

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 029 414**

51 Int. Cl.:

A61K 47/42	(2007.01) A61K 31/522	(2006.01)
A61K 47/36	(2006.01) A61K 35/747	(2015.01)
A61K 9/00	(2006.01) A61K 31/706	(2006.01)
A61K 9/22	(2006.01) A61K 36/8962	(2006.01)
A61K 9/52	(2006.01) A61K 38/16	(2006.01)
A61K 9/48	(2006.01) A61K 36/064	(2006.01)
A61K 31/4045	(2006.01) A61K 31/375	(2006.01)
A61K 31/405	(2006.01) A61K 36/534	(2006.01)
A61K 31/198	(2006.01) A61K 36/9068	(2006.01)
A61K 31/045	(2006.01) A61K 9/20	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.12.2020** **PCT/CA2020/051726**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.06.2021** **WO21119810**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.12.2020** **E 20901042 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.02.2025** **EP 3937983**

54 Título: **Sistemas de suministro oral basados en coacervados de proteína/polisacárido formados in situ**

30 Prioridad:
17.12.2019 US 201962949130 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.06.2025

73 Titular/es:
9286-3620 QUÉBEC INC. (100.00%)
4820 Rue de la Pascaline, Suite 230
Levis QC G6W 0L9, CA

72 Inventor/es:
CAILLARD, ROMAIN

74 Agente/Representante:
FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 3 029 414 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

Sistemas de suministro oral basados en coacervados de proteína/polisacárido formados *in situ*

La presente descripción se refiere a sistemas de suministro oral para ingredientes activos. Más particularmente, en la presente descripción se describen sistemas de suministro oral sólidos versátiles que comprenden mezclas de polvos de proteínas/polisacáridos que forman coacervados de complejos proteína/polisacárido *in situ* tras la exposición a ambientes gástricos, de esta manera proporciona protección gástrica y/o liberación modificada a los ingredientes activos.

Antecedentes

Las formas orales de liberación modificada son productos específicos formulados para modular la liberación de un ingrediente activo. De esta manera, pueden alcanzarse objetivos específicos que no pueden lograrse con las formas farmacéuticas convencionales. Estos productos presentan varias ventajas que incluyen posibles beneficios terapéuticos, eficacia mejorada, efectos adversos reducidos, rendimiento optimizado o mayor comodidad y cumplimiento del paciente. Si bien actualmente existen varios sistemas de suministro oral de liberación modificada, muchos de estos sistemas utilizan compuestos y/o polímeros sintéticos que un número creciente de consumidores (y, por lo tanto, empresas) buscan evitar, particularmente para los ingredientes activos que se tomarán regularmente. Además, muchos sistemas de suministro oral de liberación modificada en uso actualmente requieren procesos complejos, de múltiples etapas para su fabricación, tales como la aplicación de múltiples recubrimientos o capas a una forma farmacéutica oral. Por lo tanto, los sistemas de suministro orales alternativos que emplean ingredientes más naturales y etapas de fabricación simplificadas son muy convenientes.

El documento WO2018/224191 enseña una composición de aglutinante natural que comprende mezclar ciertos polvos, que pueden incluir mezclas de polvos de proteínas y polisacáridos, para mejorar el proceso de fabricación de comprimidos (por ejemplo, mediante compresión directa o granulación). El documento US3,312,594 enseña la mezcla y la combinación de porciones iguales de polvos de al menos gelatina, pectina y carboximetilcelulosa de sodio, para producir troches o pastillas de "acción prolongada".

Resumen

La presente invención es como se define en las reivindicaciones.

En un aspecto, en la presente descripción se describe un sistema de suministro oral que comprende una mezcla homogénea seca que comprende la mezcla de un polvo de proteína y un polvo de polisacárido, y un ingrediente activo disperso en la misma, la mezcla de polvo de proteína y polisacárido forma un coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ* tras la inmersión del sistema de suministro oral en un fluido gástrico, de esta manera se confiere protección gástrica y/o liberación modificada al ingrediente activo, en donde variar la relación de proteína en polvo a polvo de polisacárido en el sistema de suministro oral varía el nivel de protección gástrica y/o velocidad de liberación del ingrediente activo.

En un aspecto adicional, en la presente descripción se describe un proceso para preparar una forma farmacéutica oral sólida, el proceso comprende dispersar un ingrediente activo en una mezcla homogénea seca que comprende un polvo de proteína y un polvo de polisacárido, y formular la mezcla resultante en una forma farmacéutica oral sólida, el polvo de polisacárido tiene características de flujo de polvo que permiten la interacción con el polvo de proteína de manera que la inmersión de la forma farmacéutica oral sólida en un fluido gástrico da como resultado la formación de un coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ*, de esta manera se confiere protección gástrica y/o liberación modificada al ingrediente activo.

En un aspecto adicional, en la presente descripción se describe un método para producir un coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ* que confiere protección gástrica y/o liberación modificada a un ingrediente activo disperso en el mismo, el método comprende proporcionar el ingrediente activo formulado en un sistema de suministro oral descrito en la presente descripción, o formulado en una forma farmacéutica oral producida mediante un proceso descrito en la presente descripción, y administrar por vía oral el sistema de suministro oral o la forma farmacéutica oral a un sujeto, en donde la mezcla de polvo de proteína y polisacárido forma el coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ* tras la inmersión del sistema de suministro oral en el fluido gástrico del sujeto.

En algunos aspectos, los polvos de polisacáridos adecuados para el uso en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción poseen características particulares de flujo de polvo asociadas con polvos que son cada vez más cohesivos (o cada vez más fluidos), como se caracteriza por los umbrales mínimos para parámetros tales como ángulo de reposo (α), índice de cohesión dinámica, relación de Hausner y/o índice de compresibilidad (índice de Carr).

Definiciones generales

Los encabezados y otros identificadores, por ejemplo, (a), (b), (i), (ii), etc., se presentan simplemente para facilitar la lectura de la memoria descriptiva y las reivindicaciones. El uso de encabezados u otros identificadores en la descripción o reivindicaciones no requiere necesariamente que las etapas o elementos se realicen en orden alfabético o numérico o en el orden en que se presentan.

El uso de la palabra "un" o "una" cuando se usa junto con el término "que comprende" en las reivindicaciones y/o la descripción puede significar "uno" pero también es consistente con el significado de "uno o más", "al menos uno" y "uno o más de uno".

El término "aproximadamente" se usa para indicar que un valor incluye la desviación estándar de error para el dispositivo o método que se emplea para determinar el valor. En general, la terminología "aproximadamente" pretende designar una posible variación de hasta el 10 %. Por lo tanto, una variación de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 % de un valor se incluye en el término "aproximadamente". A menos que se indique de cualquier otra manera, el uso del término "aproximadamente" antes de un intervalo se aplica a ambos extremos del intervalo.

Como se usa en esta descripción y reivindicación(es), las palabras "que comprende" (y cualquier forma que comprenda, tal como "comprende" y "comprende"), "que tiene" (y cualquier forma que tenga, tal como "tiene" y "tiene"), "que incluye" (y cualquier forma que incluya, tal como "incluye" y "incluye") o "que contiene" (y cualquier forma que contenga, tal como "contiene" y "contiene") son inclusivos o de duración indefinida y no excluyen elementos adicionales, no enumerados o etapas de procesos/métodos.

Breve descripción de las Figuras

En las Figuras adjuntas:

Figura 1: Perfiles de liberación *in vitro* de las formulaciones 2-1 a 2-7.

Figura 2: Curva de tensión-deformación típica (formulación 7 en fluido gástrico simulado [SGF])

Figura 3: Bandas de amida I' deconvolucionadas obtenidas a partir de las formulaciones 2-5, 2-6 y 2-7 después de 2 h a pH 1,0 (SGF) o pH 6,9 (SIF).

Figura 4: Supervivencia de *Pediococcus acidilactici* después de la inmersión de las formulaciones 4-1, 4-2 y 4-3 durante 1 o 2 h en condiciones gástricas simuladas, siguiendo las especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) <711>.

Figura 5: Contenido de cápsula restante después de la inmersión de la formulación 4-3 durante 2 h en SGF: la mezcla de proteína/polisacárido forma un coacervado de complejo que se adapta a la forma de la cápsula.

Figura 6: Perfiles de liberación de cafeína obtenidos a partir de la formulación descrita en la Tabla 4.

Figura 7: Representación esquemática del proceso de disolución de cápsulas y formación de complejos formadores de coacervado.

Figura 8A: Supervivencia posgástrica de cepas probióticas obtenidas a partir de la formulación descrita en la Tabla 13.

Figura 8B: Supervivencia de la cepa probiótica sola (no formulada).

Figura 9: Cinética de desintegración de la formulación descrita en la Tabla 13.

Figura 10: Perfil de disolución obtenido a partir de la formulación descrita en la Tabla 14.

Figura 11: Perfil de disolución obtenido a partir de la formulación descrita en la Tabla 15.

Figura 12: Propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 16.

Figura 13: Propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 17.

Figura 14: Propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 18.

Figura 15A: Supervivencia posgástrica de *Saccharomyces boulardii*. Supervivencia de la cepa mediante el uso de la formulación descrita en la Tabla 19.

Figura 15B: Supervivencia de la cepa sola (no formulada).

Figura 16: Cinética de desintegración de la formulación descrita en la Tabla 19.

Figura 17: Propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 20.

Figura 18: Propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 21.

Figura 19: Propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 22.

Figura 20: Propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 23.

Figura 21: Propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 24.

Figura 22: Propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 25.

Figura 23: Actividad enzimática proteolítica posgástrica de la formulación descrita en la Tabla 25.

Figura 24: Propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 26.

Descripción detallada

En la presente descripción se describe un sistema de suministro oral versátil útil para conferir protección gástrica y/o liberación modificada a una variedad de ingredientes activos formulados en el mismo. En general, el sistema de suministro oral utiliza ingredientes de biopolímero en partículas secas que se mezclan entre sí y se formulan con un ingrediente activo en una forma farmacéutica oral sólida de manera que la inmersión de la forma farmacéutica oral sólida en un fluido gástrico da como resultado la formación de un coacervado de complejo a base de biopolímero *in*

situ. El grado de protección gástrica y/o liberación modificada conferida al ingrediente activo está gobernada por las propiedades estructurales del coacervado de complejo formado *in situ*, que a su vez es controlable por la naturaleza y la relación de los ingredientes en forma de partículas/en polvo empleados en el sistema de suministro oral. Además, la capacidad del sistema de suministro oral descrito en la presente descripción de basarse en biopolímeros naturales y/o de origen natural (por ejemplo, biopolímeros alimentarios) proporciona ventajas comerciales en términos de aprobación regulatoria y/o de abordar la creciente demanda de los consumidores de tales productos.

En la presente descripción se examinó una amplia variedad de ingredientes naturales con el objetivo de desarrollar un sistema de suministro oral versátil a base de ingredientes naturales adecuado para proporcionar protección gástrica y/o liberación modificada a una variedad de ingredientes activos. Las pruebas de disolución empíricas que implican el monitoreo de la liberación de los ingredientes activos después de la exposición secuencial a fluido gástrico simulado y fluido intestinal simulado revelaron que ciertas mezclas de proteínas y polvos de polisacáridos fueron capaces de proporcionar protección gástrica y liberación más lenta de los ingredientes activos formulados con estos. Por ejemplo, se observó que una mezcla de polvo de proteína de suero y un polvo de kappa-carragenano (es decir, polisacáridos sulfatados lineales extraídos de algas marinas rojas comestibles) en una formulación de comprimido o cápsula proporcionó una mayor protección de diferentes ingredientes activos de un fluido gástrico simulado, así como también una liberación más lenta del ingrediente activo con el tiempo (Ejemplo 1). Se realizaron experimentos adicionales para caracterizar la estructura, el mecanismo y la reproducibilidad de las mezclas de proteína de suero y polvo de kappa-carragenano para el uso en sistemas de suministro oral. Más específicamente, en el Ejemplo 2 se exploraron las relaciones de mezclas de polvos de proteínas/polisacáridos y proteínas nativas/desnaturalizadas en las propiedades de liberación de ingredientes activos en formulaciones de comprimidos, y las propiedades estructurales de los complejos de coacervado de proteínas/polisacáridos formados *in situ* tras la inmersión en fluido gástrico se exploraron en el Ejemplo 3. La versatilidad de los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción para el uso en formulaciones de cápsulas se muestra en el Ejemplo 4.

Curiosamente, aunque la naturaleza/origen del polvo de proteína empleado en el sistema de suministro oral descrito en la presente descripción fue relativamente flexible (es decir, las proteínas de diferentes fuentes y/o proveedores podrían sustituirse sin afectar significativamente la protección gástrica y/o el rendimiento de liberación modificada), el empleo del mismo tipo de polvo de polisacáridos de diferentes proveedores produjo resultados impredecibles. Por ejemplo, se observó que los polvos de kappa-carragenano y los polvos de goma xantana de diferentes proveedores produjeron resultados opuestos en términos de prueba de erosión de comprimidos (Ejemplo 5 y Tabla 6). Además, sin someter las formulaciones orales a pruebas de disolución empíricas, no fue posible predecir de manera confiable de antemano (por ejemplo, en base a las hojas de especificaciones del producto proporcionadas por el proveedor) qué polisacáridos de qué proveedores formarían coacervados de complejos estables *in situ*. Estos resultados impredecibles llevaron a esfuerzos extensos para identificar parámetros objetivos y medibles que pudieran predecir de manera confiable los polvos de polisacáridos adecuados para los sistemas de suministro oral formadores de coacervados *in situ* descritos en la presente descripción. En particular, estos esfuerzos dieron como resultado un conjunto de parámetros medibles/calculables relacionados con las características de flujo de polvo del polvo de polisacárido (es decir, índice de cohesión dinámica, ángulo de reposo, índice de compresibilidad (índice de Carr), y/o relación de Hausner) que podrían usarse para predecir de manera confiable su idoneidad para los sistemas de suministro oral formadores de coacervados *in situ* descritos en la presente descripción (Tabla 7). Además, un polvo de polisacárido asociado con una protección gástrica deficiente en sistemas de suministro oral descrito en la presente descripción (es decir, 100 % de desintegración en 12 minutos en fluido gástrico simulado) se sometió a una etapa de acondicionamiento para aumentar su cohesión en el Ejemplo 6. El polvo de polisacárido acondicionado no solo tenía un perfil de parámetros más favorable en términos de índice de cohesión dinámica, ángulo de reposo, índice de compresibilidad (índice de Carr) y/o relación de Hausner, sino que también mostró un aumento notable en la protección gástrica (es decir, solo 1 % de desintegración en fluido gástrico simulado) en un sistema de suministro oral (Tabla 9). Los parámetros se validaron subsecuentemente para el uso en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción en el contexto de una variedad de diferentes polvos de proteínas, polvos de polisacáridos, ingredientes activos y aditivos (Ejemplos 7-22). En consecuencia, a continuación se analizan varios aspectos relacionados con la tecnología descrita en la presente descripción.

En algunos aspectos, el sistema de suministro oral descrito en la presente descripción comprende (o consiste esencialmente en) un ingrediente activo disperso en una mezcla de polvo seca y relativamente homogénea, que después se formula en una forma farmacéutica oral sólida. La mezcla de polvo homogénea comprende una mezcla de un polvo de proteína y un polvo de polisacárido, y puede comprender además uno o más aditivos (por ejemplo, excipientes farmacéuticamente aceptables) en dependencia de la forma farmacéutica oral sólida particular (por ejemplo, comprimido o cápsula). Las partículas de proteínas y polisacáridos en la mezcla de polvo del sistema de suministro oral interactúan de manera que la inmersión del sistema de suministro oral en un fluido gástrico o simulado resulta en la formación de coacervados de complejos proteína/polisacárido *in situ*, de esta manera se confiere protección gástrica y/o liberación modificada a un ingrediente activo disperso en el mismo. En algunos aspectos, las partículas de proteínas y polisacáridos en la mezcla de polvo del sistema de suministro oral pueden interactuar para formar una mezcla de polvo interactiva.

Como se usa en la presente, la expresión "sistema de suministro oral" se refiere no solo a un producto vendible sino también a una plataforma versátil que puede usarse para formular una variedad de ingredientes activos para la

protección gástrica y/o liberación modificada, que se basa en los coacervados de complejos proteína/polisacárido formados *in situ* descritos en la presente descripción. La plataforma es escalable en el sentido de que el grado de protección gástrica y/o liberación modificada es controlable al variar las propiedades y/o la relación de las proteínas y los polvos de polisacáridos empleados. El sistema de suministro oral puede utilizarse para preparar formas farmacéuticas orales específicas (por ejemplo, comprimidos o cápsulas) que son compatibles para su uso con las mismas. Para mayor claridad, los sistemas de suministro oral a los que se hace referencia en la presente descripción excluyen las formas farmacéuticas orales que pueden contener polisacáridos y proteínas, entre otros ingredientes, en donde los polisacáridos y proteínas no pretenden formar coacervados de complejos *in situ* tras la inmersión en fluido gástrico, o los polisacáridos y proteínas no son los agentes principales responsables de la protección gástrica o las características de liberación modificada de la forma farmacéutica oral.

Como se usa en la presente descripción, la expresión "que consiste esencialmente en" en el contexto de los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción excluye las formas farmacéuticas orales que pueden contener polisacáridos y proteínas entre otros ingredientes, pero en las que los polisacáridos y proteínas no forman coacervados de complejos *in situ* tras la inmersión en fluido gástrico y en el que el nivel de protección gástrica y/o liberación modificada conferida al ingrediente activo (si la hay) no se rige o controla por la resistencia del coacervado de complejo formado.

Como se usa en la presente, "coacervado" o "coacervado de complejo" se refiere a la unión, ensamble o agrupamiento de proteínas y polisacáridos en presencia de un líquido. Como se informa en la bibliografía científica, la coacervación estable generalmente ocurre cuando dos biopolímeros cargados opuestamente se mezclan en un líquido, normalmente a un pH entre el pKa de los polisacáridos y por debajo del punto isoeléctrico de las proteínas. La coacervación no se produce cuando las proteínas y los polisacáridos se mezclan en sus formas en polvo en ausencia de líquido.

En algunos aspectos, el sistema de suministro oral descrito en la presente descripción es adaptable/escalable al nivel deseado de protección gástrica y/o velocidad de liberación del ingrediente activo. Por ejemplo, en algunos aspectos, variar la relación (por ejemplo, relación en peso) de polvo de polisacárido a polvo de proteína en la mezcla de polvo homogénea del sistema de suministro oral varía el nivel de protección gástrica y/o la velocidad de liberación del ingrediente activo. En algunos aspectos, aumentar la relación (por ejemplo, relación en peso) de polvo de polisacárido a polvo de proteína en el sistema de suministro oral aumenta el nivel de protección gástrica conferida al ingrediente activo, y/o disminuye la velocidad de liberación del ingrediente activo (por ejemplo, en fluido gástrico o simulado gástrico) por el sistema de suministro oral - por ejemplo, ver el Ejemplo 2 y la Figura 1. En algunos aspectos, la relación en peso de polvo de polisacárido a polvo de proteína en el sistema de suministro oral es de 1:20 a 1:1, 1:15 a 1:1,5, 1:10 a 1:2, 1:9,5 a 1:2,5, 1:9 a 1:3, o 1:8,5 a 1:3,5, 1:8 a 1:4, 1:7,5 a 1:4,5, o 1:7 a 1:5. En algunos aspectos, la relación en peso es de una cualquiera de [1:20, 1:19, 1:18, 1:17, 1:16, 1:15, 1:14 1:13, 1:12, 1:11, 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, o 1:5] a una cualquiera de [1:4, 1:3, 1:2, o 1:1].

En algunos aspectos, el nivel de protección gástrica y/o liberación modificada conferida a un ingrediente activo puede controlarse mediante la cantidad de mezcla de polvo de proteína/polisacárido presente en el sistema de suministro oral. En algunos aspectos, el sistema de suministro oral puede comprender aproximadamente 5 % a 50 %, 10 % a 45 %, 15 % a 40 % o 20 % a 35 % p/p de la mezcla de polvos de proteínas/polisacáridos.

En algunos aspectos, la mezcla de polvo de proteína y polisacárido forma un coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ* tras la inmersión del sistema de suministro oral en una solución de pH por debajo del pKa del polisacárido (por ejemplo, fluido gástrico o simulado gástrico), que es capaz de permanecer intacto tras la incubación posterior a un pH por encima del punto isoeléctrico de la proteína (por ejemplo, fluido intestinal o simulado intestinal). Esta es una propiedad atípica de los coacervados en general, ya que la bibliografía científica informa consistentemente que los coacervados de proteínas/polisacáridos estables se forman en un intervalo de pH de entre el pKa de los polisacáridos y el punto isoeléctrico del material proteico (Syrbe y otros, 1998; Tolstoguzov, 1997). En algunos aspectos, la mezcla de polvo de proteína y polisacárido forma un coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ* tras la inmersión del sistema de suministro oral en un fluido gástrico simulado (SGF) que consiste en una solución de HCl diluido al 37 % v/v a pH 1,0, que contiene 2 g/l de NaCl y 0,1 g/l de pepsina.

En algunos aspectos, el nivel de protección gástrica y/o liberación modificada conferida al ingrediente activo está gobernado por las propiedades estructurales (es decir, resistencia) del coacervado de complejo proteína/polisacárido formado *in situ* tras la inmersión en un fluido gástrico. En algunos aspectos, la velocidad de liberación del ingrediente activo es inversamente proporcional a la resistencia del coacervado de complejo proteína/polisacárido formado *in situ* tras la inmersión del sistema de suministro oral en el fluido gástrico. En algunos aspectos, el coacervado de complejo proteína/polisacárido formado *in situ* tras la inmersión del sistema de suministro oral en el SGF se caracteriza por la presencia de láminas beta intramoleculares, hélices alfa y/o estructuras desordenadas (por ejemplo, medida por espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FTIR); tal como por los métodos descritos en el Ejemplo 3).

