 5
- Balanzas de varios tipos
 - ProCepT Mipro en configuración de 900 ml
- 10
- Tamices
 - Horno estático
- 15
- Recubrimiento en fondo de lecho fluidizado ProCepT (boquilla en estado fundido) (o cualquier otro aparato adecuado para el recubrimiento de fundido en caliente del granulado)

Mezcla de aminoácidos

Mezclar todos los aminoácidos en un aparato adecuado

- 20
- Preparación del granulado
- Transferir la mezcla de aminoácidos al ProCepT Mipro, añadir la solución de granulación compuesta por una solución acuosa de alginato de sodio al 2 % y granular. Después de la granulación, tamizar el granulado; usar la fracción que tiene 0,5 mm < PSD < 1 mm o 0,5 mm < PSD < 1,6 mm en la siguiente etapa.
- 25

Recubrimiento con etilcelulosa (recubrimiento de polímero)

- 30
- Transferir la fracción tamizada de granulado al aparato de lecho fluidizado y pulverizar el recubrimiento con una solución metanólica de etilcelulosa al 15 % (p/p). La cantidad total de polímero añadido debería ser igual a aproximadamente 5,00 % y 7,50 % del peso del granulado.

Recubrimiento con dibehenato de glicerilo (recubrimiento en masa fundida)

- 35
- Transferir el granulado recubierto con etilcelulosa al aparato de lecho fluidizado y pulverizar el recubrimiento con dibehenato de glicerilo fundido. La cantidad total de polímero añadido debería ser igual a aproximadamente 10,00 % del peso del granulado.

Condiciones analíticas:

- 40
- Prueba de disolución del Producto

Medio de disolución: pH del medio $1,2 \pm 0,1$ (ácido clorhídrico 0,1 N)

Aparato: Aparato de paletas (Aparato 2. USP <711> modificado); 50 rpm

Tiempo: 30 - 60 - 120 - 180 -240 minutos

Temperatura: $37 \pm 0,5$ °C

Medio de volumen: 500 ml

Muestra: 2,0 g de mezcla de aminoácidos

Tiempo de muestreo: 30-60-120-180 minutos

Prueba de
disolución
ponderal:

A 30-60-120-180 minutos, el medio de disolución se filtró a través de un filtro de papel al vacío. El polvo filtrado y el filtro se secaron durante ± 4 horas en un horno de vacío a 50 °C hasta que se logró un peso constante y las muestras se pesaron. Para la diferencia, se calculó la cantidad liberada de aminoácidos

Resultados

Los resultados de la prueba de disolución ponderal se presentan en la Tabla 11b y la Figura 12.

5

Tabla 11b

Lote	Tiempo (min)	% Aa liberado
APR Lote 5 (bKT037/73-5)	0	0
	30	40
	60	53
	120	67
	180	77
APR Lote 6 (bKT037/73-6)	0	0
	30	38
	60	50
	120	62
	180	69
APR Lote 7 (bKT037/73-7)	0	0
	30	26
	60	37
	120	55
	180	63
APR Lote 8 (bKT037/73-8)	0	0
	30	21
	60	29
	120	47
	180	56

Los análisis se han realizado en los prototipos APR Lote 5 y APR Lote 7

10

Condiciones analíticas:

- HPLC: Agilent serie 1200

15

- Detector: Fluorímetro Agilent serie 1200

- Columna cromatográfica: YMC-Triart C18 12 nm S (250 x 4,6 mm - 5 μ m)

Los aminoácidos se analizan después de su derivatización con FMOC (cloroformiato de 9-fluorenilmetilo) Nota: La carnitina se analiza por CL/EM.

20

Resultados (aminoácidos individuales)

Los resultados de la prueba de disolución de un solo aminoácido para el APR Lote 5 (bKT037/73-5) se presentan en la Tabla 11c y la Figura 13.

25

Tabla 11c

	Tiempo (min)					
Aminoácido	0	30	60	120	180	240
Alanina	0	54,4	82,0	102,2	102,0	102,2
Arginina	0	84,6	97,1	106,1	104,9	104,1
Glutamina	0	38,5	52,6	84,9	92,9	93,9
Glicina	0	64,9	84,7	96,8	95,7	102,4
Histidina	0	39,3	79,1	79,5	81,1	83,1
Ácido Aspártico	0	34,8	48,2	65,1	76,0	83,4
Prolina	0	87,7	97,2	101,8	99,2	98,7
Serina	0	70,1	86,6	96,1	95,5	95,1
Taurina	0	81,4	119,5	112,4	126,2	119,0
Tirosina	0	2,4	6,9	12,0	21,2	26,4
Carnitina	0	88,5	100,0	109,2	111,5	110,8
Isoleucina	0	11,2	26,8	58,7	75,8	82,6
Lisina	0	85,2	93,9	100,2	98,2	98,4
Treonina	0	47,5	74,1	95,5	97,3	100,2
Triptófano	0	68,8	77,9	87,9	96,4	90,7
Leucina	0	13,9	30,5	60,8	79,1	85,6
Valina	0	35,0	58,8	86,3	91,7	94,5
Metionina	0	47,4	73,5	87,6	91,2	99,4

Los resultados de la prueba de disolución de un solo aminoácido para el APR Lote 7 (bKT037/72-7) se presentan en la Tabla 11d y la Figura 14.

5 Tabla 11d

	Tiempo (min)					
<i>Aminoácido</i>	0	30	60	120	180	240
Alanina	0	39,0	60,8	86,8	95,0	96,0
Arginina	0	60,2	74,8	92,6	106,1	98,8
Glutamina	0	27,0	37,4	69,5	81,9	84,1
Glicina	0	47,5	66,0	88,2	96,5	94,6
Histidina	0	44,5	58,3	79,1	79,1	75,6
Ácido Aspártico	0	27,4	37,2	57,0	70,3	75,9
Prolina	0	67,1	79,0	95,8	91,2	98,7
Serina	0	51,4	67,7	87,2	94,3	93,3
Taurina	0	62,4	81,0	114,3	109,5	110,5
Tirosina	0	2,4	4,9	8,9	19,3	20,9
Carnitina	0	68,0	82,3	96,9	98,5	96,9
Isoleucina	0	5,8	15,0	39,7	61,3	69,7
Lisina	0	62,6	76,6	93,1	94,9	96,3
Treonina	0	31,6	54,3	84,1	94,8	98,2
Triptófano	0	45,7	63,2	82,1	86,4	90,7
Leucina	0	7,1	17,5	41,7	62,5	71,2
Valina	0	19,0	36,5	66,9	83,3	86,1

	Tiempo (min)					
Aminoácido	0	30	60	120	180	240
Metionina	0	31,9	48,0	77,6	75,9	88,2

La Tabla 11e y la Figura 15 notifican los aminoácidos totales liberados (prueba de disolución ponderal) en varios puntos temporales para cada una de las cuatro formulaciones de prueba, en comparación con una formulación de aminoácidos de liberación inmediata.

5

Tabla 11e

Lote	Tiempo (min)	% Aa liberado
APR Lote 2 (bkT037/72-2)	0	0
	30	59
	60	70
	120	82
	180	90
APR Lote 4 (bkT037/72-4)	0	0
	30	44
	60	59
	120	62
	180	81
APR Lote 5 (bkT037/73-5)	0	0
	30	40
	60	53
	120	67
	180	77
APR Lote 7 (bkT037/73-7)	0	0
	30	26
	60	37
	120	55
	180	63
Mezcla AA (bkT037/71)	0	0
	30	100
	60	100
	120	100
	180	100

Las Tablas 11f-11j notifican la cantidad de aminoácidos individuales liberados a partir de las cuatro formulaciones de ensayo diferentes en distintos puntos temporales.

10

Tabla 11f

	30 minutos				
Aminoácido	AA libre (bkT037/71)	APR Lote 2 (bkT037/72-2)	APR Lote 4 (bkT037/72-4)	APR Lote 5 (bkT037/73-5)	APR Lote 7 (bkT037/73-7)
Alanina	111,8	80,1	63,2	54,4	39,0
Arginina	110,1	113,7	89,9	84,6	60,2
Glutamina	85,9	53,2	35,6	38,5	27,0

	30 minutos				
Aminoácido	AA libre (bkT037/71)	APR Lote 2 (bkT037/72-2)	APR Lote 4 (bkT037/72-4)	APR Lote 5 (bkT037/73-5)	APR Lote 7 (bkT037/73-7)
Glicina	112,6	85,9	73,6	64,9	47,5
Histidina	102,7	84,0	74,2	39,3	44,5
Ácido Aspártico	103,7	48,1	42,3	34,8	27,4
Prolina	109,9	104,1	92,5	87,7	67,1
Serina	108,1	91,2	78,1	70,1	51,4
Taurina	120,0	85,7	60,0	81,4	62,4
Tirosina	103,9	4,5	3,2	2,4	2,4
Carnitina	122,5	128,6	114,3	88,5	68,0
Isoleucina	103,6	28,8	15,6	11,2	5,8
Lisina	103,8	98,1	88,8	85,2	62,6
Treonina	97,7	77,4	60,0	47,5	31,6
Triptófano	100,0	82,2	65,7	68,8	45,7
Leucina	110,1	33,0	18,4	13,9	7,1
Valina	105,4	65,9	42,9	35,0	19,0
Metionina	107,0	69,7	43,2	47,4	31,9

Tabla 11g

	60 minutos				
Aminoácido	AA libre (bkT037/71)	APR Lote 2 (bkT037/72-2)	APR Lote 4 (bkT037/72-4)	APR Lote 5 (bkT037/73-5)	APR Lote 7 (bkT037/73-7)
Alanina	109,0	94,1	79,2	82,0	60,8
Arginina	107,0	111,9	98,7	97,1	74,8
Glutamina	84,3	70,7	48,8	52,6	37,4
Glicina	109,4	94,3	86,9	84,7	66,0
Histidina	96,3	102,2	81,8	79,1	58,3
Ácido Aspártico	106,6	57,9	54,7	48,2	37,2
Prolina	108,1	105,8	100,6	97,2	79,0
Serina	105,2	97,6	91,4	86,6	67,7
Taurina	125,8	89,6	68,7	119,5	81,0
Tirosina	101,2	6,8	6,5	6,9	4,9
Carnitina	121,3	112,9	121,4	100,0	82,3
Isoleucina	100,6	48,9	28,8	26,8	15,0
Lisina	101,6	103,4	97,8	93,9	76,6
Treonina	96,3	93,5	78,0	74,1	54,3
Triptófano	100,6	90,8	77,6	77,9	63,2
Leucina	106,6	53,1	31,6	30,5	17,5
Valina	103,4	83,6	60,0	58,8	36,5
Metionina	104,5	77,8	61,6	73,5	48,0