En algunos aspectos, el sistema de suministro oral descrito en la presente descripción comprende preferentemente una mezcla de polvo seca, relativamente homogénea que comprende una mezcla de un polvo de proteína y un polvo de polisacárido, en donde el polvo de polisacárido tiene características de flujo de polvo que permiten la formación de

un coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ* tras la inmersión en un fluido gástrico que tiene suficiente resistencia para impartir protección gástrica y/o liberación modificada a un ingrediente activo formulado con el mismo. En algunos aspectos, el polvo de polisacárido puede caracterizarse por su fluidez, textura y/o cohesión medida por su ángulo de reposo (α), índice de cohesión dinámica, relación de Hausner y/o índice de compresibilidad (índice de Carr), de acuerdo con los métodos recomendados en USP <1174>. En algunos aspectos, los coacervados de proteína/polisacárido de resistencia creciente se forman con el uso de polvos de polisacáridos que son cada vez más cohesivos (o cada vez menos fluidos), medidos por el ángulo de reposo, el índice de cohesión dinámica, la relación de Hausner y/o el índice de compresibilidad (índice de Carr). En algunos aspectos, la coacervación de mayor resistencia puede ocurrir cuando el polisacárido y la proteína poseen grupos cargados opuestos.

El "ángulo de reposo" generalmente se refiere a la medición estática o dinámica del ángulo más pronunciado de un material desde el plano horizontal en el que el material puede apilarse sin colapsar (Beakawi Al-Hashemi, H. y otros, 2018). El ángulo de reposo puede medirse, por ejemplo, mediante el "método de caja inclinada", el "método de embudo fijo", el "método de cilindro/tambor giratorio" o un GranuHeap™ (GranuTools™, Awans, Bélgica). El ángulo de reposo máximo es de 90 grados. Los ángulos de reposo más bajos (por ejemplo, valores por debajo de 35 grados) corresponden a materiales de flujo libre más. Los ángulos de reposo más altos (por ejemplo, más de 35 grados) indican polvos más cohesivos (no fluidos). El ángulo de reposo también puede medirse formando un cono de polvo sobre una base estable, como se recomienda en USP <1174>.

En algunos aspectos, los polvos de polisacáridos empleados en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción tienen un ángulo de reposo asociado con polvos que tienen un flujo moderado (36-40 grados), transitable (41-45 grados), deficiente (46-55 grados), muy deficiente (56-65 grados) o muy, muy deficiente (56-65 grados) según la clasificación de Carr (Carr, R.L., 1965) reproducida en USP <1174>, tal como cuando se mide mediante el método recomendado por USP <1174>. Brevemente, el método recomendado comprende formar un cono simétrico de polvo al permitir que el polvo pase a través de un embudo sobre una base fija con un reborde de retención para retener una capa de polvo sobre la base; variar la altura del embudo para mantener una distancia de aproximadamente 2-4 cm desde la parte superior de la pila de polvo a medida que se forma; y determinar el ángulo de reposo al medir la altura del cono de polvo y calcular el ángulo de reposo a partir de la siguiente ecuación:

$$\tan(\alpha) = \frac{\text{altura}}{0.5 \text{ base}}.$$

En algunos aspectos, los polvos de polisacáridos empleados en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción tienen un ángulo de reposo mayor que aproximadamente 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64 o 65 grados, medido de acuerdo con el método recomendado en USP <1174>.

En algunos aspectos, los polvos de polisacáridos empleados en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción tienen un índice de cohesión dinámica por encima de un valor umbral. "Índice de cohesión dinámica", como se usa en la presente descripción, se refiere a la evaluación cualitativa de las fluctuaciones de la pendiente de la superficie de un material. El índice de cohesión dinámica también puede medirse mediante instrumentos tales como reómetros como el GranuDrum™ (GranuTools™, Awans, Bélgica). Los valores del índice de cohesión dinámica más altos (por ejemplo, entre 30 y 60), se refieren a materiales que son más cohesivos. Los valores del índice de cohesión dinámica más bajos (por ejemplo, entre 0 y 30), se refieren a materiales que son menos cohesivos. En algunos aspectos, el polvo de polisacárido empleado en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción tiene un índice de cohesión dinámica mayor que aproximadamente 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50.

En algunos aspectos, los polvos de polisacáridos empleados en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción tienen un índice de compresibilidad (índice de Carr) por encima de un valor umbral. "Índice de Carr" o "índice de compresibilidad", como se usa en la presente, se refiere a la compresibilidad de un polvo o material, como se describe en USP <1174> y se mide mediante la fórmula:

$$\text{Índice de Compresibilidad} = 100 \times \left(\frac{P_{\text{aparente}} - P_{\text{en masa}}}{P_{\text{aparente}}} \right),$$

en donde P_{aparente} y $P_{\text{en masa}}$ se refieren a la densidad aparente y la densidad en masa del polvo, respectivamente. Los índices de compresibilidad más altos (por ejemplo, índice superior al 15 %) indican un polvo que es débilmente fluido (más cohesivo). Los índices de compresibilidad más bajos (por ejemplo, índice por debajo del 15 %) indican que un polvo es más fluido (menos cohesivo). En algunos aspectos, los polvos de polisacáridos empleados en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción tienen un índice de compresibilidad asociado con polvos que tienen una fluidez justa (16-20 %), pasable (21-25 %), mala (26-31 %), muy mala (32-37 %) o muy, muy mala (mayor que 38 %), como se establece en USP <1174>. En algunos aspectos, los polvos de polisacáridos empleados en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción tienen un índice de compresibilidad mayor que aproximadamente 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 o 38 %, por ejemplo, medido por el método descrito anteriormente.

En algunos aspectos, los polvos de polisacáridos empleados en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción tienen una relación de Hausner por encima de un valor umbral. "Relación de Hausner", como se usa en la presente, se refiere a la fluidez de un polvo como se describe en USP <1174> y se mide mediante la fórmula:

$$\text{Relación de Hausner} = \left(\frac{P_{\text{aparente}}}{P_{\text{en masa}}} \right),$$

en donde P_{aparente} y $P_{\text{en masa}}$ se refieren a la densidad aparente y la densidad en masa del polvo, respectivamente. Las relaciones de Hausner más altas (por ejemplo, superiores a 1,18) indican polvos que son más débiles en flujo (más cohesivos). Las relaciones de Hausner más bajas (por ejemplo, por debajo de 1,18) indican a los polvos que son más fluidos (menos cohesivos). En algunos aspectos, los polvos de polisacáridos empleados en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción tienen una relación de Hausner asociada con polvos que tienen una fluidez justa (1,19-1,25), pasable (1,26-1,34), mala (1,35-1,45), muy mala (1,46-1,59) o muy, muy mala (mayor que 1,60), como se establece en USP <1174>. En algunos aspectos, los polvos de polisacáridos empleados en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción tienen una relación de Hausner mayor que aproximadamente 1,28, 1,29, 1,3, 1,31, 1,32, 1,33, 1,34, 1,35, 1,36, 1,37, 1,38, 1,39, 1,4, 1,41, 1,42, 1,43, 1,44, 1,45, 1,46, 1,47, 1,48, 1,49, 1,5, 1,51, 1,52, 1,53, 1,54, 1,55, 1,56, 1,57, 1,58, 1,59, o 1,6, por ejemplo, medido por el método descrito anteriormente.

En algunos aspectos, los polvos de polisacáridos descritos en la presente descripción pueden acondicionarse para tener suficiente cohesión antes de la formulación en un sistema de suministro oral descrito en la presente descripción, tal como tener uno o más de un ángulo de reposo (α), índice de cohesión dinámica, relación de Hausner y/o índice de compresibilidad (índice de Carr), como se describe en la presente descripción. En algunos aspectos, el acondicionamiento puede comprender cualquier tratamiento que aumente la cohesividad y/o reduzca la fluidez del polvo de polisacárido. Por ejemplo, el acondicionamiento puede comprender uno o más de disolver, liofilizar, secar, triturar y/o tamizar el polvo de polisacárido a través de una malla de tamaño adecuado, para aumentar la textura harinosa del polvo, así como también su cohesión.

En algunos aspectos, los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción pueden inhibir la liberación del ingrediente activo en el fluido gástrico, y extender, prolongar, sostener, controlar, ralentizar o retardar la liberación del ingrediente activo en el fluido intestinal. Como se usa en la presente, el término "liberación modificada" se refiere a la propiedad de la forma farmacéutica oral sólida de extender, retardar, ralentizar o controlar la liberación del ingrediente activo. En algunos aspectos, la liberación modificada ocurre después de la formación de los coacervados de complejo proteína/polisacárido tras la inmersión del sistema de suministro oral en un fluido gástrico.

En algunos aspectos, los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción pueden ser un sistema de suministro oral de liberación retardada, un sistema de suministro oral de liberación prolongada, un sistema de suministro oral que proporciona mayor protección gástrica al ingrediente activo tras la administración oral, en comparación con la administración de un ingrediente activo no formulado; o cualquiera de sus combinaciones. En algunos aspectos, el sistema de suministro oral de liberación retardada puede retardar el tiempo requerido para que el 50 % del ingrediente activo se libere en al menos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 o 240 minutos, en comparación con un sistema de suministro oral correspondiente que carece del polvo de polisacárido. En algunos aspectos, el sistema de suministro oral de liberación prolongada puede dar como resultado la liberación del ingrediente activo durante un período de al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, o 18 horas. En algunos aspectos, el sistema de suministro oral puede proporcionar una mayor protección gástrica al ingrediente activo en comparación con la administración de un ingrediente activo no formulado. En algunos aspectos, los valores de protección gástrica y/o liberación modificada antes mencionados pueden referirse a los obtenidos tras la prueba de disolución que comprende la inmersión del sistema de suministro oral a 37 °C en SGF durante dos horas seguido de la inmersión en fluido intestinal simulado (SIF), en donde el SGF consiste en una solución de HCl diluido al 37 % v/v, pH 1,0, que contiene 2 g/l de NaCl y 0,1 g/l de pepsina, y el SIF consiste en una solución tampón de NaH_2PO_4 o KH_2PO_4 50 mM a pH 6,9, que contiene 0,5 g/L de pancreatina.

En algunos aspectos, las proteínas en polvo empleadas en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción pueden comprender o consistir en: proteínas naturales; proteínas de grado alimenticio y/o de grado farmacéutico; proteínas nativas; proteínas desnaturalizadas (por ejemplo, proteínas desnaturalizadas térmicamente); proteínas químicamente no modificadas; proteínas químicamente modificadas (por ejemplo, proteínas succiniladas); proteínas vegetales (por ejemplo, cáñamo, sachá inchi); proteínas animales; proteínas lácteas (por ejemplo, proteína de suero); proteínas de legumbres (por ejemplo, proteína de guisante o soja); proteína de frutas (por ejemplo, coco); proteínas de cereales (por ejemplo, arroz); o cualquier mezcla de estos.

En algunos aspectos, los polvos de polisacáridos empleados en los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción pueden comprender o consistir en: polisacáridos naturales; polisacáridos de grado alimenticio y/o de grado farmacéutico; polisacáridos químicamente no modificados; polisacáridos químicamente modificados; polisacáridos vegetales; polisacáridos animales; polisacáridos que contienen grupos cargados negativamente/ácidos (polisacáridos aniónicos); carragenano (por ejemplo, kappa-carragenano); goma xantana; alginato; polvo de pectina; agar, gellan, goma guar, carboximetilcelulosa, goma garrofin, manano, glucomanano, hialuronano, goma de tamarindo, goma de semilla de psilio, goma de tara, goma de acacia, goma arábiga, goma ghatti, goma de tragacanto,

goma karaya, goma de cassia, goma ramsan, goma welan, goma de macrophomopsis, curdlán, pululano, fucoidano, o cualquier mezcla de estos.

Como se usa en la presente, "ingrediente activo" se refiere a cualquier molécula, sustancia o microorganismo que es terapéuticamente o biológicamente activo. En algunos aspectos, los ingredientes activos descritos en la presente descripción pueden comprender o consistir en un suplemento dietético, un fármaco (por ejemplo, cafeína), un probiótico (por ejemplo, bacterias o levaduras probióticas, tales como *Saccharomyces boulardii* o *Pediococcus acidilactici*), un prebiótico, una vitamina (por ejemplo, vitamina B2/riboflavina o B6), un aminoácido (por ejemplo, 5-hidroxitriptófano [5-HTP]), un alimento o extracto de planta (por ejemplo, extracto de menta, extracto de arroz, extracto de cáscara de arroz o cúrcuma), o un suplemento de hierbas (por ejemplo, extracto de vara dorada y jengibre). En algunos aspectos, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo o gránulos.

En algunos aspectos, los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción pueden comprender además uno o más excipientes y/o aditivos nutraceuticamente o farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, un relleno, un aglutinante, un lubricante, un agente de flujo). Tales excipientes y/o aditivos varían en dependencia del tipo de forma farmacéutica oral que se esté formulando (por ejemplo, comprimido o cápsula). En algunos aspectos, los excipientes y/o aditivos pueden comprender celulosa microcristalina, estearato de magnesio, ácido esteárico, fosfato de calcio dibásico, carbonato de calcio, dextrosa y/o dióxido de silicio.

En algunos aspectos, los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción pueden comprender una mezcla homogénea del polvo de proteína, el polvo de polisacárido y un ingrediente activo, que se comprimen para formar un comprimido. En algunos aspectos, la mezcla homogénea comprende uno o más excipientes o aditivos farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, como se describe en la presente descripción), que podrían ser agentes de relleno, aglutinantes, lubricantes y/o agentes de flujo.

En algunos aspectos, los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción pueden comprender una mezcla homogénea del polvo de proteína, el polvo de polisacárido y un ingrediente activo, relleno en una cápsula (por ejemplo, a base de gel o celulosa). En algunos aspectos, la cápsula puede ser una macrocápsula. En algunos aspectos, la cápsula puede ser una microcápsula.

En algunos aspectos, el sistema de suministro oral descrito en la presente descripción preferentemente no comprende un recubrimiento entérico.

En algunos aspectos, en la presente descripción se describe un proceso para preparar una forma farmacéutica oral sólida, el proceso comprende dispersar un ingrediente activo en una mezcla homogénea seca que comprende un polvo de proteína y un polvo de polisacárido, y formular la mezcla resultante en una forma farmacéutica oral sólida. En algunos aspectos, el polvo de polisacárido tiene características de flujo de polvo que permiten la interacción con el polvo de proteína de manera que la inmersión de la forma farmacéutica oral sólida en un fluido gástrico da como resultado la formación de un coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ*, de esta manera se confiere protección gástrica y/o liberación modificada al ingrediente activo.

En algunos aspectos, los procesos descritos en la presente descripción emplean polvos de polisacáridos que tienen una o más de las características de flujo de polvo como se definen en la presente descripción, por ejemplo, en relación con el índice de cohesión dinámica, el ángulo de reposo, el índice de compresibilidad (índice de Carr) y/o la relación de Hausner.

En algunos aspectos, los procesos descritos en la presente descripción son para preparar un sistema de suministro oral como se describe en la presente descripción.

En algunos aspectos, en la presente descripción se describe el sistema de suministro oral como se describe en la presente descripción, o la forma farmacéutica oral producida por el proceso como se describe en la presente descripción, para el uso en terapia. En algunos aspectos, la terapia es una enfermedad o afección mejorada mediante la administración oral de un ingrediente activo formulado en el sistema de suministro oral o forma farmacéutica oral descritos en la presente descripción.

En algunos aspectos, en la presente descripción se describe un método para producir un coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ* que confiere protección gástrica y/o liberación modificada a un ingrediente activo disperso en el mismo. El método comprende proporcionar el ingrediente activo formulado en el sistema de suministro oral como se describe en la presente descripción, o formulado en la forma farmacéutica oral producida mediante un proceso como se describe en la presente descripción, y administrar por vía oral el sistema de suministro oral o la forma farmacéutica oral a un sujeto, en donde la mezcla de polvo de proteína y polisacárido forma el coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ* tras la inmersión del sistema de suministro oral en el fluido gástrico del sujeto.

EJEMPLOS

Ejemplo 1:

Cribado de ingredientes naturales para el uso en sistemas de suministro oral a base de proteínas

Con el objetivo de desarrollar sistemas de suministro oral de liberación modificada basados en ingredientes naturales que sean relativamente simples de fabricar, se realizó un amplio cribado mediante el uso de una amplia variedad de ingredientes naturales para fabricar formas farmacéuticas orales sólidas. Específicamente, los ingredientes naturales de grado alimenticio de diferentes fuentes y proveedores, solos y en varias combinaciones, se formularon con diferentes ingredientes activos, todos en sus formas secas, como formulaciones orales en comprimidos o cápsulas. Las formulaciones orales se sometieron después a pruebas de disolución que implican exposición secuencial a fluido gástrico simulado y fluido intestinal simulado, seguido de monitoreo de la liberación de los ingredientes activos a lo largo del tiempo. Se hizo especial énfasis en el cribado en ingredientes naturales que pudieran usarse en el contexto de formulaciones orales a base de proteínas para lograr un grado de protección gástrica y/o liberación más lenta del ingrediente activo.

Curiosamente, los resultados de los amplios esfuerzos de cribado revelaron que ciertas mezclas de polvos de proteínas y polisacáridos formulados con varios ingredientes activos fueron capaces de proporcionar protección gástrica y liberación más lenta de los ingredientes activos en el contexto de las formulaciones orales. Por ejemplo, se observó que una mezcla de polvo de proteína de suero y un polvo de kappa-carragenano (es decir, polisacáridos sulfatados lineales extraídos de algas marinas rojas comestibles) en una formulación de comprimido o cápsula fue capaz de proporcionar una mayor protección de diferentes ingredientes activos de un fluido gástrico simulado, así como también una liberación más lenta del ingrediente activo con el tiempo. Se llevaron a cabo experimentos adicionales para caracterizar la estructura, el mecanismo y la reproducibilidad de las mezclas de proteínas de suero y polvo de kappa-carragenano para el uso en sistemas de suministro oral de liberación modificada y/o protección gástrica, como se describe en los Ejemplos más abajo.

Ejemplo 2:

Efecto de las relaciones de mezcla de polvos de proteínas/polisacáridos y proteínas nativas/desnaturalizadas sobre las propiedades de liberación del ingrediente activo en formulaciones de comprimidos

2.1 Fabricación de comprimidos

Todos los ingredientes en este Ejemplo, excepto las proteínas de suero, se obtuvieron del mismo proveedor, en adelante denominado proveedor A. Se eligió riboflavina (vitamina B2) como ingrediente activo. Las proteínas de suero nativas (Agropur Ingredients, Le Sueur, MN, EE. UU.) se desnaturalizaron térmicamente durante 30 min a 85 °C. Los comprimidos se prepararon mediante compresión directa mediante el uso de una prensa de un solo golpe TDP-6 (Yangzhou Nuoya Machinery co. Ltd., Jiangsu, China). Los polvos se pesaron y subsecuentemente se mezclaron en un mortero antes de la formación de comprimidos. Los diámetros y grosores de los comprimidos fueron respectivamente de 11,2 mm y 6,5 mm. 24 horas después de la fabricación, la dureza del comprimido se midió siguiendo la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) <1217>, mediante el uso de un probador de dureza de comprimidos YD-1 (Minsheng Pharmaceutical Machinery Ltd., Shanghai, China). La dureza estuvo entre 7 y 9 kp. Las formulaciones probadas en este ejemplo se describen en la Tabla 1.

Tabla 1: Formulaciones de comprimidos probadas en el Ejemplo 2

		Proteínas de suero nativas				Proteínas de suero desnaturalizadas		
FORMULACIÓN (en mg)		2-1	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6	2-7
Proteínas	Proteínas de suero nativas	295	265	235	205	0	0	0
	Proteínas de suero desnaturalizadas	0	0	0	0	265	235	205
Polisacáridos	kappa-carragenano	0	30	60	90	30	60	90
Ingrediente activo	Vitamina B2	50	50	50	50	50	50	50
Aditivos	Celulosa microcristalina (MCC)	15	15	15	15	15	15	15
	Estearato de magnesio	4	4	4	4	4	4	4
	Dióxido de silicio	1	1	1	1	1	1	1

2.2 Prueba de disolución de comprimidos

El rendimiento *in vitro* de los comprimidos se probó mediante el uso de una estación de prueba de disolución de aparato de disolución SR6, USP II (Hanson Research Corp., Chatsworth, CA). Se siguieron las pautas descritas en USP <2040> (Desintegración y disolución de suplementos dietéticos).

Durante los experimentos, la velocidad de agitación se estableció a 100 rpm y la temperatura se mantuvo a 37 °C. Antes de las mediciones, las muestras se filtraron y se restó la absorbancia de fondo. La liberación se siguió mediante

la medición de la concentración del ingrediente activo (AI) disuelto en el medio de liberación como una función del tiempo. La absorbancia a 440 nm se siguió mediante el uso de un espectrofotómetro UV-Vis.

Los experimentos de disolución típicos consistieron en la inmersión de 3 comprimidos en un fluido gástrico simulado (SGF) durante 2 horas, seguido de la inmersión de los comprimidos en un fluido intestinal simulado (SIF), hasta la disolución completa. No se usaron lastres.

SGF consistió en una solución de HCl diluido (37 %), pH 1,0, que contenía 2 g/l de NaCl y 0,1 g/l de pepsina. SIF consistió en un tampón de NaH_2PO_4 (50 mM), pH 6,9, que contiene 0,5 g/l de pancreatina. Los experimentos se repitieron al menos dos veces.

2.3 Liberación de riboflavina *in vitro* de la prueba de disolución de comprimidos

La Figura 1 ilustra los perfiles de liberación *in vitro* obtenidos a partir de las formulaciones 2-1 a 2-7 (ver la Tabla 1). Los comprimidos que no contenían polisacáridos (formulación 2-1) liberaron rápidamente la riboflavina: después de 45 min, la riboflavina se liberó completamente y las tabletas se disolvieron.

Los comprimidos que contenían tanto proteínas de suero nativas como kappa-carragenano mostraron perfiles de liberación más lentos de riboflavina. Después de 2 h, el por ciento de liberación fue de 68 %, 41 % y 24 % para las formulaciones 2-2, 2-3 y 2-4, respectivamente. La liberación completa se produjo después de 225 min, 330 min y 330 min para las formulaciones 2-2, 2-3 y 2-4, respectivamente. Estos resultados indican que la presencia del polisacárido (kappa-carragenano) disminuyó la velocidad de liberación de riboflavina. Además, estos resultados sugieren que cuanto mayor sea la relación de polisacárido a proteína, menor será la velocidad de liberación del ingrediente activo.

Reemplazar las proteínas de suero nativas en las formulaciones 2-2, 2-3 y 2-4 con las cantidades correspondientes de proteínas de suero *desnaturalizadas* (es decir, formulaciones 2-5, 2-6 y 2-7) dieron como resultado una velocidad de liberación aún más lenta del ingrediente activo. De hecho, después de 8 horas de experimento, la liberación de riboflavina fue entre 65 % y 70 % para las formulaciones 2-5 a 2-7 (Figura 1). Cabe señalar que el uso de proteínas desnaturalizadas dio como resultado una liberación particularmente más lenta de riboflavina durante la exposición a SGF (0 a 120 min) (Figura 1).

Ejemplo 3:

Las mezclas de polvos de proteínas/polisacáridos forman coacervados *in situ*

Para investigar las estructuras y propiedades fisicoquímicas de las formulaciones de comprimidos del Ejemplo 2 después de la exposición a SGF y SIF, se realizaron al menos dos tipos de pruebas: Pruebas de resistencia en presencia o ausencia de agentes caotrópicos; y espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FTIR).

3.1 Mediciones de resistencia en presencia o ausencia de agentes caotrópicos

Los comprimidos preparados como se describe en el Ejemplo 2.1 se sumergieron en 50 ml de SGF durante 2 h, o en 50 ml de SGF durante 2 h seguido de la inmersión en SIF durante 2 h, como se describe en el Ejemplo 2.2. Aunque todas las formulaciones 2-2 a 2-7 formaron lo que parecía ser complejos similares a coacervados durante el transcurso de las incubaciones, solo las formulaciones 2-5, 2-6 y 2-7 fueron suficientemente fuertes para manipularse físicamente y, por lo tanto, se seleccionaron para un estudio adicional.

Las resistencias de los complejos similares a coacervados de las formulaciones 2-5, 2-6 y 2-7 formados después de la inmersión se midieron mediante el uso de un analizador de textura TA-XT2 equipado con una celda de carga de 25 kg (Stable Micro Systems, Scarsdale, NY, EE. UU.) y una sonda de acero cilíndrica redonda (2 mm Ø). Se registró la resistencia de las muestras a la compresión de la sonda. La velocidad de la prueba previa se estableció en 2,0 mm/s y la velocidad de la prueba en 0,2 mm/s. La velocidad después de la prueba se estableció en 1,0 mm/s. La velocidad de adquisición fue de 10 puntos por segundo. Un ejemplo de curva de tensión-deformación se da en la Figura 2. Además, para evaluar la contribución de las interacciones hidrófobas y el enlace de hidrógeno a la estructura de las estructuras similares ha coacervado, los experimentos se repitieron mediante el uso de SGF y SIF que contenían 2 M de etanol o 2 M de urea, respectivamente. Para cada muestra, el trabajo de cohesión se calculó como el área bajo la curva de tensión-deformación entre 0 y 2,5 mm. El trabajo de cohesión se expresa en mJ. Los resultados típicos se muestran en la Tabla 2. Todos los experimentos se repitieron al menos tres veces.

Tabla 2: Trabajo de cohesión (en 10^{-4} mJ) para las formulaciones 2-5, 2-6 y 2-7 en SGF o SGF/SIF en presencia y ausencia de agentes caotrópicos

	Formulación	pH 1,0 (SGF durante 2 h)				pH 6,9 (SGF durante 2 h, después SIF durante 2 h)			
		Sin agente caotrópico	Urea 2 M	±	Etanol 2 M	Sin agente caotrópico	Urea 2 M	±	Etanol 2 M
5	2-5	4,7 ± 0,8	4,1 ± 0,3	±	3,9 ± 0,3	8,2 ± 0,1	7,0 ± 0,6	±	7,3 ± 0,4
10	2-6	7,2 ± 0,5	5,1 ± 0,3	±	5,1 ± 0,6	10,1 ± 0,1	4,3 ± 0,6	±	4,7 ± 0,2
	2-7	12,6 ± 1,1	8,1 ± 0,7	±	4,7 ± 0,6	4,7 ± 0,4	3,0 ± 0,4	±	2,3 ± 0,6

Después de la inmersión en SGF durante 2 h, cuanto mayor es la relación de polisacáridos a proteínas usados en la formulación, mayor es el trabajo de cohesión que se observó. Este resultado indica que las relaciones más altas de polisacáridos (por ejemplo, kappa-carragenano) condujeron a coacervados más fuertes. También sugiere que la resistencia de los complejos después de la inmersión se relacionó con las interacciones proteína-polisacárido, y además que un aumento en la relación polisacárido a proteína en las formulaciones puede favorecer las interacciones proteína/polisacárido a expensas de las interacciones proteína-proteína. En presencia de agentes caotrópicos, los valores de trabajo de cohesión tendieron a disminuir. Por lo tanto, tanto la urea como el etanol condujeron a una disminución de la resistencia de los complejos similares a coacervados, lo que sugiere que tanto los enlaces de hidrógeno como las fuerzas hidrófobas influyen en la estabilización del complejo. Además, cuanto mayores sean las relaciones de polisacáridos a proteínas, más pronunciado será el efecto de los agentes caotrópicos. Este resultado confirma que la resistencia de los complejos depende en gran medida de las interacciones proteína/polisacárido, lo que sugiere no solo la formación de coacervados, sino también que la resistencia de los coacervados formados es inversamente proporcional a la velocidad de liberación del ingrediente activo. Sin estar ligado a la teoría, al formar complejos más ajustados y más fuertes, los coacervados pueden ralentizar considerablemente la liberación de ingredientes activos.

Después de la inmersión en SGF durante 2 h seguido de SIF durante 2 h, el aumento de la relación de polisacárido a proteína condujo a un ligero aumento de los valores de trabajo de cohesión (de la formulación 2-5 a 2-6) antes de disminuir la resistencia de los complejos en aproximadamente 50 % en la formulación 2-7. Sin embargo, a pesar de estas pequeñas diferencias, el efecto de los agentes caotrópicos aún fue particularmente marcado, lo que sugiere que las interacciones proteína/polisacárido rigen la resistencia de los complejos similares a coacervados, incluso tras la incubación posterior en SIF.

Curiosamente, mientras que la constante de disociación de los grupos sulfato de kappa-carragenano es aproximadamente igual a 3 (pKa ~2,8) y el punto isoeléctrico de la proteína de suero es aproximadamente igual a 5 (pI ~ 5,2), los complejos de coacervado permanecieron intactos tras la incubación a pH 6,9 (SIF). Por lo tanto, la formación de complejos similares a coacervados de la formulación 2-5 a 2-6 después de la inmersión en SGF (y SGF/SIF) fue algo inesperada, ya que la bibliografía científica informa consistentemente que los coacervados de proteína/polisacárido estables se forman en un intervalo de pH entre el pKa de los polisacáridos y el punto isoeléctrico del material proteico (pI) (Syrbe y otros, 1998; Tolstoguzov, 1997). Por lo tanto, estos resultados destacan el impacto de las relaciones proteína/polisacárido en la resistencia del complejo similar a coacervado tanto en SGF (pH 1,0) como en SIF (pH 6,9).

3.2 Análisis FTIR de la región de amida I'

Las formulaciones se incubaron durante 2 h en 10 ml de D₂O ajustado con DCI 0,5 M a pD 1,5 (pH ~ 1,1), o en la misma solución durante 2 h y seguido en 10 ml de D₂O ajustado a 7,3 (pH~6,9) mediante el uso de NaOD 0,5 M. Después, se tomó la superficie del comprimido y se presionó ligeramente y se analizó mediante el uso de un cristal (ZnSe) de reflectancia total atenuada (ATR) horizontal. Los espectros infrarrojos se registraron con un espectrómetro Magna 560 Nicolet (Madison, WI, Estados Unidos) equipado con un detector de mercurio-cadmio-telururo. El espectrómetro se purgó continuamente con aire seco. Cada espectro es el resultado de un promedio de 128 barridos y se apodiza con una función Happ-Genzel. Para estudiar la región de amida I', se realizaron restas y autodeconvoluciones de Fourier mediante el uso del software Omnic™. El estrechamiento de la banda se logró con un ancho completo a la mitad de 18 cm⁻¹ y con un factor de mejora de la resolución de 2 cm⁻¹. Todos los espectros se realizaron al menos dos veces.

La Figura 3 muestra los resultados de los análisis FTIR e ilustra la región de amida I' para los coacervados tomados en la superficie de las formulaciones de comprimidos 2-5, 2-6 y 2-7 sometidas a la prueba de disolución como se describe en el Ejemplo 3.1. Curiosamente, no se observaron diferencias particulares entre los espectros obtenidos a pH ácido (SGF) o más neutro (SGF seguido de SIF). De hecho, no se observó diferencia en términos de la incidencia en la posición o intensidad de las bandas, al sumergir las formulaciones 2-5, 2-6 y 2-7 en SGF con o sin inmersión subsecuente en SIF. Estos resultados sugieren que los complejos similares a coacervados se forman inicialmente tras

el contacto de las mezclas de proteína/polisacárido con SGF durante la fase gástrica, y que estos complejos permanecen relativamente sin cambios estructuralmente tras la exposición posterior a SIF.

En más detalle, la Figura 3 muestra que todos los espectros estaban compuestos por ocho componentes ubicados a 1695 cm^{-1} , 1681 cm^{-1} , 1671 $\cdot$ 1, 1669 cm^{-1} , 1662-1660 cm^{-1} , 1648 cm^{-1} , 1632 cm^{-1} , 1622-1617 cm^{-1} y 1603 cm^{-1} . Componentes ubicados en 1632, 1662-1660, 1671-1669 y 1691 cm^{-1} se atribuyeron a láminas beta intramoleculares y estructuras desordenadas. La banda ubicada a 1648 cm^{-1} se atribuyó a hélices alfa y estructuras desordenadas. El pequeño hombro a 1603 cm^{-1} se atribuyó a la vibración de la cadena lateral de aminoácidos. El máximo de amida I' alrededor de 1617-1622 cm^{-1} es característico de la presencia de enlaces de hidrógeno en lámina beta intermoleculares. Tal banda es característica de las interacciones proteína-proteína. La frecuencia de esta banda pareció desplazarse progresivamente de 1617 cm^{-1} (formulación 2-5) a 1622 cm^{-1} (formulación 2-7) (Gilbert y otros, 2005). Esto puede atribuirse a un debilitamiento de las interacciones proteína-proteína mientras aumenta la concentración de polisacáridos en los comprimidos. Sin estar ligado a la teoría, este fenómeno puede estar relacionado con la intercalación de las moléculas de polisacárido (kappa-carragenano) entre las cadenas de proteínas. Este resultado es consistente con nuestras otras observaciones de que un aumento en la relación de polisacáridos en los comprimidos favorece las interacciones proteína-polisacárido a expensas de las interacciones proteína-proteína. Finalmente, el componente menos pronunciado ubicado en 1681 cm^{-1} sería consistente con la presencia de láminas beta antiparalelas intermoleculares.

En general, estos resultados proporcionan evidencia convincente de la formación de coacervados de complejos proteína/polisacárido *in situ* tras la inmersión de las formulaciones en SGF (pH 1,0), y que los coacervados formados *in situ* son capaces de soportar suficientemente la exposición posterior a SIF (pH 6,9) para lograr la liberación modificada/ralentizada del ingrediente activo. Además, la observación de que la resistencia del coacervado y la velocidad de liberación del ingrediente activo pueden controlarse simplemente variando la relación de mezcla de proteína/polisacárido en la formación, sugiere que es posible personalizar la velocidad de liberación del ingrediente activo y/o la duración de un ingrediente activo al variar las relaciones de biopolímero en la formación oral, de esta manera se proporciona la base para un sistema de suministro oral versátil a base de coacervado que es fácilmente adaptable al perfil de liberación deseado.

Ejemplo 4:

Las mezclas de polvos de proteínas/polisacáridos formadores de coacervados son adecuadas para formulaciones de cápsulas

Las cápsulas son una de las formas farmacéuticas orales sólidas más empleadas para el suministro de ingredientes activos y presentan algunas ventajas sobre los comprimidos para ciertas formulaciones. En este ejemplo, se añadieron mezclas de polvos de proteínas/polisacáridos formadores de coacervados a formulaciones de cápsulas para evaluar su idoneidad para el uso en tales formulaciones.

4.1 Preparación de cápsulas

Se usaron cápsulas a base de celulosa (HPMC, K-Caps[™]). Las cápsulas vacías se rellenaron manualmente con mezclas que contenían polvos de proteína/polisacárido que consisten en polvo de proteína de guisante (The Scoular Company, Nebraska, Estados Unidos) mezclado con un polvo de carragenano (proveedor A)-xantana (proveedor D), celulosa microcristalina (MCC) y un ingrediente activo (cafeína o el probiótico *P. acidilactici*). Las mezclas de proteína:polisacárido estaban en una relación en peso de 85:15. Después, las cápsulas se cerraron manualmente con la tapa. Los rendimientos de liberación *in vitro* de cápsulas se probaron subsecuentemente.

4.2 Rendimiento de liberación *in vitro* de cápsulas

Los rendimientos de liberación *in vitro* de cápsulas se probaron mediante el uso de una estación de prueba de disolución SR6 (Hanson Research Corp., Chatsworth, CA). Para cada formulación, se probaron seis cápsulas siguiendo la USP <724> para las especificaciones de disolución para las formas farmacéuticas de liberación retardada. Brevemente, un experimento de disolución típico consistió en la inmersión de cápsulas en un fluido gástrico simulado (SGF) durante 2 horas seguido de la inmersión de las cápsulas en un fluido intestinal simulado (SIF) hasta la disolución completa. La velocidad de la paleta se estableció a 65 rpm y la temperatura se mantuvo a 37 °C. El volumen del recipiente fue de 1000 ml.

La SGF consistió en una solución de HCl diluido (37 %), pH 1,0, que contenía 2 g/l de NaCl y 0,1 g/l de pepsina. SIF consistió en un tampón de NaH_2PO_4 (50 mM), pH 6,9, que contiene 0,5 g/l de pancreatina. Los experimentos se repitieron al menos dos veces. Durante cada experimento, se garantizó la inmersión de las cápsulas mediante el uso de lastres de acero inoxidable con seis espirales.

Para el probiótico, la supervivencia de la cepa de *P. acidilactici* se midió después de 1 h y 2 h de inmersión en SGF, seguido de la transferencia de las cápsulas y la disolución completa en 150 ml de SIF estéril. Subsecuentemente, se

realizaron diluciones y se cultivaron cepas mediante el uso de agar MRS en condiciones aeróbicas a 37 °C durante 48 h. Después se realizaron recuentos microbianos.

Para la cafeína, la liberación se siguió mediante la medición de la absorbancia a 271 nm mediante el uso de un espectrofotómetro UV-vis UV160A (Shimadzu, Kioto, Japón). Antes del análisis, las muestras se filtraron.

4.3 Resultados

Supervivencia de probióticos

Las formulaciones probadas, expresadas en % de peso, se dan en la Tabla 3. Se prepararon tres formulaciones diferentes que contenían respectivamente 0 %, 35 % y 50 % p/p de mezclas de polvos de proteínas/polisacáridos. El peso final de las cápsulas fue de 500 ± 15 mg.

Tabla 3: *P. acidilactici* formulaciones de cápsulas probadas

Formulación (en % p/p)	4-1	4-2	4-3
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido*	0	35	50
MCC	75	40	25
<i>P. acidilactici</i>	25	25	25

*polvo de proteína de guisante: polvo de carragenano/xantana (relación en peso 85:15).

Los resultados de la supervivencia de probióticos se muestran en la Figura 4. Las cápsulas se abrieron después de aproximadamente 12 minutos en SGF. Las cápsulas que contenían solo celulosa microcristalina (MCC) (formulación 4-1) mostraron una disolución rápida y *P. acidilactici* la supervivencia no fue detectable después de 1 h en el SGF. Por el contrario, las formulaciones 4-2 y 4-3 mostraron una supervivencia significativa después de la etapa gástrica. Después de 1 h, las formulaciones 4-2 y 4-3 produjeron UFC viables de $7,4 \pm 1,8 \times 10^9$ y $6,2 \pm 2,0 \times 10^9$, respectivamente. Después de 2 h, las UFC fueron $7,7 \pm 3,1 \times 10^4$ para la formulación 4-2, y $1,2 \pm 0,1 \times 10^9$ para la formulación 4-3. Notablemente, aunque la formulación de control 4-1 (que carece de la mezcla de proteínas formadoras de coacervado y polisacárido) mostró una disminución de 10,5 log en la viabilidad, las formulaciones 4-2 y 4-3 mostraron solo una disminución de 1 log después de 1 h en SGF.

Los resultados de protección gástrica observados se explican por la formación de coacervados por la mezcla de proteína/polisacárido cuando las cápsulas comenzaron a abrirse. De hecho, mientras el fluido gástrico simulado penetra en las cápsulas y las cápsulas comienzan a disolverse, la mezcla de proteína/polisacárido comienza a formar coacervados *in situ* (como se caracteriza en el Ejemplo 3 para comprimidos después de la inmersión), lo que conduce a la formación de un coacervado de complejo que se ajusta a la forma de la cápsula (ver Figura 5).

Por lo tanto, estos resultados demuestran la idoneidad de las mezclas de proteínas/polisacáridos formadores de coacervado para la protección gástrica, así como también para la liberación modificada de ingredientes activos.

Liberación de cafeína

Los mismos experimentos que con *P. acidilactici* se realizaron, reemplazando con cafeína como ingrediente activo. Se probaron dos formulaciones: una que contenía una mezcla de proteína/polisacárido, la otra que contenía solo relleno (MCC). Las formulaciones en cápsulas que se probaron se describen en la Tabla 4. El peso de la cápsula fue de aproximadamente 500 mg.

Tabla 4: Formulaciones de cápsulas de cafeína probadas (en % p/p)

Formulación (en % p/p)	4-4	4-5
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido*	0	35
MCC	75	40
Cafeína	25	25

* polvo de proteína de guisante: carragenano/polvo de xantana (relación en peso 85:15).

Los perfiles de liberación obtenidos a partir de cada formulación se dan en la Figura 6. Para ambas formulaciones, la liberación de cafeína comenzó después de 5 a 10 min del experimento. Este período corresponde al tiempo requerido por la cápsula para comenzar a disolverse y exponer su contenido al fluido circundante.

En el caso de la formulación que contiene solo MCC como relleno (formulación 4-4), se observó una rápida liberación de cafeína y el 97 % de la cafeína se liberó después de 15 min en SGF.

En el caso de la formulación 4-5 que contiene 35 % p/p de la mezcla de proteína/polisacárido, la liberación de cafeína se extendió durante varias horas y se observó una liberación del 100 % después de aproximadamente 6-7 horas. Este resultado es consistente con el de los probióticos y demuestra que la mezcla de polvo de proteína/polisacárido forma un complejo que protege el ingrediente activo de las condiciones ácidas y es capaz de extender la liberación del ingrediente activo de varios minutos a varias horas.

4.4 Discusión

Los resultados en este Ejemplo muestran que el uso de mezclas de polvos de proteínas/polisacáridos formadores de coacervados *in situ* son adecuadas para formulaciones de cápsulas además de formulaciones de comprimidos. De hecho, su uso en cápsulas condujo a perfiles de liberación modificada donde la disolución del ingrediente activo se extendió durante varias horas, y también proporcionó protección del ingrediente activo en condiciones gástricas simuladas.

La disolución de cápsulas a base de gelatina o celulosa no es un proceso instantáneo y total. Sin estar ligado a la teoría, es posible que cuando comienza la disolución de la cápsula, el fluido circundante penetra en la cápsula y conduce a la disolución simultánea del ingrediente activo y la formación de coacervado de complejo de proteína/polisacárido. Este proceso continúa hasta que la cápsula se disuelve completamente, lo que conduce a la formación de una estructura que se adapta a la forma de la cápsula (por ejemplo, ver Figura 5). El proceso de disolución de cápsulas y complejo formador de coacervado se muestra esquemáticamente en la Figura 7.

Mediante el uso de tecnologías estándar que están disponibles actualmente, las cápsulas se fabrican típicamente mediante el uso de gelatina o celulosa. Una vez que se llena con una formulación dada que contiene un ingrediente activo, se requieren etapas de procesamiento y aditivos adicionales, tales como aplicar un recubrimiento en la superficie de las cápsulas para obtener protección gástrica y/o un perfil de liberación modificado. Notablemente como se muestra en la presente descripción, las mezclas de polvos de proteínas/polisacáridos formadores de coacervados *in situ* fueron capaces de proporcionar tanto protección gástrica como liberación modificada del ingrediente activo en ausencia de etapas de procesamiento adicionales, tales como sin añadir un recubrimiento adicional (por ejemplo, recubrimiento entérico) a la cápsula.