5 Tabla 11h

ES 2 993 275 T3

	120 minutos			
Aminoácido	APR Lote 2 (bkT037/72-2)	APR Lote 4 (bkT037/72-4)	APR Lote 5 (bkT037/73-5)	APR Lote 7 (bkT037/73-7)
Alanina	100,0	92,3	102,2	86,8
Arginina	109,7	103,4	106,1	92,6
Glutamina	83,7	67,1	84,9	69,5
Glicina	95,6	94,6	96,8	88,2
Histidina	104,0	103,6	79,5	79,1
Ácido Aspártico	71,8	68,9	65,1	57,0
Prolina	102,3	105,4	101,8	95,8
Serina	98,7	95,9	96,1	87,2
Taurina	90,0	74,3	112,4	114,3
Tirosina	12,4	5,8	12,0	8,9
Carnitina	108,6	107,1	109,2	96,9
Isoleucina	72,9	47,0	58,7	39,7
Lisina	102,8	101,5	100,2	93,1
Treonina	102,7	96,2	95,5	84,1
Triptófano	92,8	86,2	87,9	82,1
Leucina	76,9	49,4	60,8	41,7
Valina	94,1	77,9	86,3	66,9
Metionina	87,6	67,6	87,6	77,6

Tabla 11i

	180 minutos			
	APR Lote 2 (bkT037/72-2)	APR Lote 4 (bkT037/72-4)	APR Lote 5 (bkT037/73-5)	APR Lote 7 (bkT037/73-7)
Alanina	102,0	98,5	102,0	95,0
Arginina	108,8	106,5	104,9	106,1
Glutamina	82,8	76,5	92,9	81,9
Glicina	96,3	98,8	95,7	96,5
Histidina	108,4	106,5	81,1	79,1
Ácido Aspártico	84,0	80,2	76,0	70,3
Prolina	101,8	108,0	99,2	91,2
Serina	98,3	100,4	95,5	94,3
Taurina	82,2	83,9	126,2	109,5
Tirosina	23,0	9,4	21,2	19,3
Carnitina	121,4	108,6	111,5	98,5
Isoleucina	85,9	63,4	75,8	61,3
Lisina	102,2	104,3	98,2	94,9
Treonina	102,7	104,2	97,3	94,8
Triptófano	94,1	91,4	96,4	86,4
Leucina	89,8	66,0	79,1	62,5
Valina	98,6	90,1	91,7	83,3

ES 2 993 275 T3

	180 minutos			
	APR Lote 2 (bkT03 7/72-2)	APR Lote 4 (bkT03 7/72-4)	APR Lote 5 (bkT037/73-5)	APR Lote 7 (bkT037/73-7)
Metionina	94,1	88,1	91,2	75,9

Tabla 11j

	240 minutos			
	APR Lote 2 (bkT037/72-2)	APR Lote 4 (bkT037/72-4)	APR Lote 5 (bkT037/73-5)	APR Lote 7 (bkT037/73-7)
Alanina	102,9	97,1	102,2	96,0
Arginina	109,2	107,7	104,1	98,8
Glutamina	82,5	79,5	93,9	84,1
Glicina	96,3	97,8	102,4	94,6
Histidina	105,5	94,9	83,1	75,6
Ácido Aspártico	91,2	86,1	83,4	75,9
Prolina	101,5	106,7	98,7	98,7
Serina	98,7	99,1	95,1	93,3
Taurina	83,5	82,2	119,0	110,5
Tirosina	32,1	11,1	26,4	20,9
Carnitina	112,1	125,0	110,8	96,9
Isoleucina	91,8	73,2	82,6	69,7
Lisina	101,7	103,6	98,4	96,3
Treonina	104,6	105,2	100,2	98,2
Triptófano	92,8	91,4	90,7	90,7
Leucina	95,8	74,9	85,6	71,2
Valina	100,2	94,1	94,5	86,1
Metionina	97,8	85,4	99,4	88,2

5 Ejemplo 13-Composición de aminoácidos final

La composición cuantitativa para la fenilcetonuria de la mezcla de aminoácidos se ha optimizado según las recomendaciones de los nutricionistas; los porcentajes de los aminoácidos individuales se notifican en la Tabla 12a.

10 Tabla 12a

Aminoácido	% (con HCl)	Aminoácido	% (como base)
L-Alanina	2,9	L-Alanina	2,9
L-Arginina	3,9	L-Arginina	3,9
L-Cistina	2,0	L-Cistina	2,0
L-Glutamina	19,5	L-Glutamina	19,5
Glicina	4,9	Glicina	4,9
L-Histidina HCl	3,4	L-Histidina	2,76
Ácido L-Aspártico	5,9	Ácido L-Aspártico	5,9
L-Prolina	5,9	L-Prolina	5,9
L-Serina	3,3	L-Serina	3,3
Taurina	0,3	Taurina	0,3

Aminoácido	% (con HCl)	Aminoácido	% (como base)
L-Tirosina	9,8	L-Tirosina	9,8
L-Carnitina	0,1	L-Carnitina	0,1
L-Isoleucina	5,4	L-Isoleucina	5,4
L-Lisina HCl	8,5	L-Lisina	6,80
L-Treonina	4,9	L-Treonina	4,9
L-Triptófano	2,0	L-Triptófano	2,0
L-Leucina	11,2	L-Leucina	11,2
L-Valina	4,9	L-Valina	4,9
L-Metionina	1,4	L-Metionina	1,4
Total	100	Total	98

Ejemplo 14 - Biodisponibilidad in vivo en cerdos

Se realizó un estudio de biodisponibilidad in vivo en cerdos para modelar la farmacocinética y el metabolismo previstos de las formulaciones de la presente invención, en comparación con una mezcla comparable de aminoácidos libres que tiene proporciones similares y cantidades totales de aminoácidos, y una formulación comercial de proteínas lácteas (caseína). Se estudiaron las siguientes formulaciones:

- APR-04 (bKT037/72-4)
- APR-07 (bKT037/73-7)
- Aminoácido libre (bKT037/71)
- Caseína

Diseño de estudio in vivo:

- Sujetos: 8 cerdos
- Diseño: 4 formulaciones de forma cruzada
- Vía de administración y método: oral, mediante sonda. La dosis del producto se administró a cada animal mezclado con una pequeña cantidad de agua (300 ml) para garantizar la ingesta rápida (≤ 5 minutos). La cantidad total del producto se administró usando jeringas. Los animales se mantuvieron en ayunas durante $13,5 \pm 0,5$ horas antes del tratamiento y el acceso al agua se suspendió una hora antes y una hora después del tratamiento.
- *Dosis, frecuencia y duración de la administración:* La cantidad de producto administrado se basó en peso corporal y fue igual a 0,8 g de aminoácidos/kg de peso corporal para cada producto de prueba. Los productos se administraron en una sola administración por la mañana de cada día de tratamiento.
- *Lavado:* 48-72 horas
- *Muestras de sangre:* 0,75 h antes del tratamiento (T), 0,5 h antes de T, 0,25 h antes de T, 0,25 h después de T, 0,5 h después de T, 0,75 h después de T, 1 h después de T, 1,25 h después de T, 1,5 h después de T, 2 h después de T, 2,5 h después de T, 3 h después de T, 4 h después de T, 5 h después de T
- *Análisis:* Se midieron y analizaron las concentraciones plasmáticas de 14 aminoácidos (Alanina, Arginina, Glutamina, Glicina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Prolina, Serina, Treonina, Triptófano, Tirosina, Valina). Se excluyeron la Metionina y el Ácido aspártico del análisis debido a problemas de estabilidad. Se evaluaron los siguientes parámetros: Área bajo la curva de concentración/tiempo (ABC_{0-última}), concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$), tiempo hasta la concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$) y $C_{última}$. El comportamiento de las dos formulaciones APR se comparó con la formulación de aminoácidos libres y caseína.

Resultados:

La concentración plasmática de un aminoácido (AA) es el resultado de sus velocidades de aparición (Ra) y desaparición (Rd) en y del plasma. Los factores que controlan la Ra incluyen la ingesta de proteínas y la liberación en

el tejido. Los factores que controlan la Rd incluyen la captación en el tejido y la pérdida corporal a través de orina, sudor, etc. Las hormonas también ayudan a regular las concentraciones plasmáticas de AA, especialmente la insulina y el glucagón, ambos de los cuales inducen hipoaminoacidemia (pero por razones bastante diferentes) y cortisol, que induce hiperaminoacidemia. Además, en estados patológicos, las catecolaminas, las hormonas tiroideas y las citocinas pueden modular los niveles de AA en plasma. La disponibilidad periférica de los AA después de la ingestión de proteínas se controla por el hígado, mediante la activación de la ureagénesis en la alimentación hiperproteica y represión en una dieta hipoproteica (Cynober 2002). Todos estos factores pueden alterar la concentración de aminoácidos en plasma notificada en la presente memoria.

1) Concentraciones medias agregadas de aminoácidos en plasma

Las concentraciones plasmáticas medias de los 14 aminoácidos a lo largo del tiempo, en base agregada, se presenta en la Figura 16 y la Tabla 14a. Los valores iniciales no se restaron antes de realizar los cálculos.

Tabla 14a

14 AA (DATOS SIN PROCESAR)	APR-04	APR-07	Aminoácidos libres	Caseína
ABC 0-última	1184,1	1141,8	1200,7	1125,6
$C_{\text{máx}}$	339,0	341,9	419,2	324,8
$C_{\text{última}}$	190,8	168,7	163,5	172,9

Se pueden realizar las siguientes observaciones:

- Las formulaciones de APR muestran un máximo en plasma más bajo para los aminoácidos agregados ($C_{\text{máx}}$) en comparación con la formulación de aminoácidos libres.

- Si se considera la curva de los aminoácidos individuales, las mediciones repetidas ANOVA aplicadas a datos transformados de forma Ln muestran una diferencia significativa ($p < 0,05$) en $C_{\text{máx}}$ de APR-04 frente a los aminoácidos libres para Arginina, Isoleucina, Leucina, Tirosina y Valina.

- Si se considera la curva de los aminoácidos individuales, las mediciones repetidas ANOVA aplicadas a datos transformados de forma Ln muestran una diferencia significativa ($p < 0,05$) en $C_{\text{máx}}$ de APR-07 frente a los aminoácidos libres para Isoleucina, Leucina, Tirosina y Valina.

- La diferencia en $C_{\text{máx}}$ es incluso más evidente si se tienen en cuenta los datos CR, donde se han restado los valores iniciales de los aminoácidos, como se muestra a continuación en la Tabla 14b, aunque la diferencia no es estadísticamente significativa para la media del agregado completo de los aminoácidos:

Tabla 14b

14 AA (DATOS CR)	APR-04	APR-07	Aminoácidos libres	Caseína
ABC 0-última	332,3	302,3	382,9	258,9
$C_{\text{máx}}$	168,6	172,5	251,5	147,3

- La concentración plasmática máxima inicial más elevada de los aminoácidos ($C_{\text{máx}}$) observada para la formulación de aminoácidos libres disminuye rápidamente, como se pone de manifiesto por el parámetro " $C_{\text{última}}$ ". " $C_{\text{última}}$ " es la concentración plasmática de aminoácidos en el último muestreo (5 h)

- Si se compara la curva de los aminoácidos individuales, en el grupo tratado con APR-04, la $C_{\text{última}}$ es más alta (pero no estadísticamente significativa salvo para Valina) comparado con el grupo de aminoácidos libres para Alanina, Arginina, Glutamina, Glicina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Prolina, Serina, Treonina, Triptófano y Valina (13 aminoácidos de 14)

- Si se compara la curva de los aminoácidos individuales, en el grupo tratado con APR-07, la $C_{\text{última}}$ es más alta (pero no estadísticamente significativa salvo para Valina, Isoleucina y Leucina) comparado con el grupo de aminoácidos libres para Arginina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Prolina, Triptófano, y Valina (8 aminoácidos de 14)

- La tendencia en $C_{\text{máx}}$ y $C_{\text{última}}$ observada en la curva de concentración plasmática para los aminoácidos agregados se vuelve estadísticamente significativa si se considera el subgrupo de aminoácidos esenciales y el subgrupo de AACR (aminoácidos de cadena ramificada) (véanse los puntos 2 y 3).

2) Media de concentraciones analizadas de aminoácidos esenciales (Arginina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Treonina, Lisina, Triptófano y Valina).

Las concentraciones plasmáticas medias de los aminoácidos esenciales analizados, en base agregada, se presentan en la Figura 17 y la Tabla 14c. Los aminoácidos agregados para su análisis fueron Arginina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Treonina, Lisina, Triptófano y Valina. Este subgrupo se eligió para el análisis porque estos aminoácidos no pueden sintetizarse endógenamente. Como resultado, sus concentraciones en plasma obtenidas por muestreo de la vena yugular pueden ser más representativas de la adsorción intestinal de las formulaciones analizadas que los aminoácidos no esenciales cuya presencia en sangre podría ser generada independientemente por el organismo.

Tabla 14c

AA ESENCIALES (DATOS SIN PROCESAR)	APR-04	APR-07	Aminoácidos libres	Caseína
ABC 0-última	1020,5	1029,0	1098,5	969,9
C _{máx}	277,0	292,9	409,0	299,1
T _{máx.}	1,50	1,19	0,88	1,16
C _{última}	170,7	166,2	138,2	153,0

El análisis estadístico de los datos presentados en la Tabla 14c (para el ABC, C_{máx} y C_{última}: mediciones repetidas de ANOVA monolateral con análisis post hoc y ajuste de Bonferroni; para T_{máx.}: La prueba de Friedman seguida de una prueba de signo múltiple para la comparación por pares) se presenta en la Tabla 14d.

Tabla 14d

DATOS SIN PROCESAR	AUC	C _{máx}	T _{máx.}	C _{última}
AA libre vs APR-04	NS	<0,01	NS	0,029
AA libre vs APR-07	NS	<0,01	NS	0,017

3) Media de concentración de AACR (aminoácidos de cadena ramificada: valina, isoleucina y leucina).

Las concentraciones plasmáticas medias de los aminoácidos de cadena ramificada analizados, en base agregada, se presentan en la Figura 18 y la Tabla 14e. Los aminoácidos agregados para su análisis fueron valina, isoleucina y leucina. Este subgrupo de aminoácidos esenciales se eligió para el análisis porque estos aminoácidos esenciales son únicos entre los aminoácidos ya que su primera etapa catabólica no puede producirse en el hígado. Como consecuencia, generalmente escapan del metabolismo hepático de primer paso (Brosnan y col.).

Tabla 14e

BCAA (DATOS SIN PROCESAR)	APR-04	APR-07	Aminoácidos libres	Caseína
ABC 0-última	1365,8	1367,3	1556,1	1365,3
C _{máx}	350,9	335,8	628,3	401,1
T _{máx.}	2,41	1,72	0,63	1,16
C _{última}	253,7	256,2	197,0	228,7

El análisis estadístico de los datos presentados en la Tabla 14e (para el ABC, C_{máx} y C_{última}: mediciones repetidas de ANOVA monolateral con análisis post hoc y ajuste de Bonferroni; para T_{máx.}: La prueba de Friedman seguida de una prueba de signo múltiple para la comparación por pares) se presenta en la Tabla 14f.

Tabla 14f

DATOS SIN PROCESAR	AUC	C _{máx}	T _{máx.}	C _{última}
AA libre vs APR-04	NS	<0,01	<0,01	0,045
AA libre vs APR-07	NS	<0,01	0,031	<0,01

4) Media en la concentración total de AANG (aminoácidos neutros grandes: fenilalanina, tirosina, triptófano, treonina, metionina, valina, isoleucina, leucina, histidina).

Las concentraciones plasmáticas de los aminoácidos neutros grandes analizados, en base agregada, se presentan en la Figura 19 y la Tabla 14g. Los aminoácidos agregados para su análisis fueron triptófano, treonina, valina, isoleucina, leucina e histidina. La tirosina se excluyó debido al comportamiento anómalo que mostró en la disolución y las pruebas in vivo, y la metionina porque no era estable en las muestras. La fenilalanina se excluyó del análisis porque no estaba presente en las formulaciones analizadas. Este subgrupo de aminoácidos esenciales se eligió para su análisis porque los AANG comparten con la fenilalanina un sistema de transporte común para entrar en el cerebro. La alta concentración plasmática de los AANG puede reducir la absorción en el cerebro (Van Spronsen y col) y, por lo tanto, podría conseguir ventajas clínicas. En particular, si el análisis en el subgrupo muestra un valor mayor de $C_{\text{última}}$ para las formulaciones APR en comparación con las formulaciones de aminoácidos libres, se puede especular que el paciente pueda tener una especie de “protección/tolerancia prolongada” a la fenilalanina.

Tabla 14g

AANG (DATOS SIN PROCESAR)	APR-04	APR-07	Aminoácidos libres	Caseína
ABC 0-última	925,0	921,8	1028,3	868,9
$C_{\text{máx}}$	244,3	240,0	383,9	256,6
$T_{\text{máx.}}$	2,16	1,22	0,69	1,16
$C_{\text{última}}$	166,9	161,8	132,5	143,0

El análisis estadístico de los datos presentados en la Tabla 14g (para el ABC, $C_{\text{máx}}$ y $C_{\text{última}}$: mediciones repetidas de ANOVA monolateral con análisis post hoc y ajuste de Bonferroni; para $T_{\text{máx.}}$: La prueba de Friedman seguida de una prueba de signo múltiple para la comparación por pares) se presenta en la Tabla 14h.

Tabla 14h

DATOS SIN PROCESAR	AUC	$C_{\text{máx}}$	$T_{\text{máx.}}$	$C_{\text{última}}$
AA libre vs APR-04	NS	<0,01	<0,01	0,031
AA libre vs APR-07	NS	<0,01	NS (0,070)	<0,01

Referencias citadas

AMIDON G.L. LENNERNÄS H. SHAH V.P. CRISON J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. Pharm. Res. 12:414-420 (1995)

BARACOS V.E. Animal models of amino acids metabolism: a focus on the intestine. J. Nutria. 134:1656S-1659S (2004)

BROSNAN JT. BROSNAN ME. Branched-chain amino acids: enzyme and substrate regulation. J Nutr. 2006 Ene;136(1 supl.):2075-11S.

CYNOBER LA. Plasma amino acid levels with a note on membrane transport: characteristics. regulation. and metabolic significance. Nutrition. Sept de 2002;18(9):761-6.

DIOGUARDI F.S. Clinical use of amino acids as dietary supplement: pros and cons. J. Cohexia Sarcopenia Muscle. 2:75-80 (2011)

EMA 2010. Guideline on the investigation of bioequivalence CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1. Londres. 20 de enero de 2010

GIOVANNINI M.. RIVA E.. SALVATICI E.. CEFALO G.. RADAELLI G. Randomized controlled trial of a protein substitute with prolonged release on the protein status of children with phenylketonuria. J. Am. Coll. Nutr. 33. 103-110 (2014)

GROPPER S.S. ACOSTA P.B. Effect of simultaneous ingestion of L-amino acids and whole protein on plasma amino acid and urea nitrogen concentrations in humans. J. Parenteral Enteral Nutr. 15:48-53 (1991)

KEOHANE P. P. GRIMBLE G. K. BROWN B. SPILLER R. C. Influence of protein composition and hydrolysis method on intestinal absorption of protein in man. Gut. 26:907-913 (1985)

MONTGOMERY R. DRYER R. L. CONWAY T. W. SPECTOR A. A. Biochimica. Aspetti medico biologici. Translation by Berra B.. Ragnotti G.. Tettamanti G.. Edi-Ermes. Milan. 1988

Capítulo 1: Nutrizione. pp. 1-47

Capítulo 2: Struttura delle proteine. pp. 49-121

5 Capítulo 10: Metabolismo degli amminoacidi. págs. 584-639.

NEY D.M. BLANK R.D. HANSEN K.E. Advances in the nutritional and pharmacological management of phenylketonuria. Co-Clinical Nutrition. Com. 17:61-68 (2014)

10 NEY DM. Does the PKU diet contribute to impaired renal function? J Inherit Metab Dis. 2013 Sep;36(5):903-4.

PENA MJ. ROCHA JC AND BORGES N. Amino Acids. Glucose Metabolism and Clinical Relevance for Phenylketonuria Management. Ann Nutr Disord & Ther -volumen 2 número 3 - 2015

15 VAN SPRONSEN FJ. DE GROOT MJ. HOEKSMA M. REIJNGOUD DJ. VAN RIJN M. Large neutral amino acids in the treatment of PKU: from theory to practice. J Inherit Metab Dis. 2010 Dic;33(6):671-6.

20 VLIET D. VAN. DERKS T.G.J. RIJN M. VAN. DE GROOT M.J. MCDONALD A. et al. Single amino acid supplementation in aminoacidopatients: a systemic review. Orphanet J. Rare Dis. 9:1-14 (2014)

WAISBREN S. E. NOEL K. FAHRDACH K. CELLA C. FRAME D. DORENBAUM A. LEVY H. Phenylalanine blood levels and clinical outcomes in phenylketonuria: a systemic literature review and meta-analysis. Mol. Genet. Metab. 92:63-70 (2007)

25 Branched Chain Amino Acids in Clinical Nutrition- Volume 1. Rajendram. R; Preedy. V.R.; Patel.V.B. (Eds) 2015. XXViii. 270 p.91 illus. in color. Hardcover

WHANG K.Y. Y EASTER R.A. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 2000 Vol.13. N.º 6:811-816

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de aminoácidos para administración oral, que comprende granulados de diez o más de los siguientes aminoácidos en las partes en peso mencionadas:

5

Aminoácido	Partes en peso
L-Alanina	2,0-12,0
L-Arginina	3,0-10,5
Ácido L-Aspártico	5,0-10,5
L-Cistina	1,5-4,0
Ácido L-Glutámico + Glutamina	7,0-25,0
Glicina	3,5-15,0
L-Histidina	2,0-6,5
L-Isoleucina	2,0-8,5
L-Leucina	8,0-15,0
L-Lisina	4,5-10,5
L-Metionina	1,0-3,0
L-Fenilalanina	0,0 o 4,0-7,5
L-Prolina	3,5-15,0
L-Serina	2,0-8,5
L-Treonina	4,0-7,5
L-Triptófano	1,0-4,0
L-Tirosina	0,0 o 2,5-14,0
L-Valina	2,5-10,0
L-Carnitina	0,0-0,2
Taurina	0,05-1,0

en donde los granulados se recubren mediante un recubrimiento de 1 % en peso a 15 % en peso de etilcelulosa con respecto al peso de los aminoácidos; y

- 10 en donde 2 g de dichos aminoácidos en dichos granulados liberan no más del 60 % de los aminoácidos en 30 minutos durante una prueba de disolución realizada en un equipo de paletas según la norma <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 500 ml, ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm.