Ejemplo 5:

Parámetros que rigen el rendimiento de los polvos de polisacáridos en sistemas de suministro oral en base a coacervados de proteína/polisacárido formados *in situ*

Los Ejemplos 1-4 demuestran la idoneidad de las mezclas de polvos de proteínas/polisacáridos formadores de coacervados para sistemas de suministro oral. Más específicamente, los Ejemplos 2 y 3 demuestran la formación de coacervados asociados con la liberación modificada de ingredientes activos con proteínas de suero tanto nativas como desnaturalizadas, mientras que el Ejemplo 4 demuestra resultados comparables con polvo de proteína de guisante, lo que indica que la formación de coacervados adecuada es alcanzable mediante el uso de polvos de proteínas de diferentes fuentes. En cada uno de los Ejemplos 2-4, se demostró la formación de coacervado adecuado mediante el uso del polisacárido kappa-carragenano del mismo proveedor (proveedor A). Sin embargo, las pruebas de disolución empíricas extensivas mediante el uso de diferentes tipos de polisacáridos (es decir, distintos de kappa-carragenano) e incluso el mismo tipo de polisacárido de diferentes proveedores (por ejemplo, kappa-carragenano obtenido de diferentes proveedores) produjeron resultados impredecibles en términos de formación de coacervado y protección gástrica/liberación modificada. (No se observaron tales resultados impredecibles con respecto a los polvos de proteínas empleados de diferentes proveedores, que todas tenían texturas más uniformes similares a la harina). Por ejemplo, se observó que el polvo de kappa-carragenano obtenido del proveedor A fue capaz de formar un coacervado de complejo *in situ* que proporcionó protección gástrica, pero que el kappa-carragenano del proveedor B no pudo hacerlo. Además, sin someter las formulaciones orales a pruebas de disolución empíricas, no fue posible predecir de manera confiable de antemano (por ejemplo, en base a las hojas de especificaciones del producto proporcionadas por el proveedor) qué polisacáridos de qué proveedores formarían coacervados exitosos *in situ*. Estos resultados impredecibles condujeron a esfuerzos extensos para identificar parámetros objetivos y medibles que pudieran predecir de manera confiable los polvos de polisacáridos que funcionan en el *in situ* sistemas de suministro oral formadores de coacervados de los Ejemplos 1-4. Estos esfuerzos dieron como resultado un conjunto de parámetros medibles/calculables del polvo de polisacárido (es decir, índice de cohesión dinámica, ángulo de reposo, índice de Carr/compresibilidad y relación de Hausner) que podrían usarse para predecir de manera confiable su idoneidad para los sistemas de suministro oral formadores de coacervados *in situ* descritos en la presente descripción. Los resultados mostrados más abajo en el presente Ejemplo demuestran lo anterior.

5.1 Fabricación de comprimidos

Los comprimidos se prepararon mediante compresión directa mediante el uso de una prensa de un solo golpe TDP-6 (Yangzhou Nuoya Machinery co. Ltd., Jiangju, China). Los polvos se pesaron y subsecuentemente se mezclaron en un mortero antes de la formación de comprimidos. Los diámetros y grosores de los comprimidos fueron respectivamente de 11,2 mm y 6,5 mm. 24 horas después de la fabricación, la dureza del comprimido se midió

siguiendo la USP <1217>, mediante el uso de un probador de dureza de comprimidos YD-1 (Minsheng Pharmaceutical Machinery Ltd., Shanghai, China). La dureza estuvo entre 7 y 9 kp.

En este ejemplo, se eligieron proteínas de guisante desnaturalizadas térmicamente como el polvo de proteína, y se formularon varios polisacáridos de diferentes proveedores en paralelo. La composición general de las formulaciones de comprimidos se muestra en las Tablas 5 y 6.

Tabla 5: Formulaciones de comprimidos probadas en este ejemplo

	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Polvo de proteína de guisante	130
	Polvo de polisacárido (ver la Tabla 6)	35
Ingrediente activo	<i>Pediococcus acidilactici</i>	110
Aditivos	MCC	115
	Estearato de magnesio	6
	Dióxido de silicio	6
	Ácido esteárico	50

5.2 Erosión de comprimidos

La erosión de los comprimidos se siguió mediante el uso de un aparato de desintegración (Tianjin Guoming Medicinal Equipment Co., Tianjin, China). Las pruebas se realizaron siguiendo las especificaciones de la USP <2040>. En un experimento típico, se colocó un comprimido en cada uno de los tres tubos de la cesta. No se usaron lastres. Después, el aparato se operó con SGF a 37 °C como el fluido de inmersión durante 1 h. Los experimentos se realizaron al menos por triplicado. La desintegración se siguió gravimétricamente. Después de 1 h, se midió la velocidad de erosión del comprimido y se expresó como el % de comprimido desintegrado (D %). Si el comprimido se desintegró completamente antes del final del experimento, se anotó su tiempo de desintegración (DT). La Tabla 6 ilustra los valores de D % y DT para los diferentes comprimidos probados.

5.3 Características del polvo de polisacárido

Los polvos de polisacáridos se caracterizaron mediante la medición de su ángulo de reposo, índice de cohesión dinámica, densidades en masa y aparente, índice de compresibilidad (índice de Carr) y relación de Hausner. Las propiedades del polvo se determinaron siguiendo las especificaciones de la USP <1174>. El índice de cohesión dinámica se estimó mediante el uso de la correlación existente entre el valor α (ángulo de reposo) y el índice de cohesión (Boschini y otros, 2015).

Estas propiedades son indicadores de la fluidez, textura y cohesión del polvo. Los valores del ángulo de reposo (α) y el índice de cohesión del polvo están fuertemente correlacionados (Boschini y otros, 2015), por lo tanto, los valores de α se usaron para determinar el valor del índice de cohesión correspondiente.

5.4 Resultados

P. acidilactici se seleccionó como ingrediente activo. Todas las tabletas tenían las mismas formulaciones (ver la Tabla 5), en donde solo variaron el tipo o el origen del polisacárido (ver la Tabla 6).

Tabla 6: D% y DT de desintegración de comprimidos

Polvo de polisacárido	Proveedor	Formulación	% Desintegración de comprimidos después de 1 h en SGF	Tiempo hasta la desintegración completa del comprimido (si < 1 h)
Kappa-carragenano	B	5-1	100 %	32 min
	A	5-2	5 %	-
Goma xantana	B	5-3	3 %	-
	C	5-4	57 %	-
	D	5-5	7 %	-
	E	5-6	100 %	12 min
Gellan	B	5-7	100 %	29 min
	G	5-8	100 %	38 min
Pectina LM	B	5-9	8 %	-
Pectina HM	B	5-10	22 %	-

Agar	B	5-11	15 %	-
Alginato	A	5-12	11 %	-
	B	5-13	3 %	-
	F	5-14	4 %	-

Los resultados de la Tabla 6 mostraron que las formulaciones 5-2, 5-3, 5-5, 5-9, 5-10, 5-11, 5-12, 5-13 y 5-14 (en negrita) exhibieron una resistencia significativa después de 1 h de exposición a SGF, lo que sugiere que estas formulaciones serían adecuadas para aplicaciones de protección gástrica/liberación modificada. Por el contrario, las formulaciones 5-1, 5-6, 5-7 y 5-8 proporcionaron prácticamente ninguna resistencia gástrica después de 1 h de exposición a SGF, lo que impidió su uso en sistemas de suministro oral de protección gástrica/liberación modificada. La formulación 5-4 mostró resistencia gástrica intermedia a SGF.

Sorprendentemente, las formulaciones 5-1 y 5-2 mostraron resultados de erosión completamente opuestos (100 % frente a 5 %) a pesar de que consisten en todos los mismos ingredientes. De hecho, la única diferencia entre las formulaciones 5-1 y 5-2 fue la *fente* del polisacárido (kappa-carragenano; proveedor A frente a B). De manera similar, las formulaciones 5-3, 5-4, 5-5 y 5-6 solo difieren en la *fente* del polisacárido (goma xantana, proveedores B, C, D o E), sin embargo, cada formulación dio resultados de erosión muy diferentes que varían de 3 % a 100 %. Además, los resultados no pudieron explicarse a partir de las hojas de especificaciones proporcionadas por los diversos proveedores para cada uno de los polvos de polisacáridos probados. Por lo tanto, las características y propiedades de cada uno de los polvos de polisacáridos se estudiaron para intentar comprender los resultados contradictorios de las pruebas de erosión.

Para cada uno de los polvos de polisacáridos, se compararon diferentes parámetros, que incluyen densidades de polvo, compresibilidad, relación de Hausner, ángulo de reposo, cohesión, pH en solución y viscosidad (que está, entre otras cosas, relacionada con el peso molecular del polímero). Además, se informa en la bibliografía que las concentraciones bajas de sal promueven las interacciones mientras que las concentraciones altas de sal tienden a disminuir o suprimir la coacervación (Schmitt, 2000; de Kruif y otros, 2004). Por lo tanto, también se comparó el contenido de sal, basado en cada uno de los certificados de análisis de los polvos de polisacáridos. Estos datos se muestran clasificados en orden de eficiencia de desintegración en la Tabla 7.

Tabla 7: Características de los polvos de polisacáridos (5-1 a 5-6) clasificados en base a D (%) / DT (min)

Formulación:	5-3	5-2	5-5	5-4	5-1	5-6
Polisacárido [Proveedor]	Goma xantana [B]	kappa-carragenano [A]	Goma xantana [D]	Goma xantana [C]	kappa-carragenano [B]	Goma xantana [E]
D (%) (DT en min)	3 %	5 %	7 %	57 %	100 % (32 min)	100 % (12 min)
pH (0,2 % en agua)	6,7	6,9	6,7	6,9	6,9	6,7
Viscosidad (0,2 % p/p) (cP)	169 ± 12	14 ± 1	186 ± 10	181 ± 11	15 ± 1	172 ± 8
[Sales](% p/p)*	4,3 %	9,8 %	9,6 %	9,2 %	4,3 %	2,5 %
Densidad aparente (g/cm ³)	0,80 ± 0,00	0,58 ± 0,02	0,85 ± 0,02	0,80 ± 0,00	0,76 ± 0,02	0,88 ± 0,02
Densidad en masa (g/cm ³)	0,56 ± 0,05	0,43 ± 0,01	0,51 ± 0,02	0,68 ± 0,01	0,59 ± 0,02	0,75 ± 0,02
Relación de Hausner	1,45 ± 0,12	1,34 ± 0,01	1,65 ± 0,10	1,17 ± 0,02	1,28 ± 0,03	1,17 ± 0,05
Índice de Carr/compresibilidad (%)	31 ± 6	25 ± 1	39 ± 4	15 ± 2	22 ± 2	15 ± 4
Ángulo de reposo	51 ± 5	55 ± 3	48 ± 3	34 ± 2	32 ± 7	28 ± 2
Índice de cohesión dinámica	30-40	30-40	30-40	5-10	5-10	< 5

* De acuerdo con el certificado de análisis del proveedor.

Los ejemplos 5-4, 5-1 y 5-6 no están dentro del alcance de las reivindicaciones. Los resultados mostrados en la Tabla 7 revelan que la erosión de los comprimidos en SGF (D/DT) no podría predecirse de manera confiable a partir de los parámetros del polvo de polisacárido tales como pH, viscosidad, concentración de sal, densidad aparente o densidad en masa. De hecho, la mayoría de los polvos de polisacáridos tenían concentraciones de sal muy diferentes. Por ejemplo, mientras que los polvos de polisacáridos de las formulaciones 5-3 y 5-1 tenían el mismo contenido de sal (4,3 %), las formulaciones 5-3 y 5-1 se desempeñaron de manera muy diferente en la prueba de erosión (3 % frente a 100 %).

%). Teniendo en cuenta el efecto bien conocido de la fuerza iónica y los contraiones en la formación de complejos proteína/polisacárido, estos resultados fueron bastante sorprendentes.

Sin embargo, curiosamente, los polvos de polisacáridos con relaciones de Hausner e índice de Carr/compresibilidad más altos (indicativos de la fluidez del polvo) fueron aquellos que tendieron a formar comprimidos de disgregación más lenta (y viceversa). Estos resultados sugieren que los polvos de polisacáridos que tienden a agregarse con proteínas para formar coacervados suficientemente fuertes *in situ* deben ser cohesivos (tienen poca fluidez) y, por el contrario, los polvos granulares o arenosos (por ejemplo, que están sin partículas finas o fibras), son menos capaces de interactuar con los polvos de proteínas tras la exposición al SGF, de esta manera resisten la erosión.

Las mediciones del ángulo de reposo mostraron que los polvos de polisacáridos con valores de ángulo más altos eran más capaces de complejizarse con polvos de proteínas tras la exposición al SGF, lo que les permitía resistir la erosión (y viceversa). Los valores del ángulo de reposo indican que los polvos cohesivos eran adecuados para las formulaciones orales (o comprimidos/cápsulas) de disintegración lenta y, por el contrario, que los polvos de flujo libre no lo serían. Este resultado va de la mano con los obtenidos a partir del índice de compresibilidad y los valores de la relación de Hausner.

Finalmente, el ángulo de reposo puede relacionarse directamente con el índice de cohesión dinámica (Boschini y otros, 2015). Parece que los polvos de polisacáridos con un índice de cohesión dinámica por debajo de 10 no fueron capaces de agregarse con proteínas, mientras que los polvos de polisacáridos con un índice de cohesión superior a 10 son los susceptibles a interactuar con materiales de proteínas y formar coacervados.

Curiosamente, las formulaciones menos resistentes a la erosión se obtuvieron mediante el uso de los polvos de polisacáridos que tienen un índice de cohesión por debajo de 5 y ángulos de reposo por debajo de 30 (por ejemplo, ver la formulación 5-6 en la Tabla 7 que exhibe una disintegración completa después de solo 12 min). Por el contrario, se obtuvieron formulaciones progresivamente más resistentes a la erosión con polvos de polisacáridos de índice de cohesión y ángulo de reposo crecientes (Tabla 7).

La Tabla 8 resume para cada polvo de polisacárido probado la relación de Hausner, el índice de Carr, el ángulo de reposo, el índice de cohesión dinámica y su tiempo de disintegración correspondiente en SGF (si corresponde) y el % de disintegración al final de la etapa gástrica. En general, se observó que los parámetros relacionados con la cohesividad del polvo de polisacárido predicen de manera confiable la idoneidad del polvo de polisacárido para formar coacervados con proteínas *in situ*, en el contexto de los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción. Más específicamente, se observó que los polvos de polisacáridos que tienen un índice de cohesión dinámica, ángulo de reposo, relación de Hausner e índice de Carr (índice de compresibilidad) más altos dan como resultado la formación de coacervados más fuertes *in situ* tras la exposición al SGF, para proporcionar de esta manera una mayor protección gástrica y/o una liberación más lenta del ingrediente activo.

Curiosamente, para los polisacáridos adecuados, el aumento de sus concentraciones en las formulaciones de comprimidos condujo a un aumento en el tiempo de disintegración así como también a una disminución en el % de disintegración al final de la etapa gástrica simulada (resultados no mostrados).

Tabla 8: Características formadoras de coacervado de polvos de polisacáridos clasificados en base a D (%) / DT el alcance de las reivindicaciones. (min). Los ejemplos en las últimas 5 líneas de la tabla no están en

Polisacárido	Proveedor	Formulación	Relación de Hausner	Índice de Carr/compresibilidad (%)	Ángulo de reposo	Índice de cohesión dinámica	D % (DT en min)
Goma xantana	B	5-3	1,45	31	51	30-40	3 %
Alginato	B	5-13	1,62	38	42	20-30	3 %
Alginato	F	5-14	1,72	42	47	30-40	4 %
Kappa-carragenano	A	5-2	1,34	25	55	30-40	5 %
Goma xantana	D	5-5	1,65	39	48	30-40	7 %
Pectina LM	B	5-9	1,32	24	39	10-20	8 %
Alginato	A	5-12	1,53	35	43	20-30	11 %
Agar	B	5-11	1,63	39	44	20-30	15 %
Pectina HM	B	5-10	1,51	34	45	30-40	22 %
Goma xantana	C	5-4	1,17	15	34	5-10	57 %

5	Gellan	G	5-8	1,23	18	28	5-10	100 % (38 min)
	Kappa-carragenano	B	5-1	1,28	22	32	5-10	100 % (32 min)
	Gellan	B	5-7	1,19	23	33	5-10	100 % (29 min)
	Goma xantana	E	5-6	1,17	15	28	< 5	100 % (12 min)

10 Ejemplo 6:

Acondicionamiento del polvo de polisacárido para aumentar la formación de coacervado y mejorar la protección gástrica

15 Los resultados del Ejemplo 5 demuestran que los polvos de polisacáridos que tienen una cohesión más alta (por ejemplo, índice de cohesión dinámica más alto, ángulo de reposo, relación de Hausner e índice de Carr) formaron coacervados más fuertes *in situ* tras la exposición al SGF, para proporcionar de esta manera una mayor protección gástrica y/o una liberación más lenta del ingrediente activo. En el Ejemplo 6, demostramos que un polvo de polisacárido que tiene baja cohesividad y proporciona una protección gástrica deficiente en el contexto de los sistemas de suministro oral descritos en la presente descripción, puede acondicionarse para aumentar la cohesividad, y que este

20 acondicionamiento da como resultado una protección gástrica mejorada de forma dramática.

Se seleccionó el polvo de goma xantana del proveedor E (5-6) ya que proporcionó la menor protección gástrica (desintegración del 100 % en 12 min) entre todos los polvos de polisacáridos mostrados en la Tabla 8. Intentamos

25 modificar las propiedades físicas del polvo de goma xantana del proveedor E como sigue. Se preparó una solución al 2 % (p/v) en agua doblemente destilada y se liofilizó subsecuentemente. Después de la liofilización, el polvo se secó en exceso durante cinco días a 60 °C y después se trituró. Después de triturar, los polvos de polisacáridos se tamizaron a través de una malla núm. 20 (Ø 841 µm). La Tabla 9 ilustra las características del polvo antes y después del acondicionamiento. Después, los comprimidos se fabricaron en formulaciones como se describe en la Tabla 5, con

30 cada polvo de goma xantana (original y modificado), y se probaron mediante el uso de un aparato de desintegración como se describe en el Ejemplo 5. La Tabla 10 ilustra los resultados obtenidos de cada polisacárido.

Tabla 9: Propiedades del polisacárido antes y después del acondicionamiento

35	Polvo de goma xantana sin acondicionar		Polvo de goma xantana acondicionada	
	Densidad aparente (g/cm ³)	0,88 ± 0,02	0,52 ± 0,04	
	Densidad en masa (g/cm ³)	0,75 ± 0,02	0,27 ± 0,02	
	Relación de Hausner	1,17 ± 0,05	1,92 ± 0,12	
40	Índice de Carr/compresibilidad (%)	15 ± 4	48 ± 3	
	Ángulo de reposo	28 ± 2	51 ± 4	
	Índice de cohesión dinámica	< 5	30-40	

45 Como se muestra en la Tabla 9, el acondicionamiento del polvo de goma xantana dio como resultado una disminución de la densidad (en masa y aparente) y un aumento marcado en los parámetros relacionados con una mayor cohesión del polvo (relación de Hausner, índice de Carr, ángulo de reposo e índice de cohesión dinámica). El polvo de goma xantana acondicionado también resultó en un polvo notablemente más esponjoso. Como se muestra en la Tabla 10, una formulación que usa el polvo de goma xantana acondicionado dio como resultado comprimidos con una velocidad

50 de desintegración muy baja en la etapa gástrica simulada (solo 1 % medible).

Tabla 10: Parámetros de desintegración de comprimidos

55	D %		DT (min)	
	Xantana no acondicionada	100 %	12 min	
	Xantana acondicionada	1 %	-	

60 Ejemplo 7:

Tipo de material proteico y su efecto sobre la desintegración de comprimidos y la supervivencia de probióticos

En el presente ejemplo, nos centramos en el efecto del tipo de proteína sobre las propiedades de liberación de comprimidos de diferentes formulaciones. Para ello, una formulación probiótica que contiene un *Lactobacillus helveticus* se hizo incluyendo diferentes materiales de fuentes de proteínas (Tabla 11). Se probaron seis materiales

de proteínas diferentes de ocho proveedores diferentes. Para cada tipo de proteína, el % de desintegración después de SGF se midió 0 después de 60 min en un aparato de desintegración (como se describe en el Ejemplo 5). Al final de la etapa gástrica, los comprimidos se transfirieron en 750 ml de un fluido intestinal simulado (SIF) que consistía en un tampón de KH_2PO_4 (50 mM), pH 6,9, que contiene 0,5 g/l de pancreatina. Para cada comprimido, se evaluó la desintegración y se midió el tiempo de desintegración. Después de la desintegración, se midieron las UFC y se compararon con los recuentos iniciales para evaluar el % de supervivencia celular. Todos los experimentos se realizaron dos veces y los resultados se muestran en la Tabla 12.

Tabla 11: Formulaciones probadas

	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Polvo de proteína nativa	150
	Polvo de polisacárido xantana: alginato (80:20)	40
Ingrediente activo	<i>Lactobacillus helveticus</i>	140
Aditivos	MCC	335
	Dióxido de silicio	5
	Ácido esteárico	30

Tabla 12: % de desintegración después de SGF, tiempo de desintegración (SIF) y tasa de supervivencia de probióticos como una función del tipo de proteína

Material de proteína	Proveedor	D% después de SGF	DT (min) en SIF	Supervivencia de probióticos (%)
Proteína de guisante	G	3 %	131 ± 5	53
Proteína de guisante	H	5 %	118 ± 7	45
Proteína de guisante	I	3 %	133 ± 3	48
Proteína de arroz	J	2 %	152 ± 3	51
Proteína de arroz	K	2 %	154 ± 5	42
Proteína de arroz	L	4 %	142 ± 4	55
Proteína de arroz	M	3 %	144 ± 2	45
Proteína de coco	M	4 %	98 ± 5	46
Proteína de Sacha inchi	M	3 %	129 ± 3	41
Proteína de tara	M	0 %	172 ± 8	50
Proteína de cáñamo	M	9 %	44 ± 6	41
Proteína de cáñamo	N	3 %	105 ± 3	49

Los resultados mostrados en la Tabla 12 muestran que el tipo y la fuente de proteína no parecieron influir en gran medida en la desintegración del comprimido en SGF. La tasa de supervivencia celular solo se vio ligeramente influenciada y, independientemente del tipo o fuente de proteína, *L. helveticus* mostró una supervivencia después de SGF entre 40 y 55 % y, por lo tanto, estuvo protegido contra las duras condiciones gástricas. Este efecto se asocia con la capacidad tamponante de los materiales proteicos en estas condiciones. Además, el tipo de proteína pareció tener un impacto en la duración de la desintegración intestinal simulada. Se observó una desintegración más rápida para las proteínas de cáñamo y coco, mientras que se observó un tiempo de desintegración más largo para las proteínas de arroz y tara. La proteína de guisante mostró un tiempo de desintegración "intermedio" en fluidos intestinales simulados. Sin desear limitarse a la teoría, estos resultados pueden explicarse -al menos en parte- por el hecho de que la composición de concentrado/aislado de proteína y la estructura primaria de proteína (por ejemplo, cantidad de aminoácidos hidrófobos y cantidad de aminoácidos ionizables) pueden influir en la formación de coacervado y su velocidad de disociación a pH 7.