- 15 2. La formulación de la reivindicación 1, que comprende diez o más de los aminoácidos citados en dichos granulados en las siguientes partes en peso:

Aminoácido	Partes en peso
L-Alanina	2,0-7,0
L-Arginina	3,0-8,2
Ácido L-Aspártico	5,0-10,5
L-Cistina	1,5-4,0
Ácido L-Glutámico + Glutamina	10,0-22,0
Glicina	4,0-8,0
L-Histidina	2,5-5,0
L-Isoleucina	4,0-7,0
L-Leucina	8,0-14,0
L-Lisina	4,9-9,0

Aminoácido	Partes en peso
L-Metionina	1,0-3,0
L-Fenilalanina	4,5-7,0
L-Prolina	4,0-10,0
L-Serina	3,0-7,0
L-Treonina	4,0-6,5
L-Triptófano	1,5-3,0
L-Tirosina	6,5-12,0
L-Valina	4,0-8,0
L-Carnitina	0,05-0,2
Taurina	0,1-0,7

3. La formulación de la reivindicación 1, que comprende los aminoácidos esenciales o aminoácidos de cadena ramificada citados en dichos granulados en las partes en peso citadas.

5 4. La formulación de la reivindicación 1, que comprende diez o más de los siguientes aminoácidos en dichos granulados en las partes en peso mencionadas:

Aminoácido	Partes en peso
L-Alanina	2,0-7,0
L-Arginina	3,0-8,0
Ácido L-Aspártico	5,0-10,5
L-Cistina	1,5-3,0
Ácido L-Glutámico + Glutamina	11,0-22,0
Glicina	4,0-6,0
L-Histidina	2,0-3,5
L-Isoleucina	4,5-6,5
L-Leucina	8,0-13,0
L-Lisina	4,9-8,0
L-Metionina	1,0-3,0
L-Fenilalanina	0,0
L-Prolina	5,0-8,2
L-Serina	3,0-7,0
L-Treonina	4,0-6,0
L-Triptófano	1,5-3,0
L-Tirosina	6,5-12,0
L-Valina	4,0-8,0
L-Carnitina	0,05-0,2
Taurina	0,2-0,5

que comprende 0,0 partes en peso de L-fenilalanina.

10 5. La formulación de la reivindicación 1, que comprende diez o más de los siguientes aminoácidos en dichos granulados en las partes en peso mencionadas:

Aminoácido	Partes en peso
L-Alanina	3,5-5,0

Aminoácido	Partes en peso
L-Arginina	7,0-8,0
Ácido L-Aspártico	6,0-8,0
L-Cistina	2,5-3,5
Ácido L-Glutámico + Glutamina	8,0-12,0
Glicina	6,0-8,0
L-Histidina	4,0-5,0
L-Isoleucina	6,0-8,0
L-Leucina	10,0-12,5
L-Lisina	7,5-9,5
L-Metionina	1,5-2,5
L-Fenilalanina	0,0
L-Prolina	7,5-9,0
L-Serina	4,5-6,0
L-Treonina	5,0-6,5
L-Triptófano	1,5-3,0
L-Tirosina	0,0
L-Valina	6,5-8,0
L-Carnitina	0,0-0,2
Taurina	0,05-0,5

que comprende 0,0 partes en peso de L-tirosina y 0,0 partes en peso de L-fenilalanina.

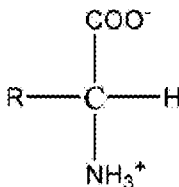
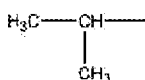
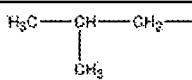
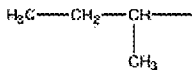
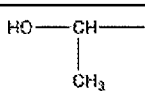
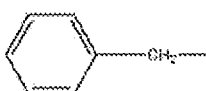
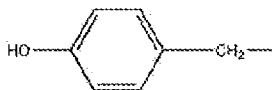
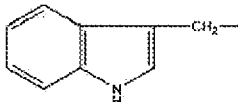
- 5 6. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la formulación comprende además uno o más ingredientes adicionales seleccionados del grupo que consiste en vitaminas, minerales y carbohidratos, y/o en donde la formulación comprende además uno o más ingredientes adicionales seleccionados del grupo que consiste en colina, inositol, vitamina A, vitamina D, vitamina E, vitamina K, vitamina C, tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B6, folato, vitamina B12, biotina, ácido pantoténico, potasio, calcio, magnesio, hierro, cinc, cobre, manganeso, selenio, cromo, molibdeno, yodo, sodio, azufre, fósforo, ácido docosahexaenoico, ácido eicosapentanoico, ácido araquidónico y luteína, y sales, quelatos y ésteres de los mismos.
- 10 7. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende además un agente de carga seleccionado de lactosa, sacarosa, dextrosa, sorbitol, fructosa y polvo de celulosa; y/o que comprende además un agente disgregante seleccionado de celulosa microcristalina, almidones, croscovidona, glicolato sódico de almidón y croscarmelosa sódica; y/o que comprende además un agente deslizante o lubricante seleccionado de talco, almidón de maíz, dióxido de silicio, laurilsulfato de sodio, estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de sodio, ácido esteárico, estearilfumarato de sodio, aceite de semilla de algodón hidrogenado, talco, ceras, alcohol cetílico, estearato de glicerilo, palmitato de glicerilo, behenato de glicerilo, aceites vegetales hidrogenados y alcohol estearílico; y/o que comprende además un aglutinante seleccionado de alginato de sodio o una sal de ácido algínico; y/o que comprende además un agente de enmascarado del sabor seleccionado de éteres de hidroxipropilcelulosa (HPC); éteres de hidroxipropilo de baja sustitución (L-HPC); éteres de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC); polímeros de metilcelulosa; Etilcelulosas (EC) y mezclas de los mismos; Poli(alcohol vinílico) (PVA); hidroxietilcelulosas; carboximetilcelulcelulosas y sales de carboximetilcelulosas (CMC); copolímeros de poli(alcohol vinílico) y polietilenglicol; monoglicéridos, triglicéridos, polietilenglicoles, almidón alimentario modificado, polímeros acrílicos y mezclas de polímeros acrílicos con éteres de celulosa; ftalato de acetato de celulosa; sepifilms tales como mezclas de HPMC y ácido esteárico, ciclodextrinas y mezclas de las mismas; y/o que comprende un agente saborizante seleccionado entre jarabe de acacia, acesulfamo K, alitamo, anís, manzana, aspartamo, plátano, crema bávara, baya, grosella negra, sirope de caramelo, citrato de calcio, alcanfor, caramelo, cereza, crema de cereza, chocolate, canela, chicle de globo, cítricos, ponche de cítricos, crema de cítricos, algodón de azúcar, cacao, cola, cereza refrescante, cítrico refrescante, ciclamato, cilamato, dextrosa, eucalipto, eugenol, fructosa, ponche de frutas, jengibre, glicirretinato, jarabe de glycyrrhiza (regaliz), uva, pomelo, miel, isomalt, limón, lima, crema de limón, glicirricinato de monoamonio, maltol, manitol, arce, malvavisco, mentol, crema de menta, mezcla de bayas, neohesperidina DC, neotamo, naranja, pera,
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35

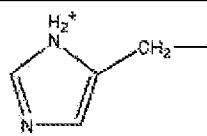
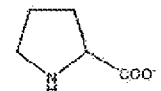
melocotón, menta piperita, crema de menta piperita, frambuesa, cerveza de raíz, ron, sacarina, safrol, sorbitol, hierbabuena, crema de hierbabuena, fresa, crema de fresa, estevia, sucralosa, sacarosa, sacarina sódica, sacarina, aspartamo, acesulfamo potásico, manitol, talina, xilitol, sucralosa, sorbitol, crema suiza, tagatosa, mandarina, taumatina, tutti frutti, vainilla, nuez, sandía, cereza silvestre, gaulteria, xilitol o una combinación de los mismos.

- 5
8. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende un aglutinante que es alginato de sodio o cualquier otra sal de ácido algínico.
- 10 9. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde los granulados se recubren con un primer recubrimiento de 1 % en peso a 15 % en peso de etilcelulosa y un segundo recubrimiento de 5 % en peso a 15 % en peso de dibehenato de glicerilo con respecto al peso de los aminoácidos.
- 15 10. Un método para fabricar una formulación de cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende:
 - a. proporcionar una primera mezcla que comprende una pluralidad de aminoácidos;
 - b. poner en contacto la mezcla con un agente humectante y un aglutinante para formar una mezcla húmeda;
 - c. opcionalmente hacer pasar la mezcla húmeda a través de un tamiz para formar un granulado húmedo uniforme;
 - 20 d. secar el granulado húmedo uniforme para formar un granulado seco;
 - e. opcionalmente pasar el granulado seco a través de un tamiz para formar un granulado seco uniforme; y
 - f. recubrir el granulado seco uniforme con una composición de liberación modificada.
- 25 11. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que comprende además uno o más excipientes modificadores de la liberación seleccionados del grupo que consiste de etilcelulosa, dibehenato de glicerilo, acetato de celulosa, copolímeros de acetato de vinilo/cloruro de vinilo, copolímeros de acrilato/metacrilato, óxido de polietileno, hidroxipropilmetilcelulosa, carragenato, ácido algínico y sales del mismo, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, goma karaya, goma de acacia, goma tragacanto, goma de algarrobo, goma guar, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, cera de abeja, cera de carnaúba, alcohol cetílico, aceites vegetales hidrogenados, alcohol estearílico, copolímeros de ácido acrílico, alginato sódico, carragenato, ácido algínico, pectina, carboximetilcelulosa de sodio o una combinación de los mismos; y/o que comprende además un aglutinante seleccionado entre polivinilpirrolidona, almidón, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, solución de sacarosa, solución de dextrosa, goma guar, goma de xantano, acacia, tragacanto, goma de algarrobo y alginato de sodio o una sal de ácido algínico.
- 35 12. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 u 11 para su uso en el tratamiento de una enfermedad que implica un deterioro en el metabolismo de los aminoácidos.
- 40 13. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 u 11 para su uso en el tratamiento de un trastorno metabólico seleccionado del grupo que consiste en fenilcetonuria, tirosinemia, leucinosis, acidemia metilmalónica hiperglicinemia, acidemia isovalérica, acidemia propiónica y acidemia glutámica, en donde la formulación se administra por vía oral.
- 45 14. La formulación de la reivindicación 4 o cualquiera de sus reivindicaciones dependientes 6 a 9 u 11 para su uso en el tratamiento de la fenilcetonuria, en donde la formulación se administra por vía oral.
15. La formulación de la reivindicación 5 o cualquiera de sus reivindicaciones dependientes 6 a 9 u 11 para su uso en el tratamiento de la tirosinemia, en donde la formulación se administra por vía oral.

FIGURA 1

Clasificación de los aminoácidos presentes en proteínas

Estructura general de los aminoácidos						
						
Nombre	Abreviaturas	R-	Valores de pK _a			
Aminoácidos alifáticos			-COO ⁻	-NH ₃ ⁺	Otros	
Glicina	Gly	H-----	2,34	9,60	-	
Alanina	Ala	CH ₃ —	2,35	9,69	-	
Valina	Val		2,32	9,62	-	
Leucina	Leu		2,36	9,60	-	
Isoleucina	Ile		2,36	9,68	-	
Serina	Ser	HO—CH ₂ —	2,21	9,15	-	
Treonina	Thr		2,09	9,10	-	
Aminoácidos aromáticos						
Fenilalanina	Phe		1,83	9,13	-	
Tirosina	Tyr		2,20	9,11	10,07	
Triptófano	Trp		2,38	9,38	-	

Aminoácidos ácidos					
Ácido aspártico	Asp	$\text{---CH}_2\text{---COO}^-$	2,01	9,93	3,80
Asparagina	Asn	$\text{---CH}_2\text{---C(=O)NH}_2$	2,02	8,80	-
Ácido glutámico	Glu	$\text{---CH}_2\text{---CH}_2\text{---COO}^-$	2,13	9,76	4,31
Glutamina	Gln	$\text{---CH}_2\text{---CH}_2\text{---C(=O)NH}_2$	2,17	9,13	
Aminoácidos básicos					
Lisina	Lys	$\text{H}_2\text{C---CH}_2\text{---CH}_2\text{---CH}_2\text{---NH}_3^+$	2,18	8,95	10,53
Arginina	Arg	$\text{H}_3\text{N}^+\text{---C(=NH)---NH---CH}_2\text{---CH}_2\text{---CH}_2\text{---}$	2,17	9,04	12,48
Histidina	His		1,82	9,17	6,0
Aminoácidos sulfurados					
Cisteína	Cys	$\text{HS---CH}_2\text{---}$	1,91	10,36	8,24
Metionina	Met	$\text{H}_3\text{C---S---CH}_2\text{---CH}_2\text{---}$	2,28	9,21	
Iminoácidos					
Prolina	Pro		1.95	10.64	
Otros aminoácidos					
Hidroxilisina		$\text{H}_2\text{C---C(OH)(H)---CH}_2\text{---CH}_2\text{---NH}_3^+$	2,13	8,62	9,67
Cistina		$\text{H}_2\text{C---S---S---CH}_2\text{---}$	1,04	8,02	
			2,1	8,71	

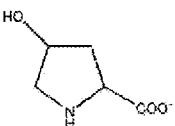
Hidroxirolina		1,92	9,73
---------------	---	------	------

FIGURA 2

Aminoácidos esenciales para seres humanos

Aminoácidos	
Arginina	} Aminoácidos esenciales solamente para bebés
Histidina	
Isoleucina	} Aminoácidos esenciales para adultos
Leucina	
Treonina	
Lisina	
Metionina	
Fenilalanina	
Triptófano	
Valina	