Finalmente, las mismas formulaciones se probaron mediante el reemplazo de *L. helveticus* con otros ingredientes activos (por ejemplo, vitamina C, cafeína). Los experimentos de disolución también demostraron que estas proteínas eran adecuadas para prolongar la liberación del ingrediente activo *in vitro* a través de coacervación. En general, estos resultados demuestran que la formación de coacervados es alcanzable mediante el uso de diferentes materiales y proveedores de proteínas.

Ejemplo 8: Métodos para los Ejemplos 9-22

8.1 Preparación de comprimidos y cápsulas

Los comprimidos se prepararon mediante compresión directa mediante el uso de una prensa de un solo golpe TDP-6 (Yangzhou Nuoya Machinery co. Ltd., Jiangju, China). Los polvos se pesaron y subsecuentemente se mezclaron en un mortero antes de la formación de comprimidos. Los diámetros y grosores de los comprimidos fueron respectivamente de 11,2 mm y 4,5-6,5 mm. 24 horas después de la fabricación, la dureza del comprimido se midió siguiendo la USP <1217>, mediante el uso de un probador de dureza de comprimidos YD-1 (Minsheng Pharmaceutical Machinery Ltd., Shanghai, China). La dureza estuvo entre 5 y 9 kp. Cada uno de los polvos de polisacáridos empleados tenía ángulos de reposo mayores que 35, relaciones de Hausner mayores que 1,18, índice de Carr/índice de compresibilidad mayores que 15, e índice de cohesión dinámica mayores que 10.

En el caso de las formulaciones en cápsulas, una vez mezclado el polvo, las cápsulas se rellenaron mediante el uso de una máquina manual de llenado de cápsulas. Todas las pruebas se realizaron mediante el uso de cápsulas "0" "vegetarianas" (HMPC).

8.2 Propiedades de disolución de comprimidos/cápsulas

El rendimiento *in vitro* de las formulaciones de comprimidos/cápsulas se probó mediante el uso de una estación de prueba de disolución SR6, USP II (Hanson Research Corp., Chatsworth, CA). Se siguieron las pautas descritas en USP <2040> (Desintegración y disolución de suplementos dietéticos).

Durante los experimentos, la velocidad de agitación se estableció en 60-100 rpm y la temperatura se mantuvo a 37 °C. Antes de las mediciones, las muestras se filtraron y se restó la absorbancia de fondo. La liberación se siguió mediante la medición de la concentración del ingrediente activo (AI) disuelto en el medio de liberación como una función del tiempo. En dependencia del ingrediente activo, las mediciones de liberación se realizaron por HPLC o directamente por espectrofotometría.

Los experimentos de disolución típicos consistieron en la inmersión de 3 formulaciones de comprimidos en un fluido gástrico simulado (SGF) durante 2 horas, seguido de la inmersión de los comprimidos en un fluido intestinal simulado (SIF), hasta la disolución completa. En el caso de las formulaciones en cápsulas, se garantizó la inmersión mediante el uso de lastres de acero inoxidable con seis espirales.

SGF consistió en una solución de HCl diluido (37 %), pH 1,0, que contenía 2 g/l de NaCl y 0,1 g/l de pepsina. SIF consistió en un tampón de KH_2PO_4 (50 mM), pH 6,9, que contiene 0,5 g/l de pancreatina. Los experimentos se repitieron al menos dos veces.

8.3 Propiedades de desintegración de comprimidos

La desintegración de los comprimidos se probó mediante el uso de un aparato de desintegración (Tianjin Guoming Medicinal Equipment Co., Tianjin, China). Las pruebas se realizaron siguiendo las especificaciones de la USP <2040> (desintegración y disolución de suplementos dietéticos). En un experimento típico, se colocó un comprimido en cada uno de los tres tubos de la cesta. No se usaron lastres. El aparato se operó mediante el uso de SGF a 37 °C como el fluido de inmersión durante 1 h. Los comprimidos se transfirieron después a SIF hasta la desintegración completa. La desintegración de los comprimidos se siguió gravimétricamente. Los experimentos se repitieron al menos dos veces.

8.4 Supervivencia de probióticos

Cuando el ingrediente activo (IA) fue un probiótico o una mezcla de probióticos, se prestó especial atención a la supervivencia celular posgástrica. Por lo tanto, al final de los experimentos de desintegración, se realizaron recuentos microbianos. Las cepas se cultivaron siguiendo procedimientos adecuados.

En el caso de levaduras, las cepas se cultivaron mediante el uso de un medio de cultivo YPD. Todas las muestras se cultivaron en condiciones aeróbicas y se incubaron a 30 °C durante 48-72 h.

En el caso de *Lactobacillus/bifidobacterial*, se cultivaron mediante el uso de un agar MRS. Todas las muestras se cultivaron en condiciones anaerobias y se incubaron a 37 °C durante 48-72 h.

8.5 Actividad proteolítica

La actividad proteolítica de la pancreatina (%) se midió de la siguiente manera: al final de la etapa gástrica simulada, el pH se ajustó a 7-7,5, las formulaciones de comprimidos se desintegraron mediante el uso de un homogeneizador de rotor-estator y se añadieron 500 mg de proteínas de suero nativas. Después de 4 horas de incubación a 37 °C, se midió la proteólisis mediante la dosificación de grupos amino libres, mediante el uso del reactivo OPA (orto-ftalaldehído). Los experimentos se realizaron mediante el uso de la misma cantidad de pancreatina no encapsulada/no protegida, con (control negativo) o sin (control positivo) simular un paso gástrico. La actividad proteolítica (%) se determinó mediante el cálculo de la relación de concentración de grupos amino libres para una formulación de comprimidos dada al control positivo.

Ejemplo 9: Formulación de comprimidos probióticos y liberación

La supervivencia posgástrica de las cepas probióticas y la supervivencia de las cepas mediante el uso de la formulación descrita en la Tabla 13 y la Figura 8A, y la supervivencia de las cepas no formuladas se muestran en la Figura 8B. Los probióticos usados fueron una mezcla de *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus plantarum*. Las mezclas de proteína:polisacárido estaban en una relación en peso de 90:10. La cinética de desintegración de la formulación descrita en la Tabla 13 se muestra en la Figura 9.

Tabla 13: Formulación de tres cepas probióticas

	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteínas de guisante desnaturalizadas - carragenano	165
Ingrediente activo	Probióticos	110
	MCC	115
Aditivos	Estearato de magnesio	6
	Dióxido de silicio	6
	Ácido esteárico	50

Ejemplo 10: Formulación y liberación de comprimidos de curcumina

El perfil de disolución obtenido a partir de la formulación descrita en la Tabla 14 se muestra en la Figura 10. Las mezclas de proteína:polisacárido estaban en una relación de 92:8.

Tabla 14: Formulación de comprimidos de curcumina

	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteínas de soja desnaturalizadas - carragenanos	83
Ingrediente activo	Curcumina	225
	MCC	142
Aditivos	Estearato de magnesio	4
	Dióxido de silicio	2

Ejemplo 11: Formulación de comprimidos de 5-HTP y liberación

El perfil de disolución obtenido a partir de la formulación descrita en la Tabla 15 se muestra en la Figura 11. Las mezclas de proteína:polisacárido estaban en una relación de 85:15.

Tabla 15: Formulación de comprimidos de 5-HTP

	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteínas de guisante desnaturalizadas - xantana	200
Ingrediente activo	5-HTP	100
	MCC y fosfato de calcio dibásico	142
Aditivos	Estearato de magnesio	6
	Dióxido de silicio	3

Ejemplo 12: Formulación de comprimidos con extracto de menta y liberación

Las propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 16 se muestran en la Figura 12. Las mezclas de proteína:polisacárido estaban en una relación de 70:30.

Tabla 16: Formulación de comprimidos con extracto de menta

	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteínas de guisante succiniladas - alginato	72
Ingrediente activo	Extracto de menta	250
	MCC	142
Aditivos	Ácido esteárico	26
	Vitamina B6	2

Estearato de magnesio	6
Dióxido de silicio	3

5 Ejemplo 13: Formulación y liberación de comprimidos de cafeína

Las propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 17 se muestran en la Figura 13. Las mezclas de proteína:polisacárido estaban en una relación de 92:8.

10 Tabla 17: Formulación de comprimidos de cafeína

Tabla 17.1 Formulación de comprimidos de cafeína			
	Ingrediente	Cantidad (mg)	
	Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteínas de soja desnaturalizadas - carragenanos	300
	Ingrediente activo	Cafeína	150
		MCC	206
Aditivos		Estearato de magnesio	8
		Dióxido de silicio	4,5

20 Ejemplo 14: Formulación y liberación de comprimidos de extracto de vara dorada/jengibre

Las propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 18 se muestran en la Figura 14. Las mezclas de proteína:polisacárido estaban en una relación de 75:25.

25 Tabla 18: Formulación de comprimidos de vara dorada y jengibre

Tabla 10. Formulación de comprimidos de vara dorada y jengibre		
	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteínas de guisante nativas - carragenanos	230
	Extracto de vara dorada y jengibre	200
Ingredientes activos	Cafeína	43
	MCC	110
Aditivos	Estearato de magnesio	10
	Dióxido de silicio	9

Ejemplo 15: Formulación de comprimidos y liberación de *S. boulardii*

40 Supervivencia posgástrica de *Saccharomyces boulardii*. La supervivencia de la cepa mediante el uso de la formulación descrita en la Tabla 19 se muestra en la Figura 15A (76,1 %) y la supervivencia de la cepa no formulada se muestra en la Figura 15B (3 %). La cinética de desintegración de la formulación descrita en la Tabla 19 se muestra en la Figura 16. Las mezclas de proteína:polisacárido estaban en una relación de 85:15.

45 Tabla 19: Formulación de comprimidos de *S. boulardii*

Tabla 10. Formulación de comprimidos de <i>S. boulardii</i>			
	Ingrediente	Cantidad (mg)	
	Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteínas de soja succiniladas - pectina	180
	Ingrediente activo	<i>S. boulardii</i>	120
		MCC	126
Aditivos		Estearato de magnesio	6
		Dióxido de silicio	6
		Ácido esteárico	55

55 Ejemplo 16: Formulación y liberación de comprimidos de beta-alanina

La cinética de desintegración de la formulación descrita en la Tabla 20 se muestra en la Figura 17. Las mezclas de proteína:polisacárido estaban en una relación de 85:15.

60 Tabla 20: Formulación de comprimidos de beta-alanina

Tabla 20. Formulación de comprimidos de beta-alanina			
	Ingrediente	Cantidad (mg)	
	Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteína de guisante nativa - xantana	300
	Ingrediente activo	Beta-alanina	400

5	Aditivos	Arroz Nu	25
		Flujo Nu	25
		Carbonato de calcio	200
		Dextrosa	200

Ejemplo 17: Formulación y liberación de cápsulas de menta - vitamina B6

Las propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 21 se muestran en la Figura 18. Las mezclas de proteína:xantana:polisacárido estaban en una relación de 80:10:10.

Tabla 21: Formulación de cápsulas de menta

	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteína de guisante nativa - xantana - carragenano	133
Ingrediente activo	L-mentol	42
Aditivos	MCC	150
	Ácido esteárico	15

Ejemplo 18: Formulación y liberación de comprimidos de melatonina y jengibre

Las propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 22 se muestran en la Figura 19. Las mezclas de proteína:polisacárido estaban en una relación de 80:20.

Tabla 22: Formulación de comprimidos de melatonina y jengibre

	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteína de guisante nativa - Xantana	100
Ingredientes activos	Jengibre - Probióticos (2:1)	120
	Melatonina	5
Aditivos	MCC	270
	Estearato de magnesio	5
	Dióxido de silicio	2,5

Ejemplo 19: Formulación y liberación de comprimidos de mononucleótido de nicotinamida (NMN)

Las propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 23 se muestran en la Figura 20. Las mezclas de proteína:xantana:guar goma estaban en una relación de 78:18:4.

Tabla 23: Formulación de comprimidos de NMN

	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteína de arroz nativa - xantana - goma guar	300
Ingredientes activos	Mononucleótido de nicotinamida (NMN)	250
Aditivos	Isomalt	600
	Ácido esteárico	20
	Palmitato de calcio	10
	MCC	30

Ejemplo 20: Formulación y liberación de cápsulas de vitamina C

Las propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 24 se muestran en la Figura 21. La mezcla de proteína:polisacárido estaba en una relación de 78:22.

Tabla 24: Formulación de cápsulas de vitamina C

	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteína de guisante nativa - Xantana	200
Ingredientes activos	Vitamina C	300
Aditivos	MCC	120

Ejemplo 21: Formulación y liberación de comprimidos de pancreatina

Las propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 25 se muestran en la Figura 22. Las mezclas de proteína:xantana:alginato estaban en una relación de 80: 16:4. La actividad proteolítica enzimática después de SGF de pancreatina frente al control negativo se muestra en la Figura 23.

Tabla 25: Formulación de comprimidos de pancreatina

	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteína de suero nativa - xantana - alginato	250
Ingredientes activos	Pancreatina	100
	Fosfato dicálcico	800
	Ácido esteárico	30
Aditivos	Palmitato de calcio	15
	MCC	30

Ejemplo 22: Formulación y liberación de comprimidos de ajo

Las propiedades de disolución de la formulación descrita en la Tabla 26 se muestran en la Figura 24. La relación proteína:polisacárido fue de 86:14.

Tabla 26: Formulación de comprimidos de ajo

	Ingrediente	Cantidad (mg)
Mezcla de polvo de proteína/polisacárido	Proteína de guisante desnaturalizada - xantana	200
Ingredientes activos	Extracto de ajo	400
	Fosfato dicálcico	260
	Ácido esteárico	30
Aditivos	Palmitato de calcio	15
	Dióxido de silicio	5
	MCC	100

Referencias

- Beakawi Al-Hashemi, H.M., Baghabra Al-Amoudi, O.S. (2018). A review on the angle of repose of granular materials. Powder technology, 330, 397-417.
- Boschini, F., Delaval, V., Traina, K., Vandewalle, N., Lumay, G. (2015). Linking flowability and granulometry of lactose powders. International Journal of Pharmaceutics, 494, 312-320.
- Carr, R.L., (1965) Evaluating Flow Properties of Solids. Chem. Eng. 72, 163-168.
- de Kruif, C.G., Weinbreck, F., de Vries, R. (2004). Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. Current opinion in colloid and interface science, 9, 340-349.
- Gilbert, V., Rouabhia, M., Wang, H., Arnould, A-L., Remondetto, G. & Subirade, M. (2005). Characterization and evaluation of whey proteins-based films as substrates for in vitro cell cultures. Biomaterials, 26, 7471-7480.
- Schmitt, C. (2000). Etude de la coacervation complexe entre la β -lactoglobuline et la gomme d'acacia en solution aqueuse. Thèse INSAIA, Francia. 217 pp.
- Syrbe, A., Bauer, W.J. & Klostermeyer, H. (1998). Polymer science concepts in dairy systems-An overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. International Dairy Journal, 8, 179-193.
- Tolstoguzov, V.B. (1997). Protein-polysaccharide interactions. En: S. Damodaran & A. Paraf, Food Proteins and their Applications (pp171-198). Nueva York: Marcel Dekker.

REIVINDICACIONES

1. Un sistema de suministro oral que comprende o que consiste esencialmente en una mezcla homogénea seca que comprende la mezcla de un polvo de proteína y un polvo de polisacárido, y un ingrediente activo disperso en la misma, la mezcla de polvo de proteína y polisacárido forma un coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ* tras la inmersión del sistema de suministro oral en un fluido gástrico, de esta manera se confiere protección gástrica y/o liberación modificada del ingrediente activo, en donde la relación de polvo de proteína a polvo de polisacárido en el sistema de suministro oral es suficiente para conferir protección gástrica y/o liberación modificada del ingrediente activo, y en donde variar la relación de polvo de proteína a polvo de polisacárido en el sistema de suministro oral varía el nivel de protección gástrica y/o velocidad de liberación del ingrediente activo, en donde el polvo de polisacárido tiene, o se acondiciona para tener:
 - (I) las siguientes características de flujo de polvo:
 - (a) un ángulo de reposo (α) mayor que aproximadamente 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64 o 65 grados;
 - (b) un índice de cohesión dinámica mayor que aproximadamente 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50;
 - (c) un índice de compresibilidad (índice de Carr) mayor que aproximadamente 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 o 38 %; y
 - (d) una relación de Hausner mayor que aproximadamente 1,28, 1,29, 1,3, 1,31, 1,32, 1,33, 1,34, 1,35, 1,36, 1,37, 1,38, 1,39, 1,4, 1,41, 1,42, 1,43, 1,44, 1,45, 1,46, 1,47, 1,48, 1,49, 1,5, 1,51, 1,52, 1,53, 1,54, 1,55, 1,56, 1,57, 1,58, 1,59 o 1,6;
 - en donde "aproximadamente" designa una posible variación de hasta 10 %;
 - o
 - (II) una, dos o tres de las siguientes características de flujo de polvo:
 - (a) un ángulo de reposo (α) mayor que 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64 o 65 grados;
 - (b) un índice de cohesión dinámica mayor que 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50;
 - (c) un índice de compresibilidad (índice de Carr) mayor que 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 o 38 %; o
 - (d) una relación de Hausner mayor que 1,31, 1,32, 1,33, 1,34, 1,35, 1,36, 1,37, 1,38, 1,39, 1,4, 1,41, 1,42, 1,43, 1,44, 1,45, 1,46, 1,47, 1,48, 1,49, 1,5, 1,51, 1,52, 1,53, 1,54, 1,55, 1,56, 1,57, 1,58, 1,59 o 1,6;
 - en donde el ángulo de reposo, el índice de cohesión dinámica, el índice de compresibilidad (índice de Carr) y la relación de Hausner, cuando se determinan, se determinan como se describe en el Ejemplo 5.3 de la descripción.
2. El sistema de suministro oral de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el polvo de polisacárido tiene, o se acondiciona para tener, todas las características de flujo de polvo como se definen en (II)(a), (II)(b), (II)(c) y (II)(d).
3. El sistema de suministro oral de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde la mezcla de polvo de proteína y polisacárido forma un coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ* tras la inmersión del sistema de suministro oral en una solución de pH por debajo del pKa del polisacárido.
4. El sistema de suministro oral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde:
 - (a) aumentar la relación de polvo de polisacárido a polvo de proteína en el sistema de suministro oral aumenta el nivel de protección gástrica y/o disminuye la velocidad de liberación del ingrediente activo;
 - (b) la relación en peso de polvo de polisacárido a polvo de proteína en el sistema de suministro oral es 1:20 a 1:1, 1: 15 a 1:1,5, 1: 10 a 1:2, 1:9,5 a 1:2,5, 1:9 a 1:3, o 1:8,5 a 1:3,5, 1:8 a 1:4, 1:7,5 a 1:4,5, o 1:7 a 1:5;
 - (c) el sistema de suministro oral comprende aproximadamente 5 % a 50 %, 10 % a 45 %, 15 % a 40 % o 20 % a 35 % p/p de la mezcla de proteína y polisacárido, en donde "aproximadamente" designa una posible variación de hasta 10 %; o
 - (d) cualquiera de sus combinaciones.
5. El sistema de suministro oral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde:
 - (a) la mezcla de polvo de proteína y polisacárido forma un coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ* tras la inmersión del sistema de suministro oral en un fluido gástrico simulado (SGF) que consiste en una solución de HCl diluido al 37 % v/v a pH 1,0, que contiene 2 g/l de NaCl y 0,1 g/l de pepsina;

- (b) la velocidad de liberación del ingrediente activo es inversamente proporcional a la resistencia del coacervado de complejo proteína/polisacárido formado *in situ* tras la inmersión del sistema de suministro oral en el fluido gástrico;
- (c) el coacervado de complejo proteína/polisacárido formado *in situ* tras la inmersión del sistema de suministro oral en el SGF se caracteriza por la presencia de láminas beta intramoleculares, hélices alfa y/o estructuras desordenadas; o
- (d) cualquiera de sus combinaciones.
6. El sistema de suministro oral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que es:
- (i) un sistema de suministro oral de liberación retardada;
- (ii) un sistema de suministro oral de liberación prolongada;
- (iii) un sistema de suministro oral que proporciona una mayor protección gástrica al ingrediente activo tras la administración oral, en comparación con la administración de un ingrediente activo no formulado; o
- (iv) cualquiera de sus combinaciones.
7. El sistema de suministro oral de acuerdo con la reivindicación 6, en donde:
- (i) el sistema de suministro oral de liberación retardada retarda el tiempo requerido para que el 50 % del ingrediente activo se libere en al menos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 o 240 minutos, en comparación con un sistema de suministro oral correspondiente que carece del polvo de polisacárido;
- (ii) el sistema de suministro oral de liberación prolongada da como resultado la liberación del ingrediente activo durante un período de al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 o 18 horas; y/o
- (iii) el sistema de suministro oral proporciona una mayor protección gástrica al ingrediente activo en comparación con la administración de un ingrediente activo no formulado;
- tras la prueba de disolución que comprende la inmersión del sistema de suministro oral a 37 °C en SGF durante dos horas seguido de la inmersión en fluido intestinal simulado (SIF), en donde el SGF consiste en una solución de HCl diluido al 37 % v/v, pH 1,0, que contiene 2 g/l de NaCl y 0,1 g/l de pepsina, y el SIF consiste en una solución tampón de NaH₂PO₄ o KH₂PO₄ 50 mM a pH 6,9, que contiene 0,5 g/l de pancreatina.
8. El sistema de suministro oral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde
- (i) el polvo de proteína comprende o consiste en: proteínas naturales; proteínas de grado alimenticio y/o de grado farmacéutico; proteínas nativas; proteínas desnaturalizadas; proteínas químicamente no modificadas; proteínas químicamente modificadas; proteínas vegetales; proteínas animales; proteínas lácteas; proteínas de legumbres; proteína de frutas; proteína de cereales; o cualquier mezcla de estas;
- (ii) el polvo de polisacárido comprende o consiste en: polisacáridos naturales; polisacáridos de grado alimenticio y/o de grado farmacéutico; polisacáridos químicamente no modificados; polisacáridos químicamente modificados; polisacáridos vegetales; polisacáridos animales; polisacáridos que contienen grupos cargados negativamente/ácidos; carragenano; goma xantana; alginato; polvo de pectina; agar, gellan, goma guar, carboximetilcelulosa, goma garrofín, manano, glucomanano, hialuronano, goma de tamarindo, goma de semilla de psilio, goma de tara, goma de acacia, goma arábica, goma ghatti, goma de tragacanto, goma karaya, goma de cassia, goma ramsan, goma welan, goma de macrophomopsis, curdlán, pululano, fucoidano, o cualquier mezcla de estos; o
- (iii) el ingrediente activo es un suplemento dietético, un fármaco, un probiótico, una vitamina, un aminoácido, un extracto alimentario o un suplemento de hierbas.
9. El sistema de suministro oral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende además uno o más excipientes y/o aditivos nutraceuticamente o farmacéuticamente aceptables.
10. El sistema de suministro oral de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el aditivo es o comprende celulosa microcristalina, estearato de magnesio y/o dióxido de silicio.
11. El sistema de suministro oral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que es un comprimido o una cápsula.
12. El sistema de suministro oral de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el sistema de suministro oral no comprende un recubrimiento entérico.
13. Un proceso para preparar una forma farmacéutica oral sólida, el proceso comprende dispersar un ingrediente activo en una mezcla homogénea seca que comprende un polvo de proteína y un polvo de polisacárido, y formular la mezcla resultante en una forma farmacéutica oral sólida, el polvo de polisacárido tiene características de flujo de polvo que permiten la interacción con el polvo de proteína de manera que la inmersión de la forma farmacéutica oral sólida en un fluido gástrico da como resultado la formación de un coacervado de complejo proteína/polisacárido *in situ*, de esta manera se confiere protección gástrica y/o liberación modificada

al ingrediente activo, en donde el polvo de polisacárido tiene las características de flujo de polvo como se definen en la reivindicación 1.

14. El proceso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde la forma farmacéutica oral sólida es el sistema de suministro oral como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

15. El sistema de suministro oral como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o la forma farmacéutica oral producida mediante el proceso de acuerdo con la reivindicación 13 o 14, para el uso en terapia.

Figura 1

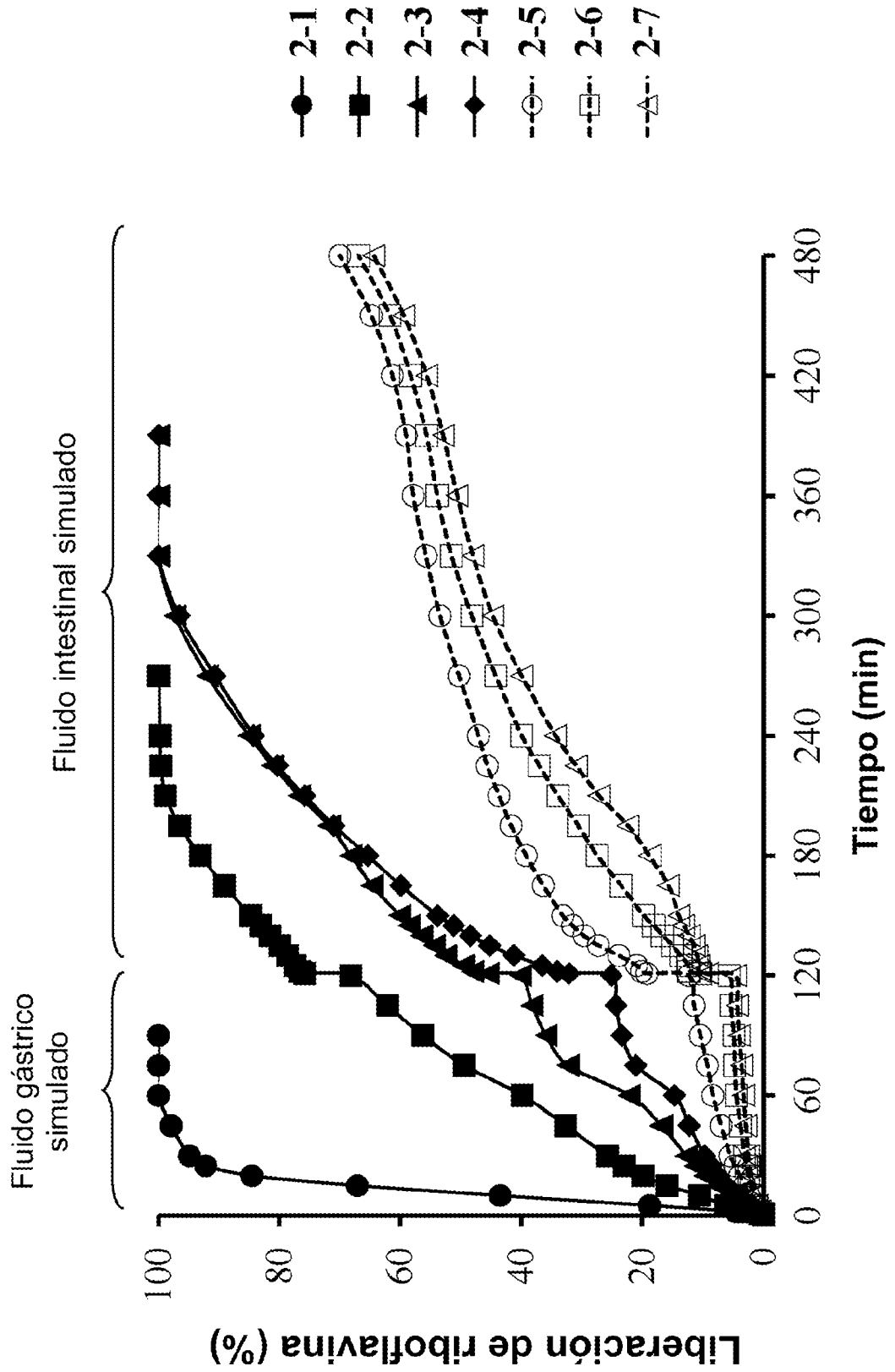
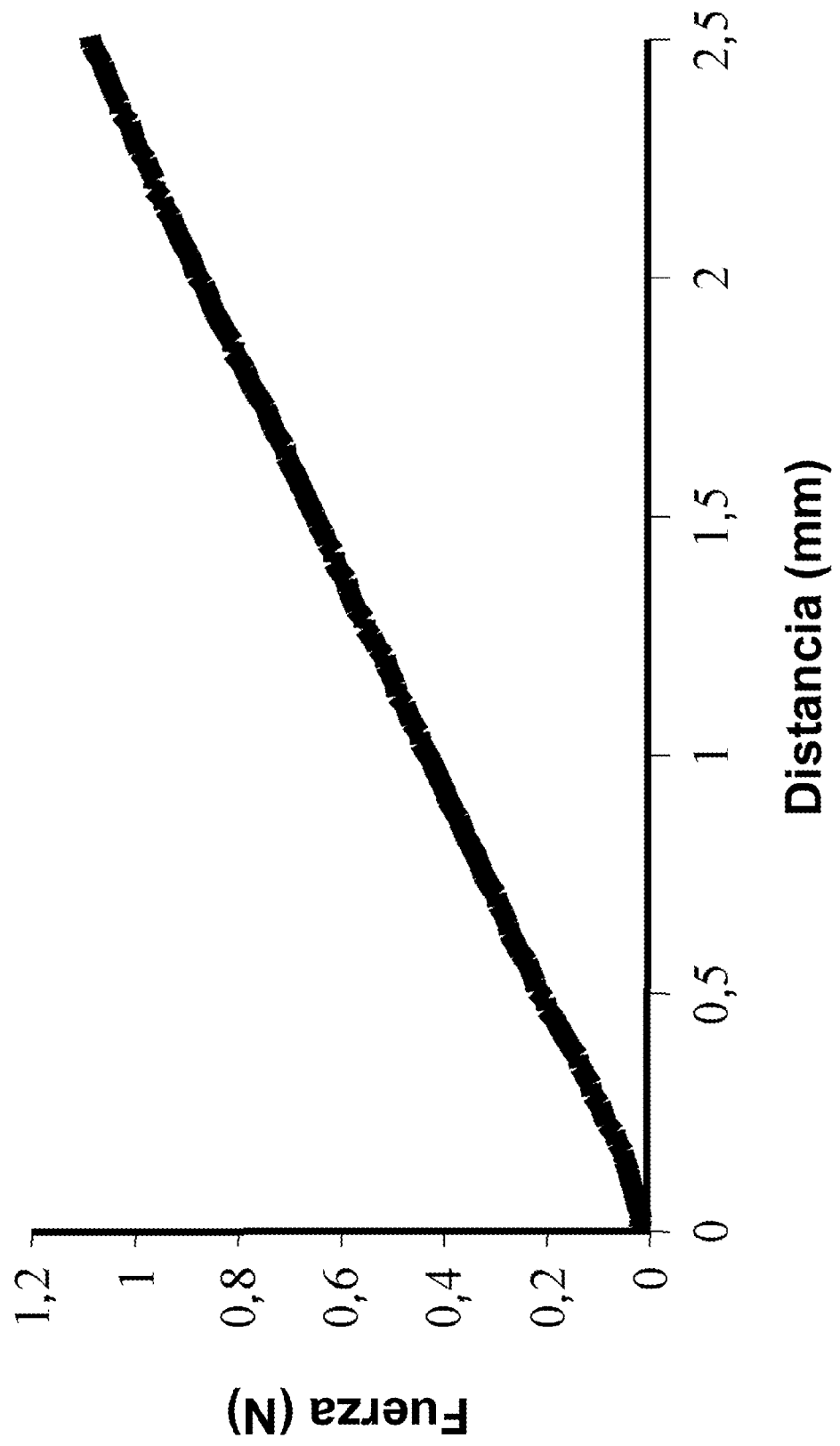