FIGURA 3

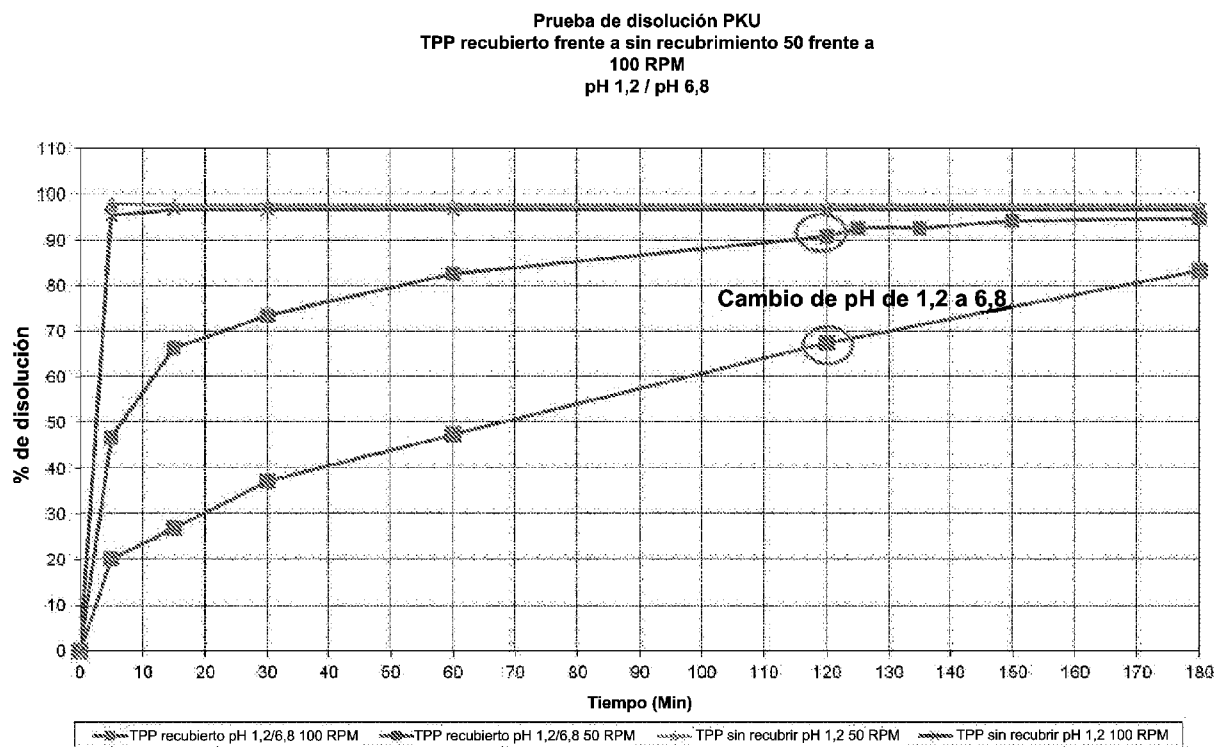


FIGURA 4

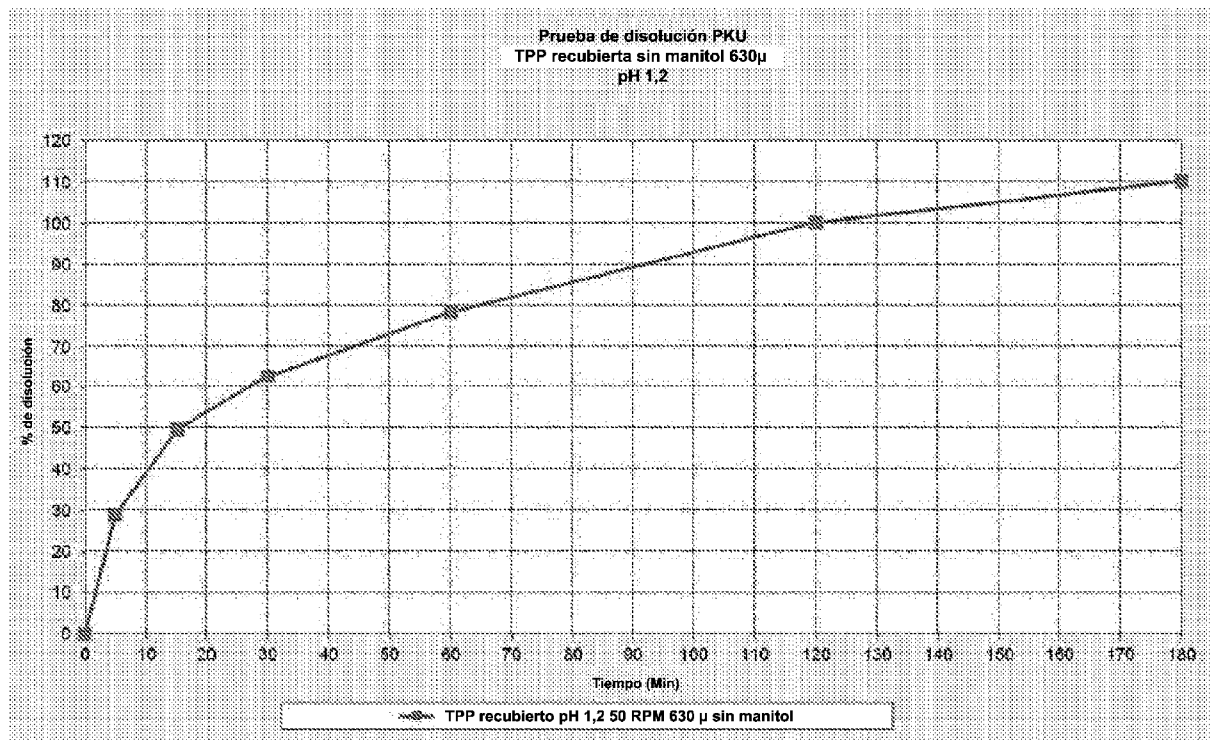


FIGURA 5

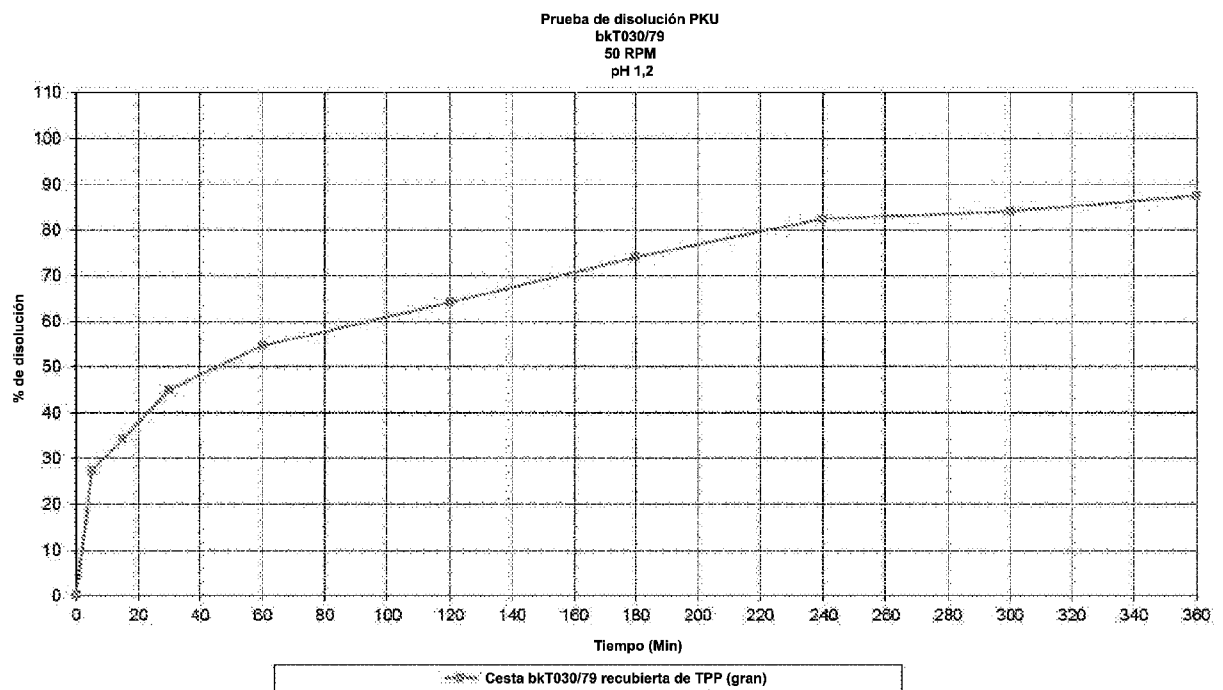


FIGURA 6

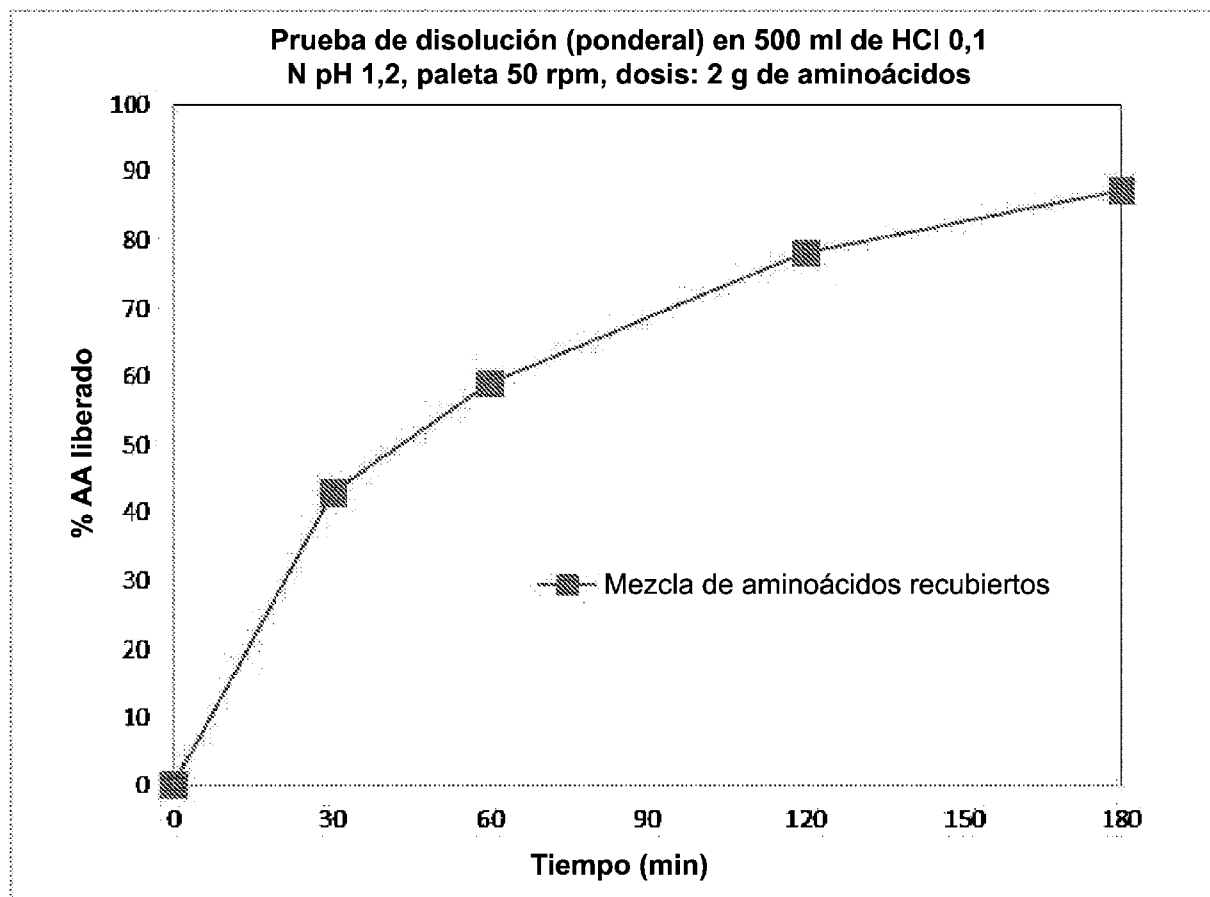


FIGURA 7

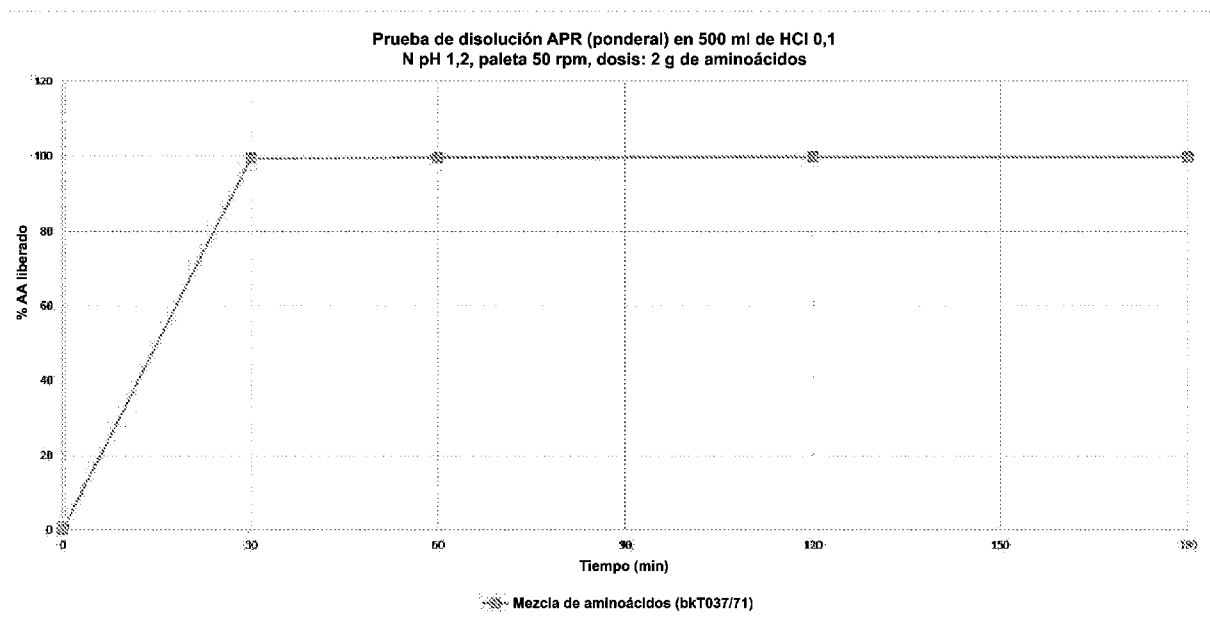


FIGURA 8