Figura 2



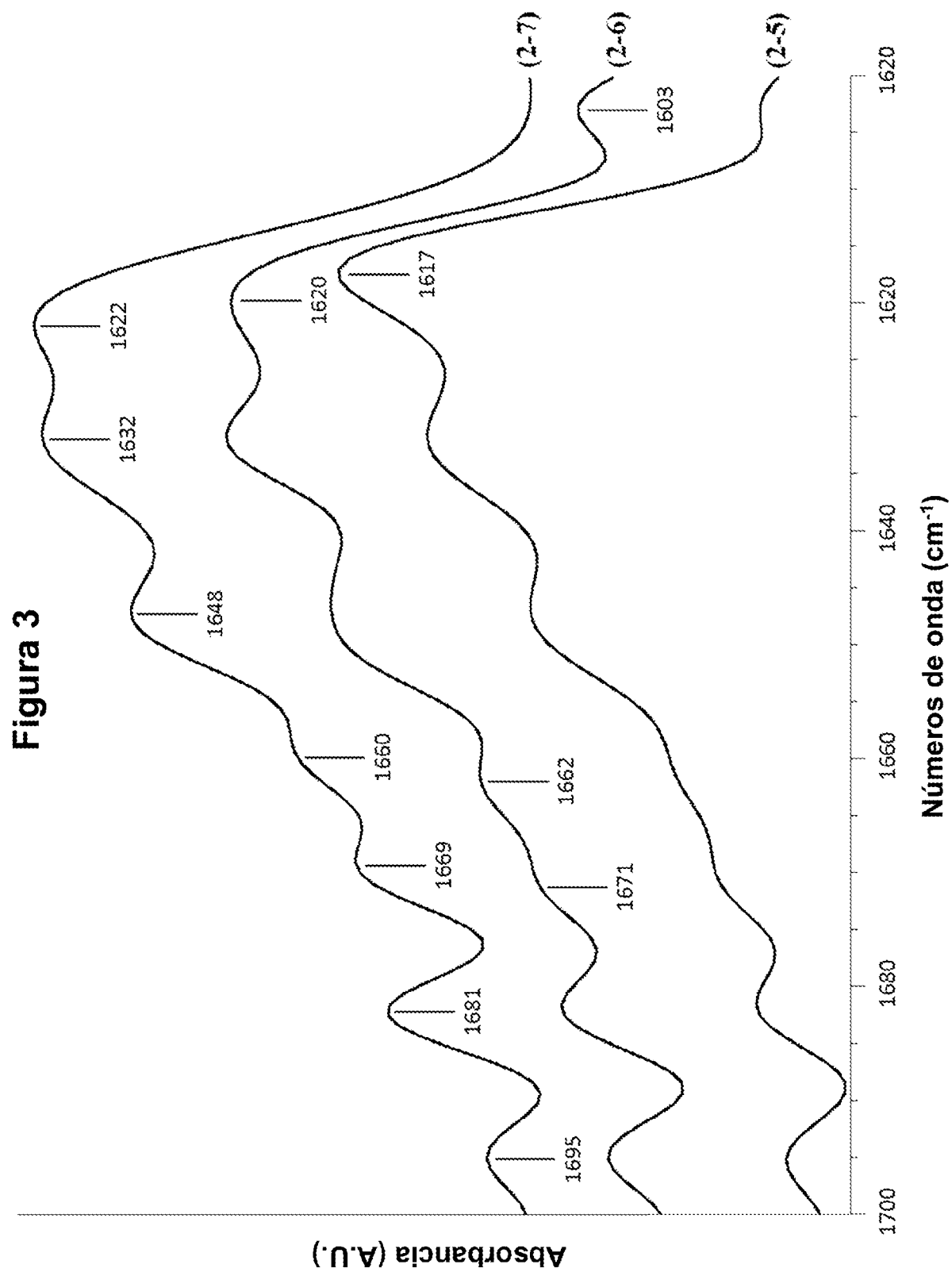


Figura 4

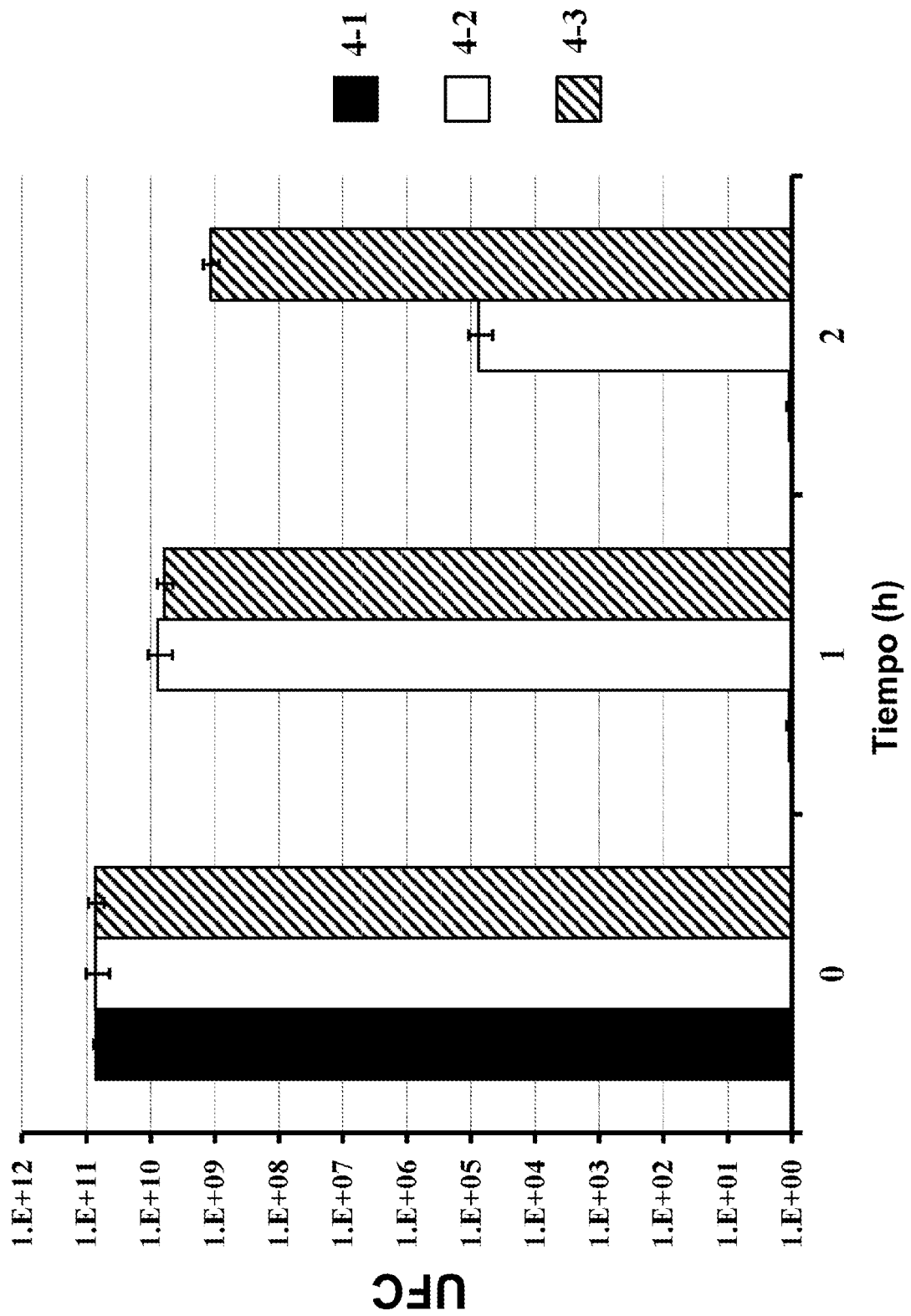


Figura 5

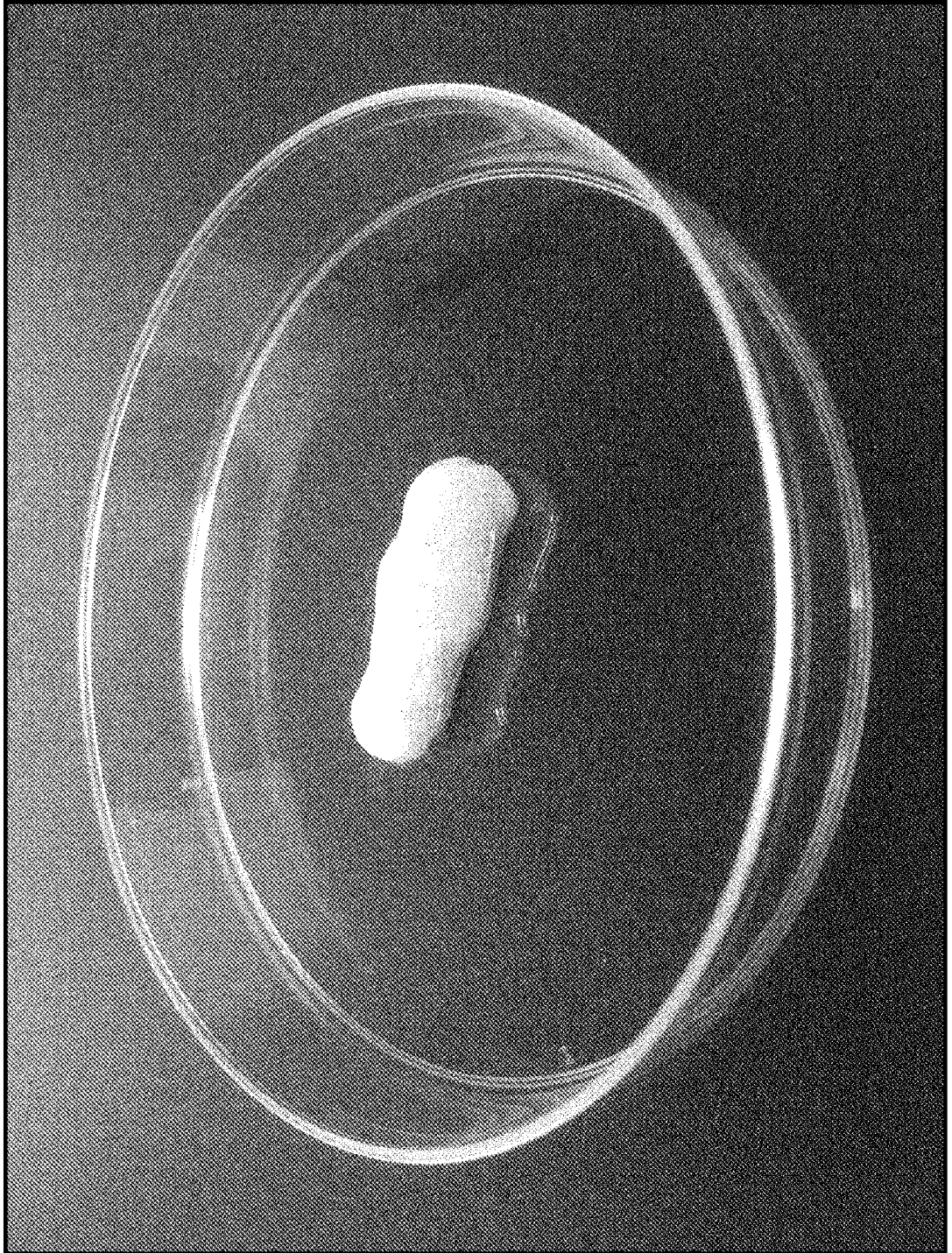


Figura 6

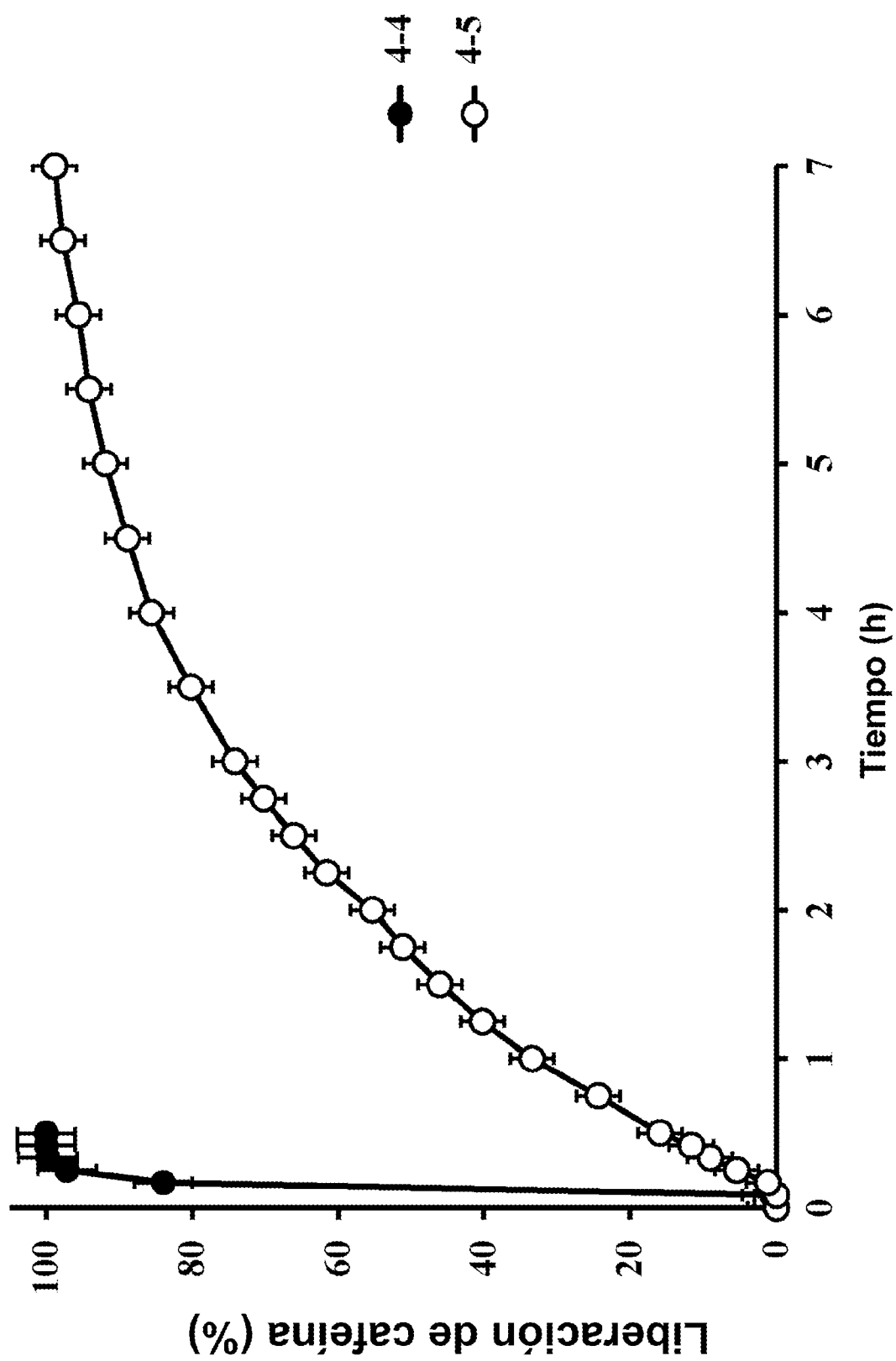


Figura 7

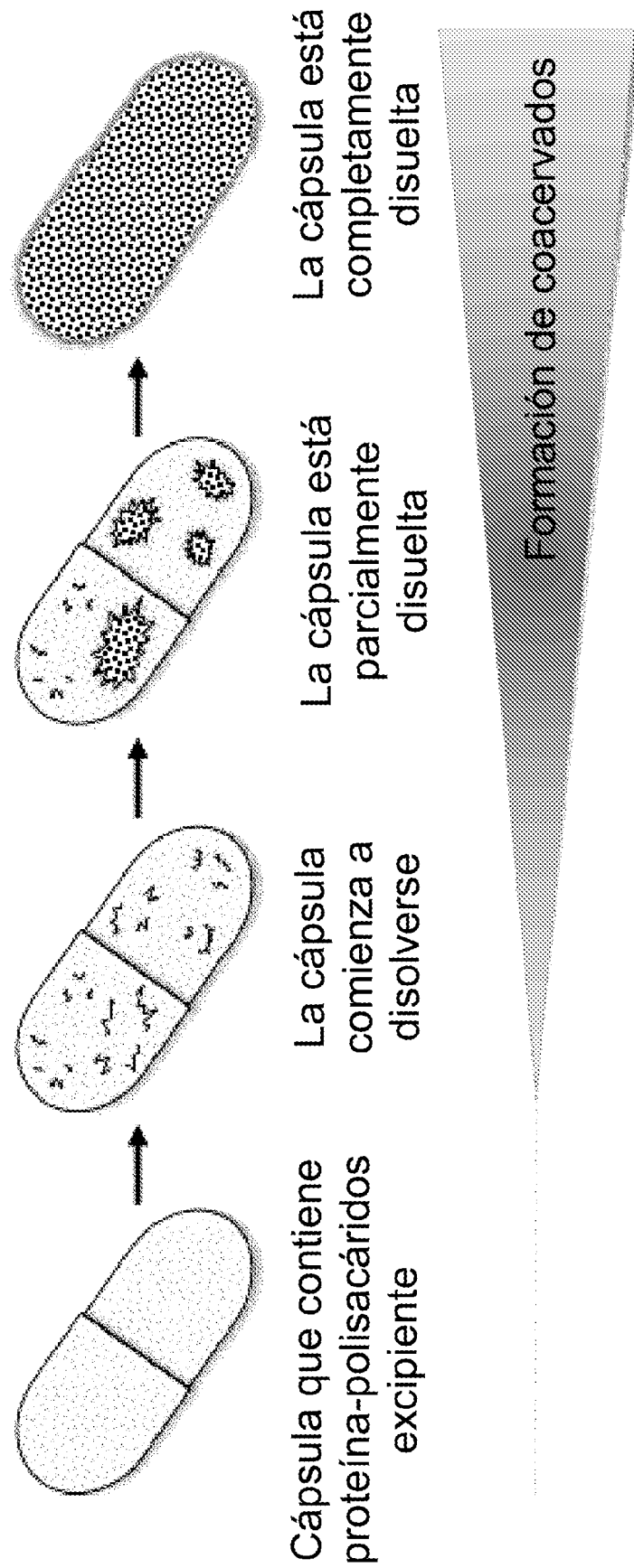


Figura 8A

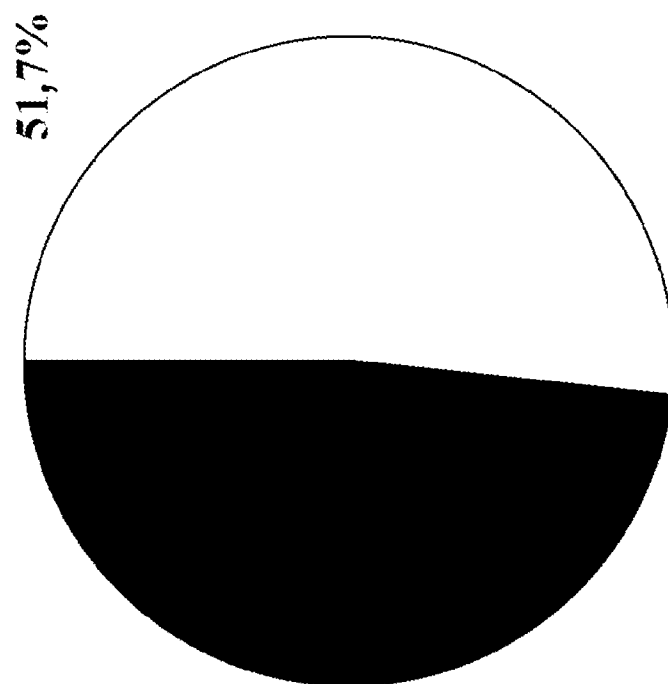


Figura 8B

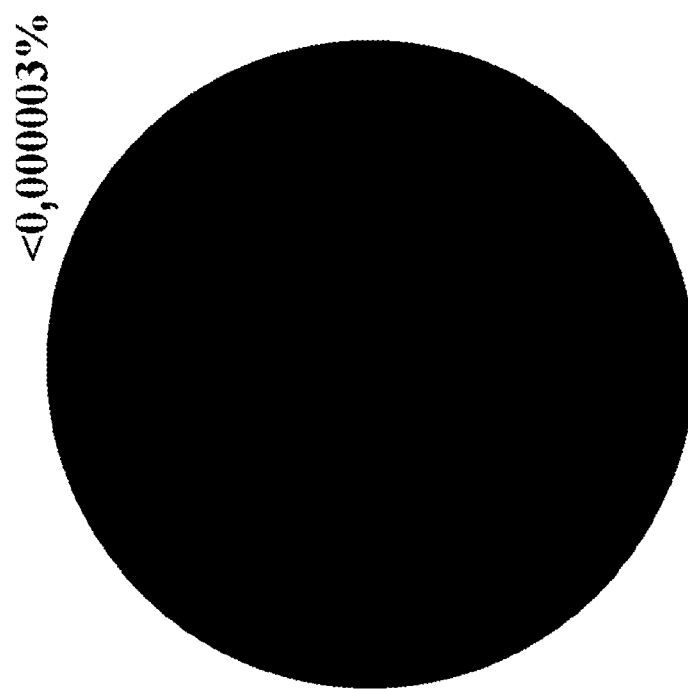


Figura 9

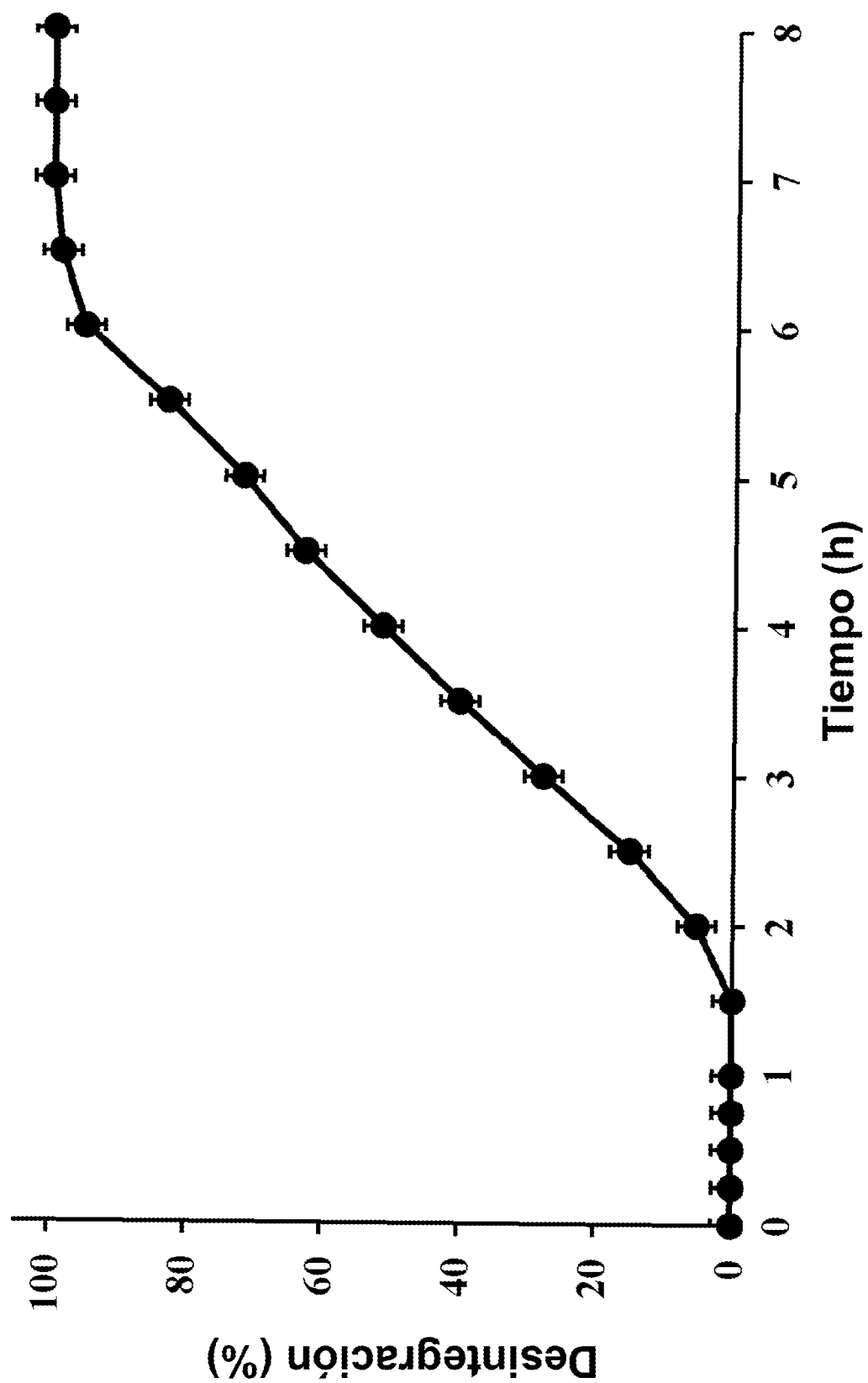


Figura 10

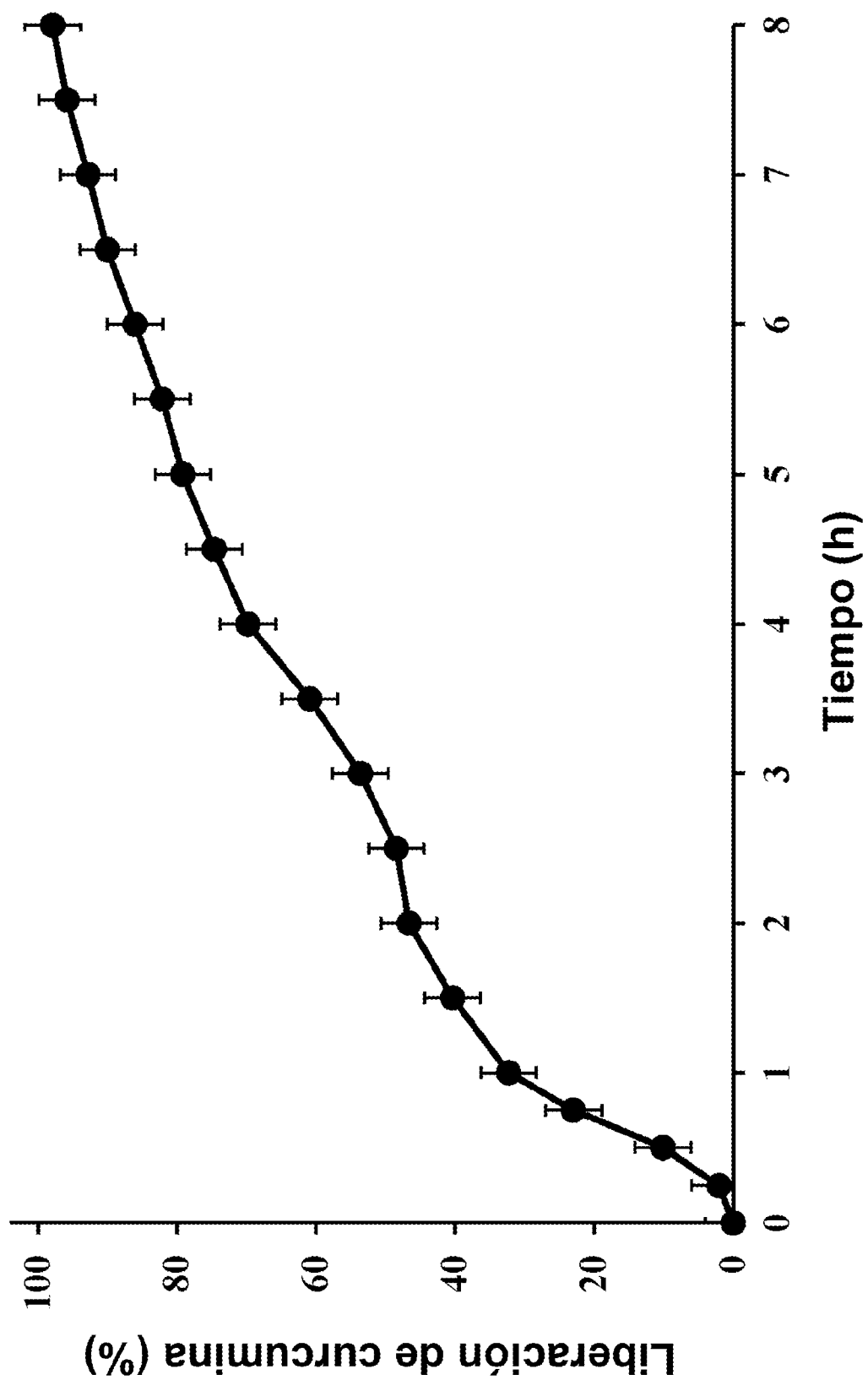