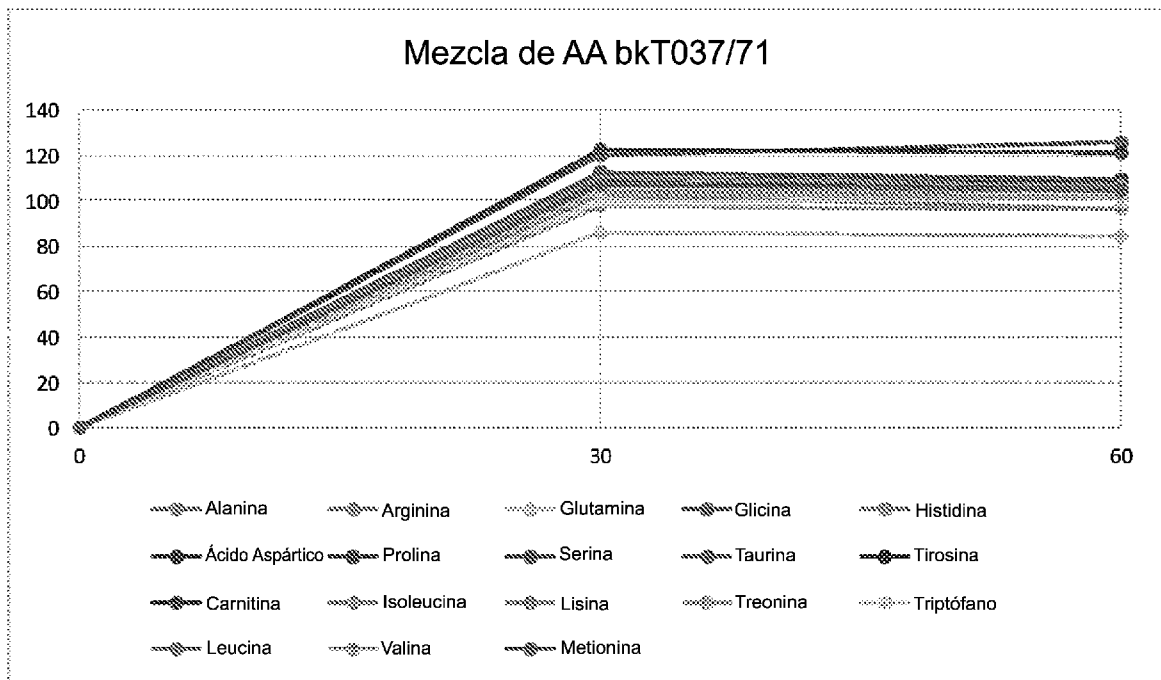


FIGURA 9

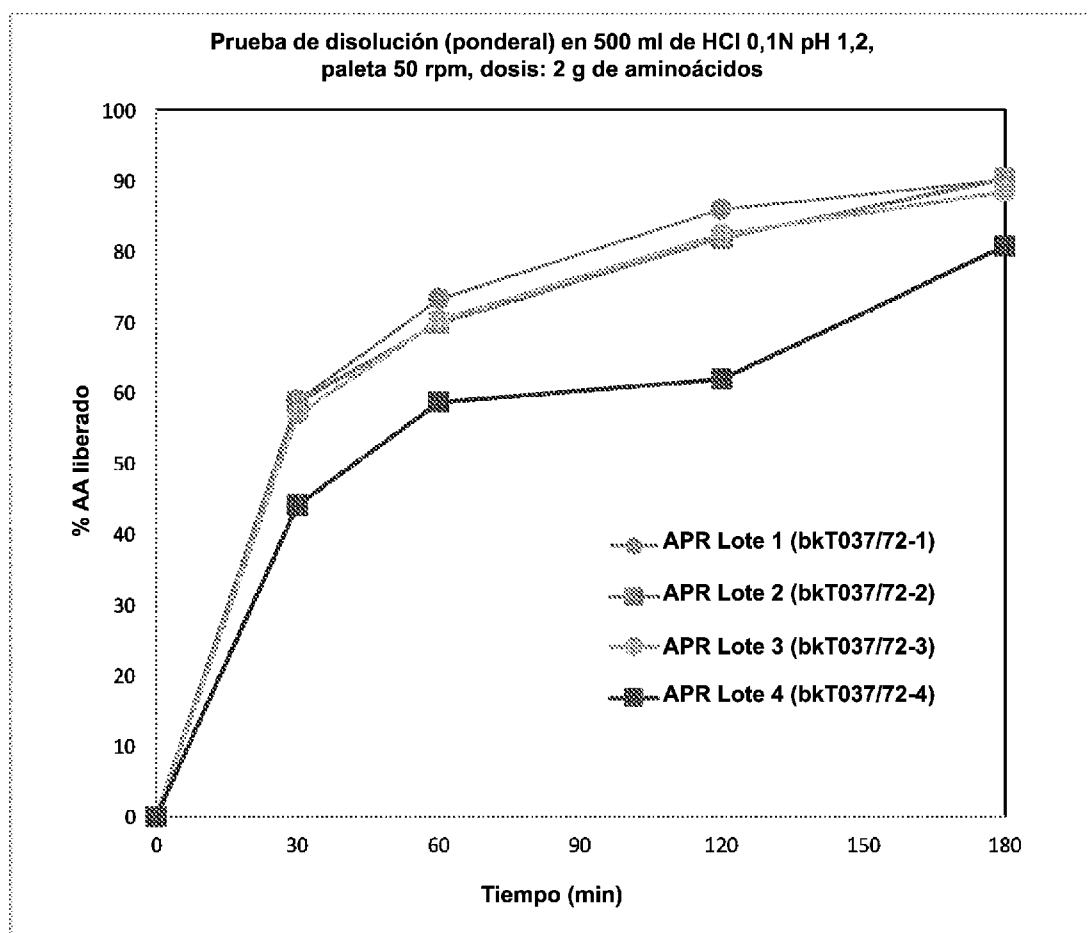


FIGURA 10

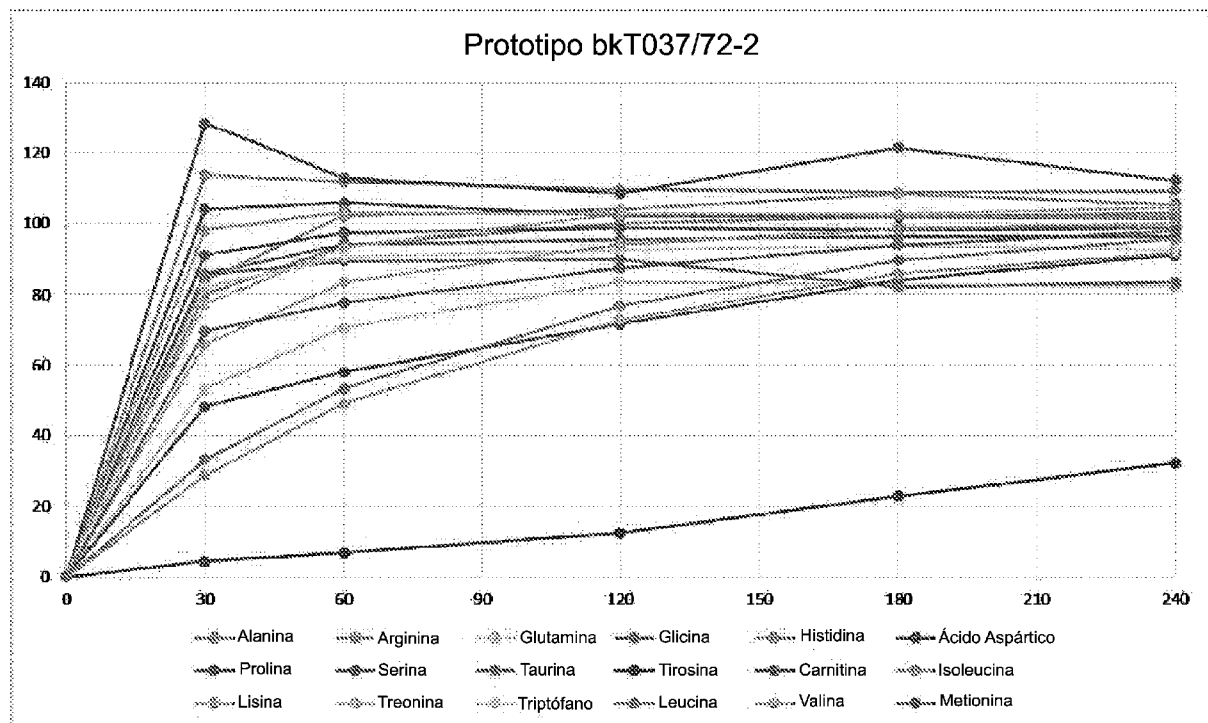


FIGURA 11

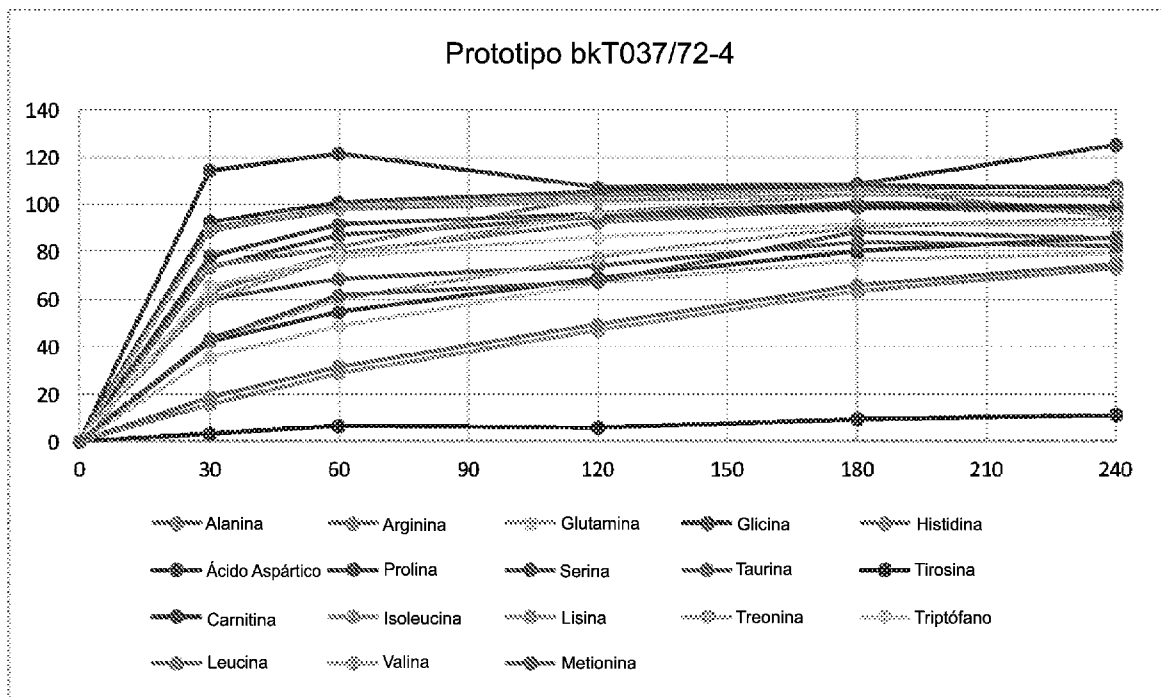


FIGURA 12

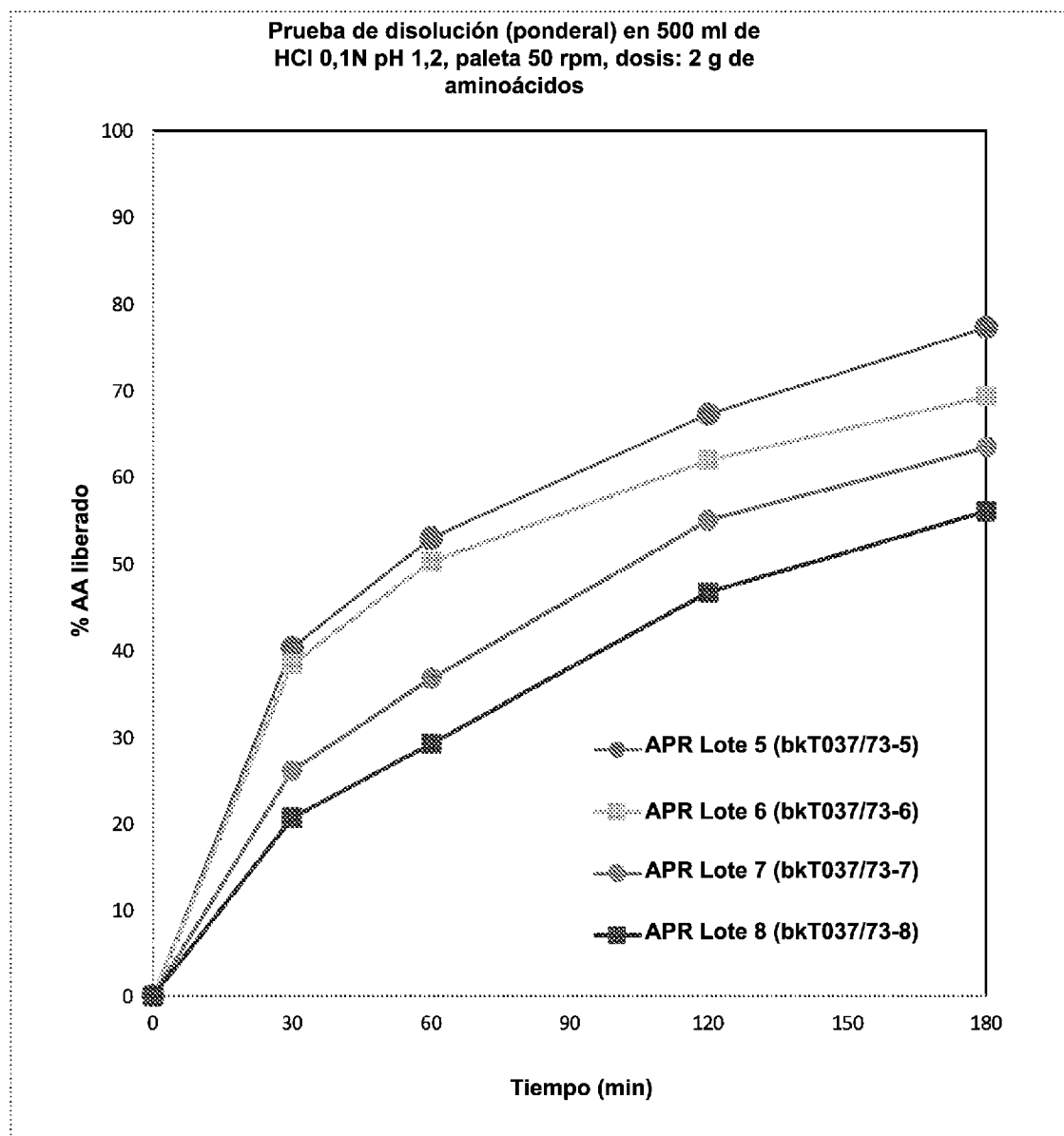


FIGURA 13

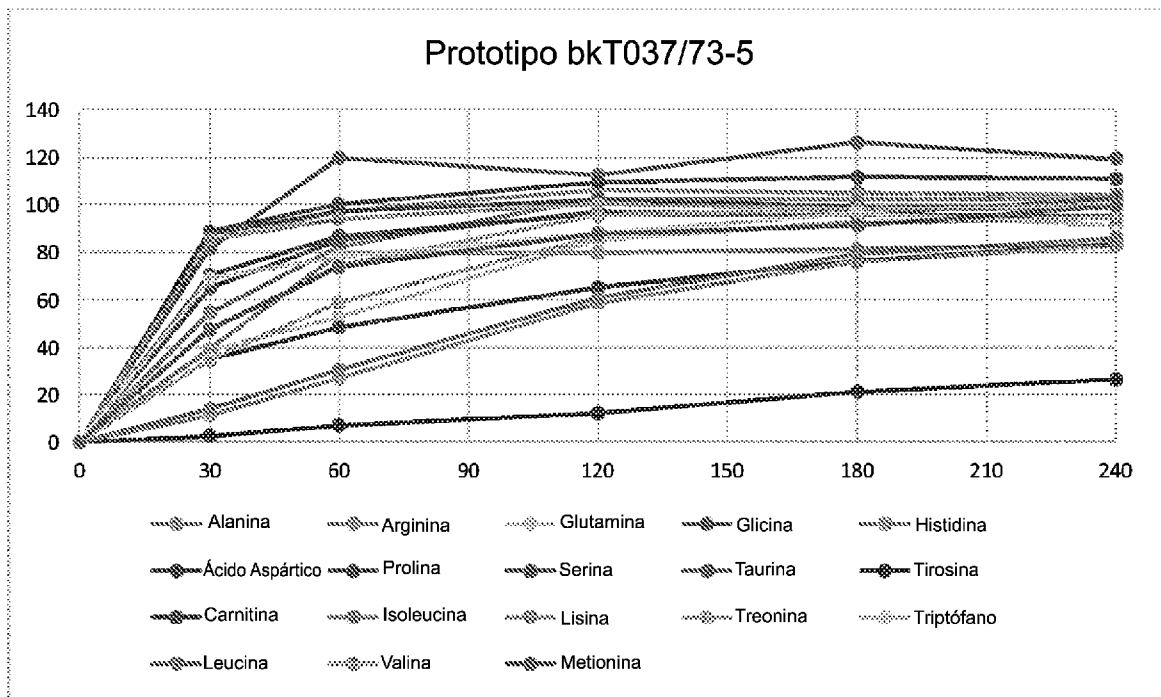


FIGURA 14

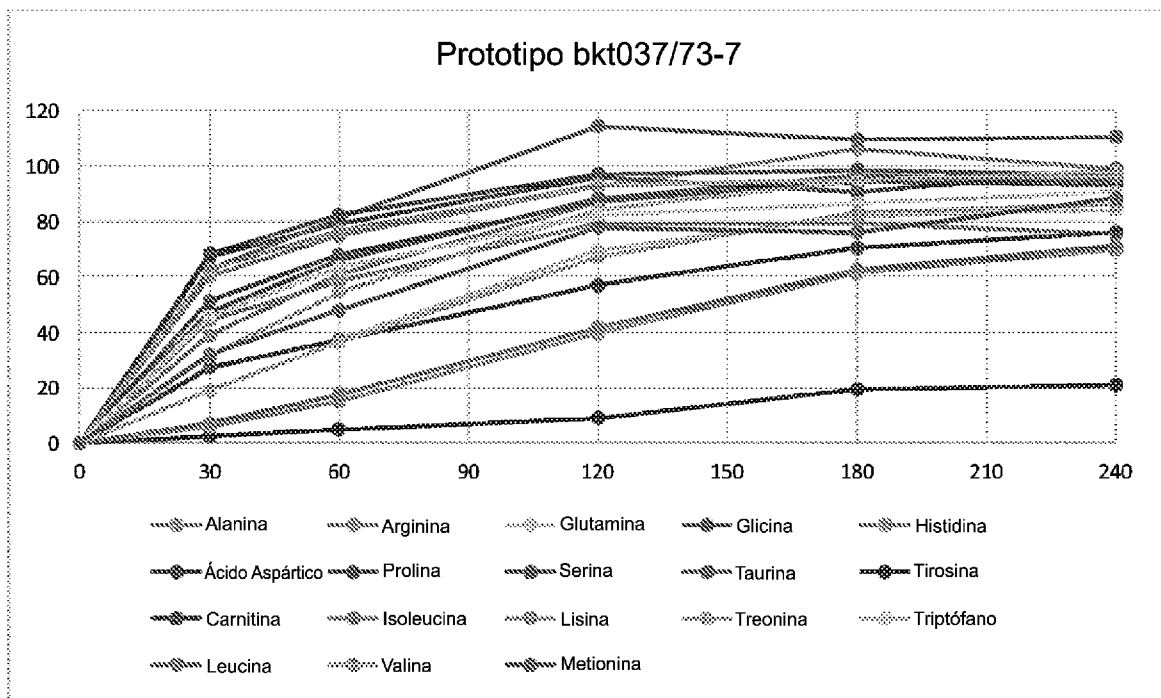


FIGURA 15

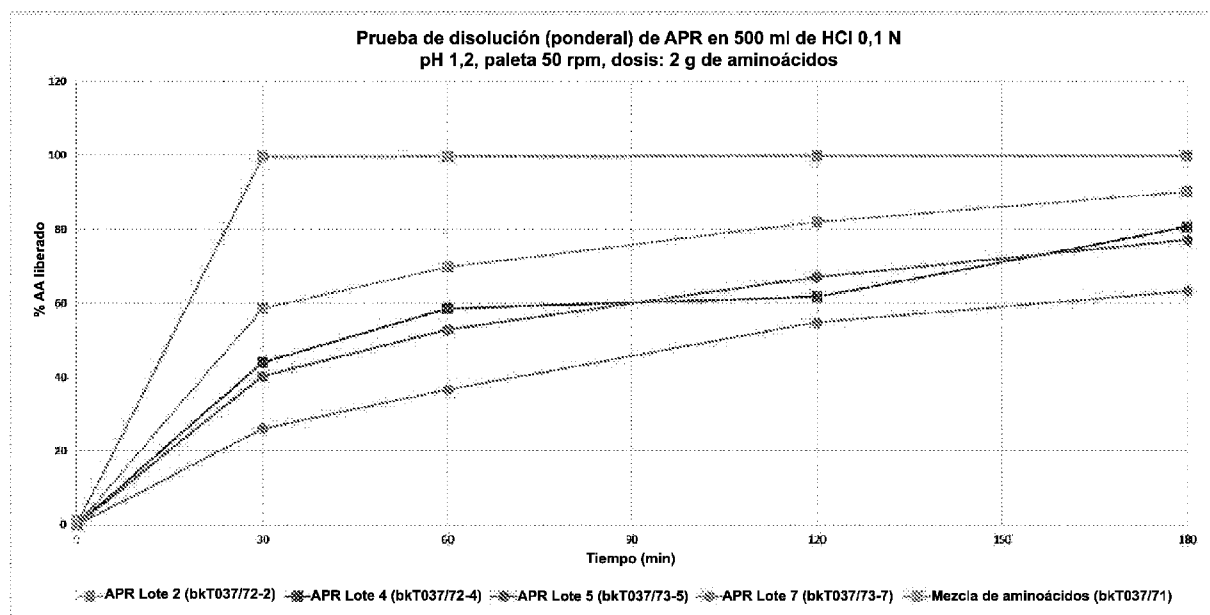


FIGURA 16

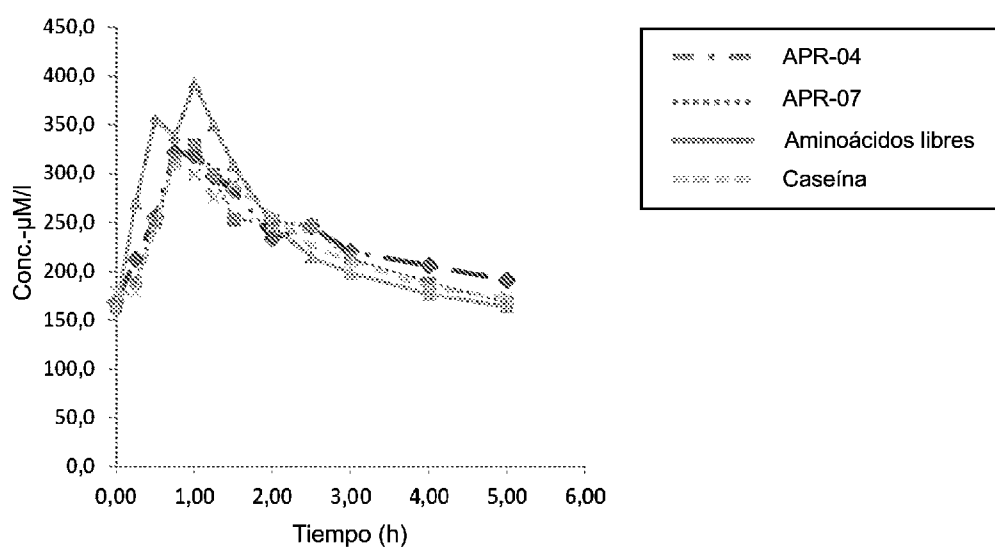


FIGURA 17

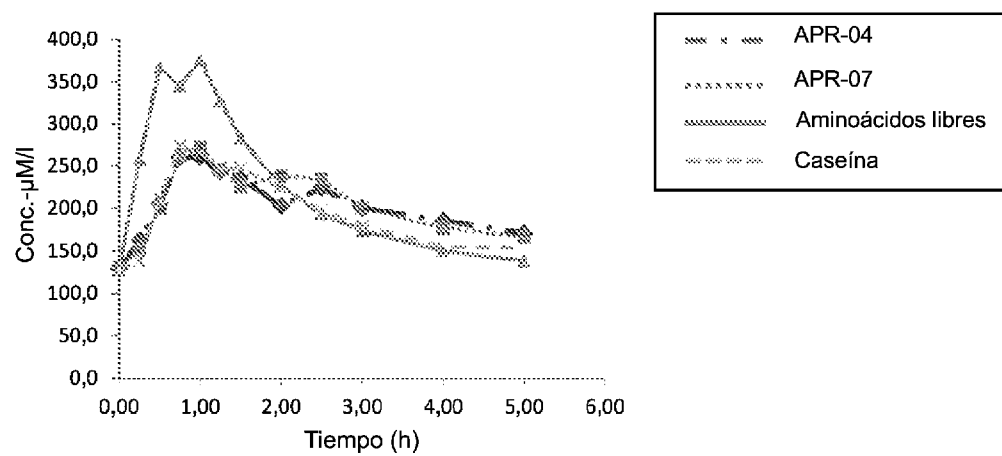


FIGURA 18

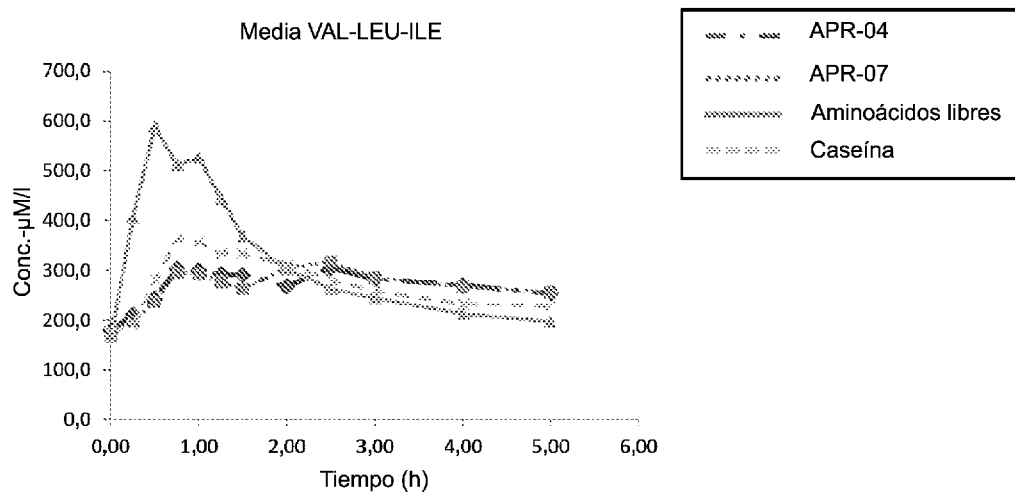


FIGURA 19