Figura 11

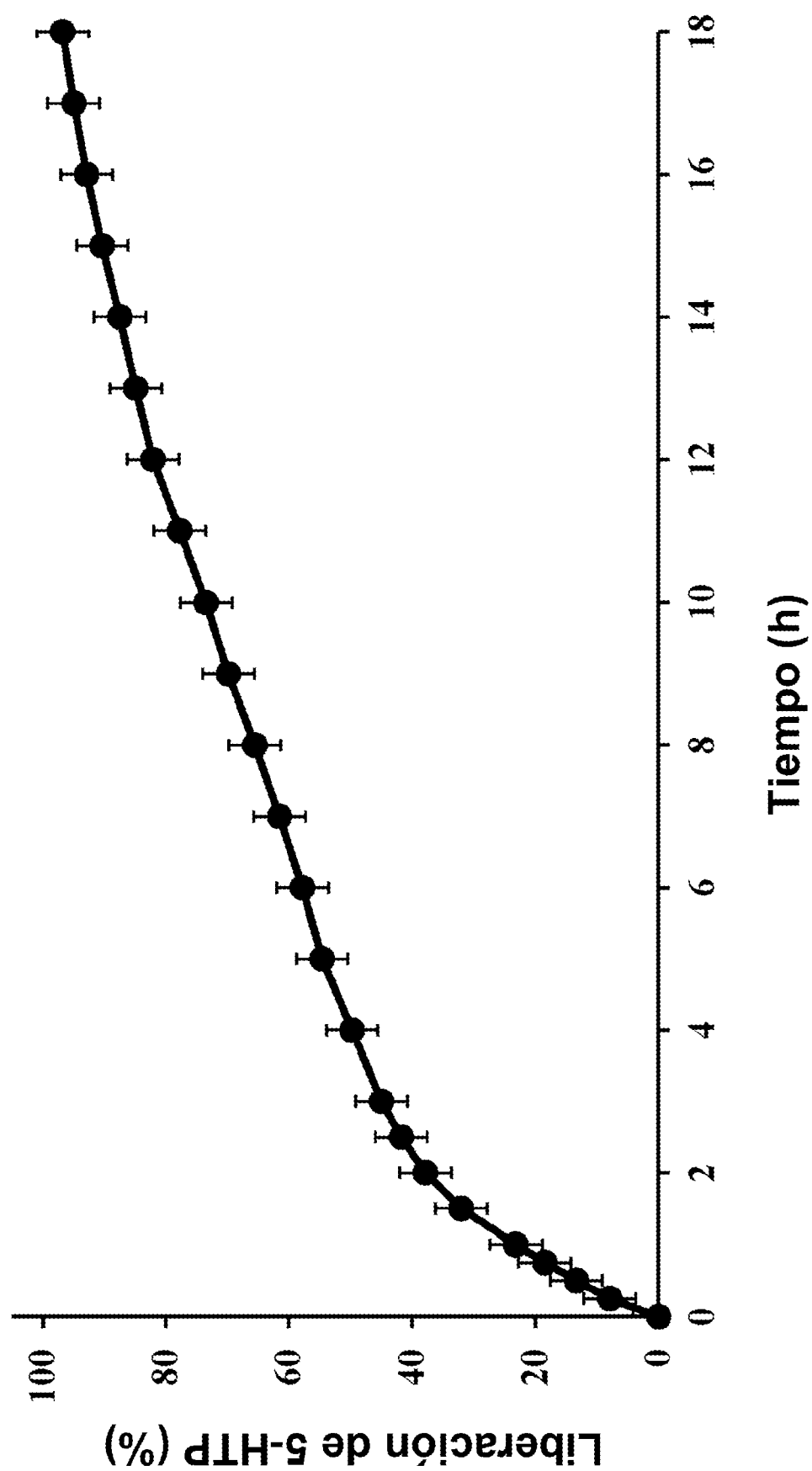


Figura 12

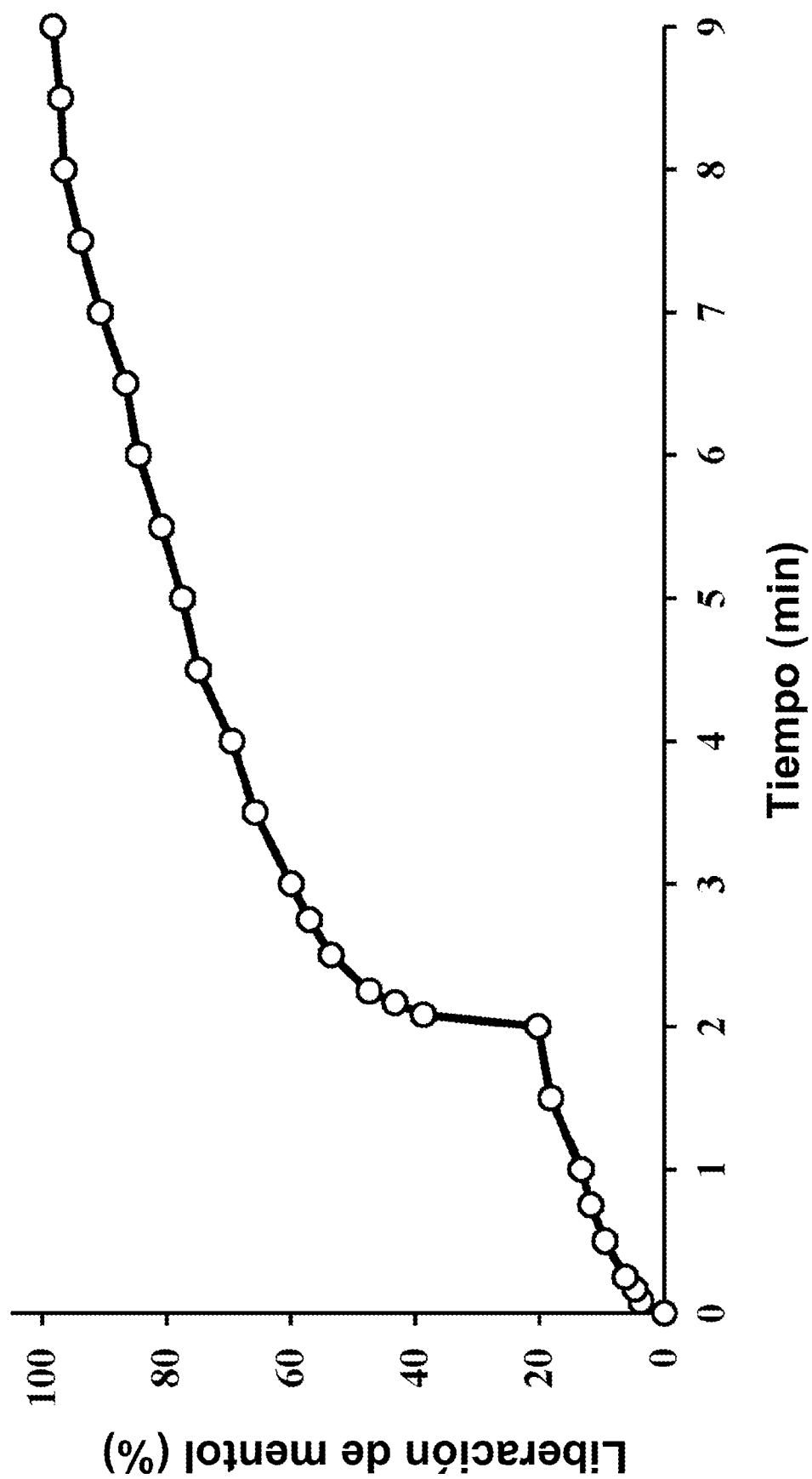


Figura 13

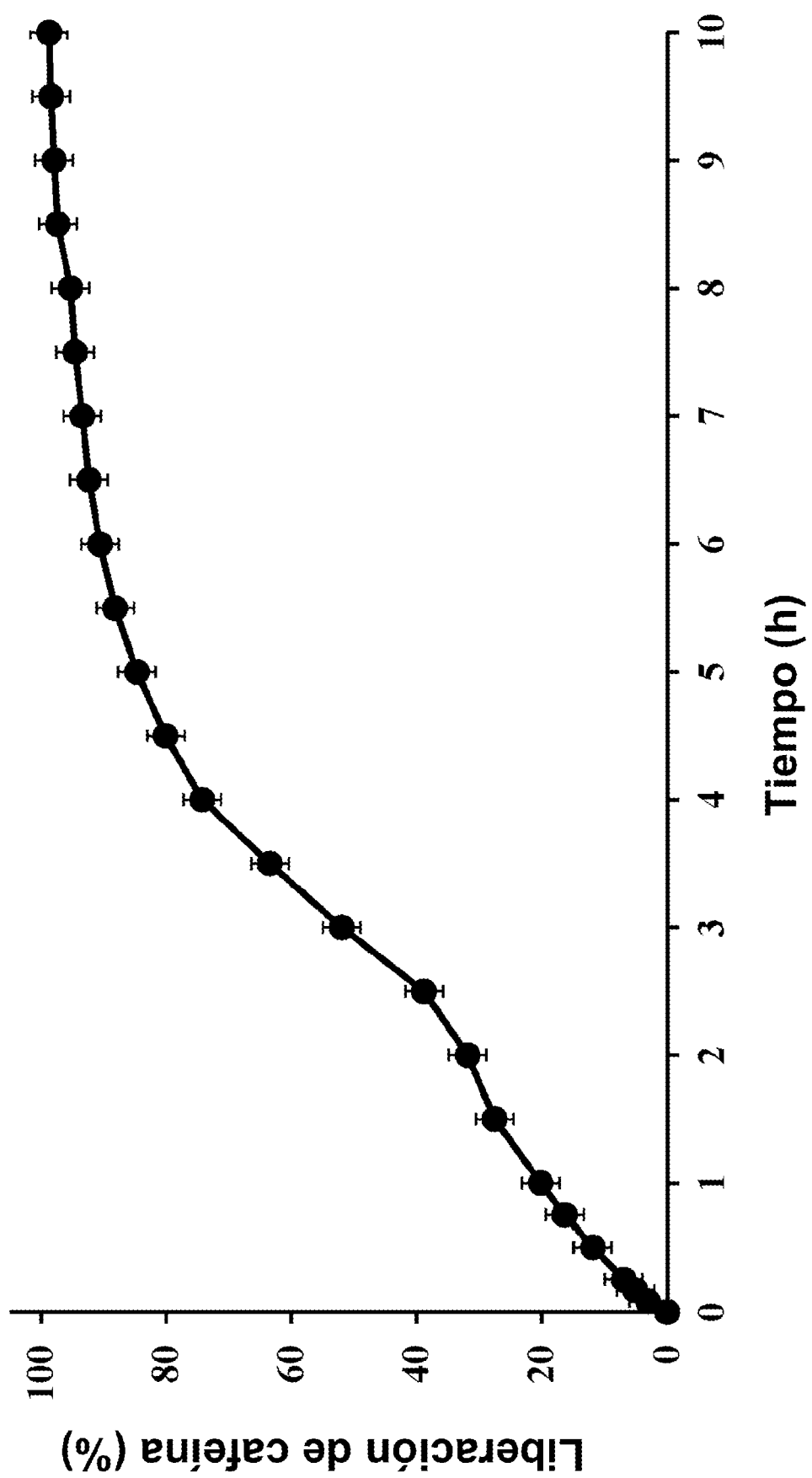


Figura 14

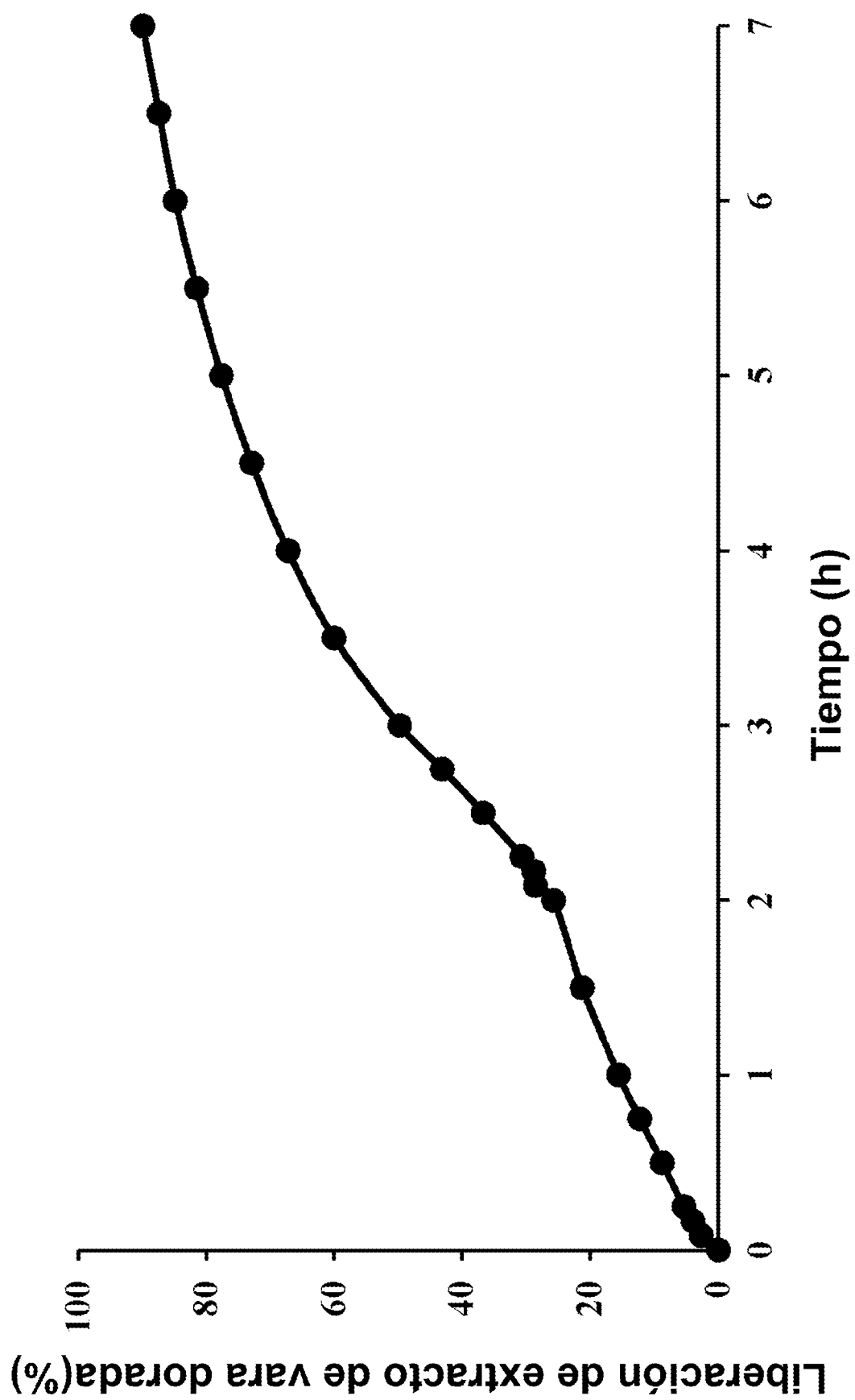


Figura 15A

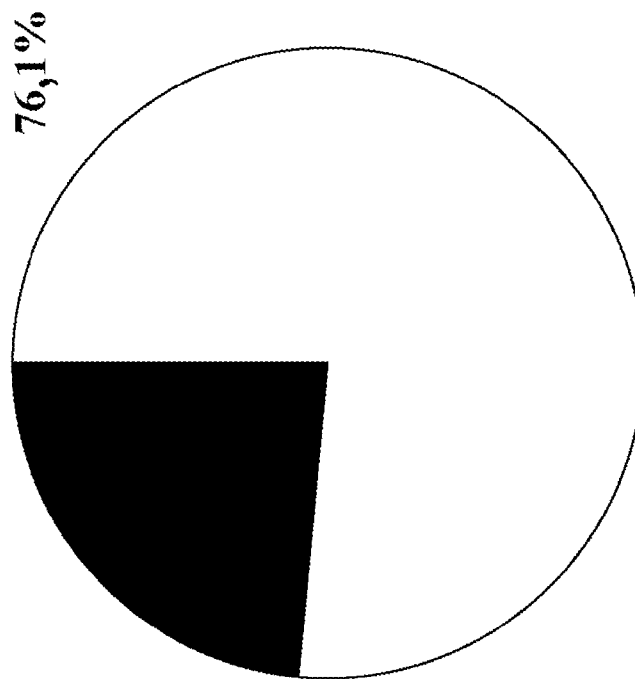


Figura 15B

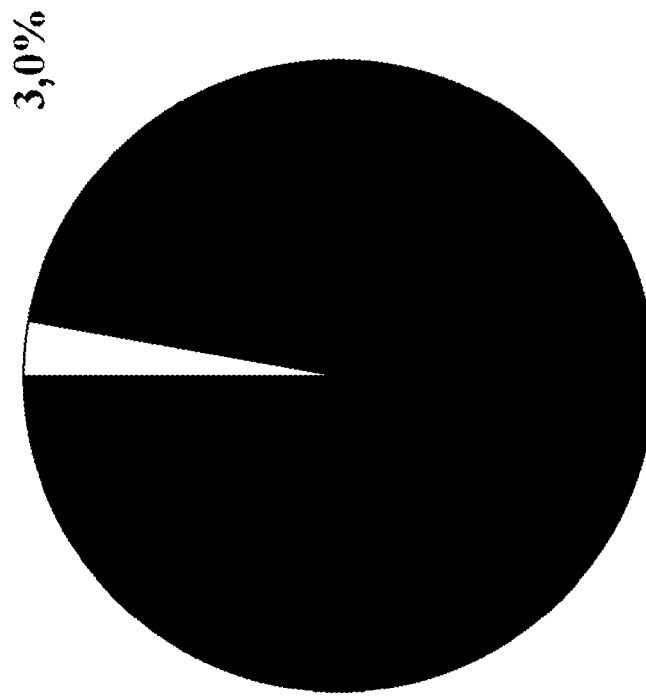


Figura 16

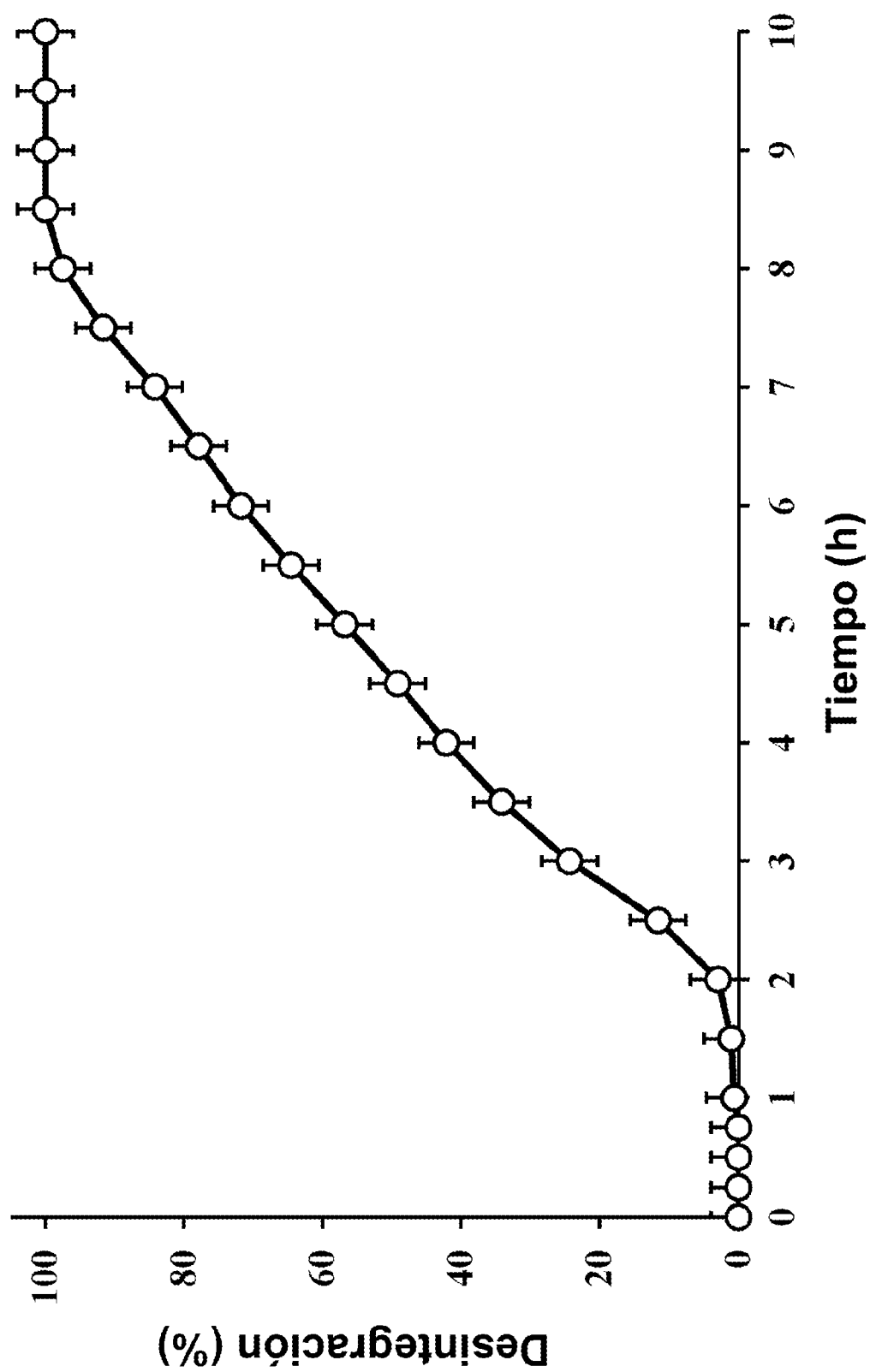


Figura 17

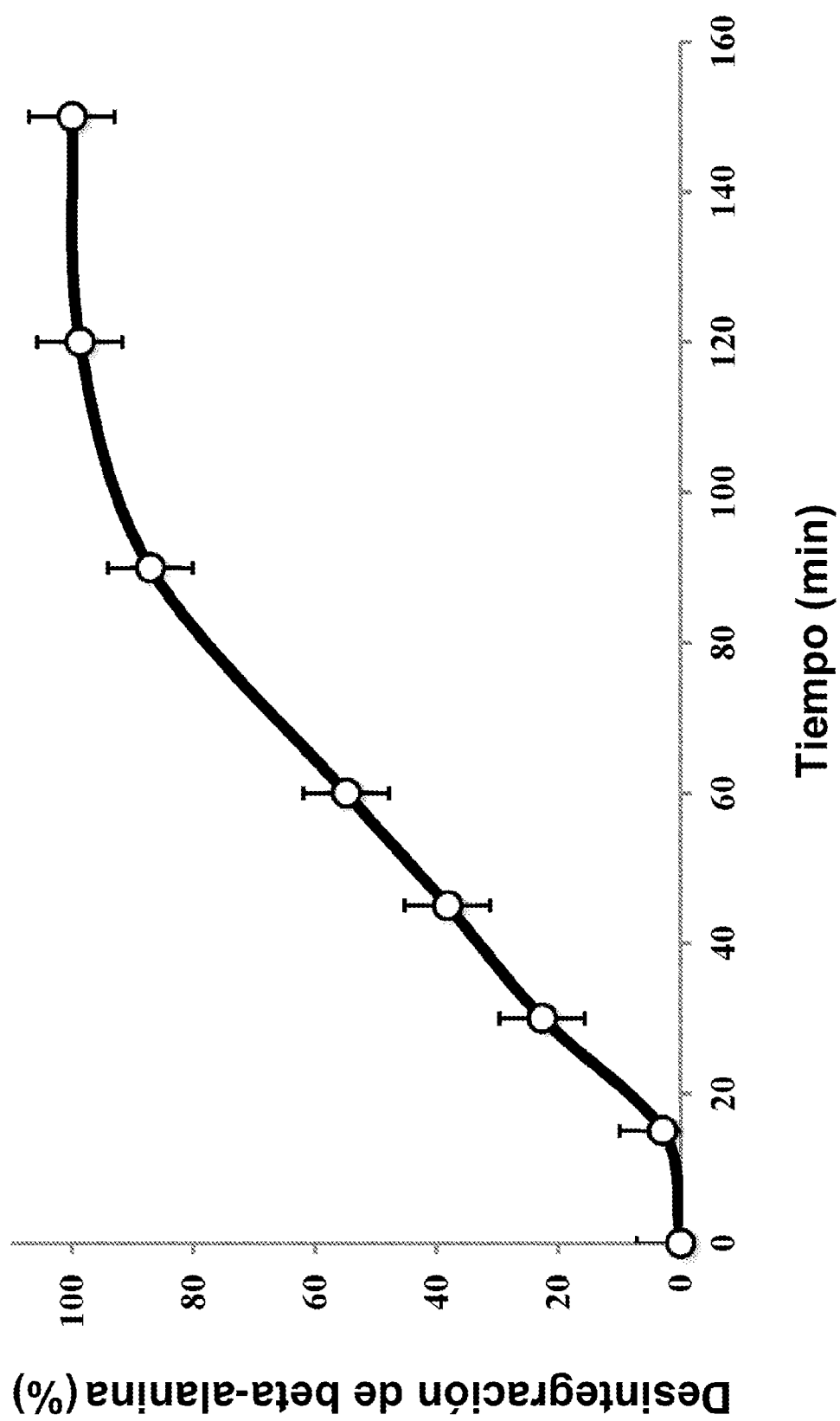


Figura 18

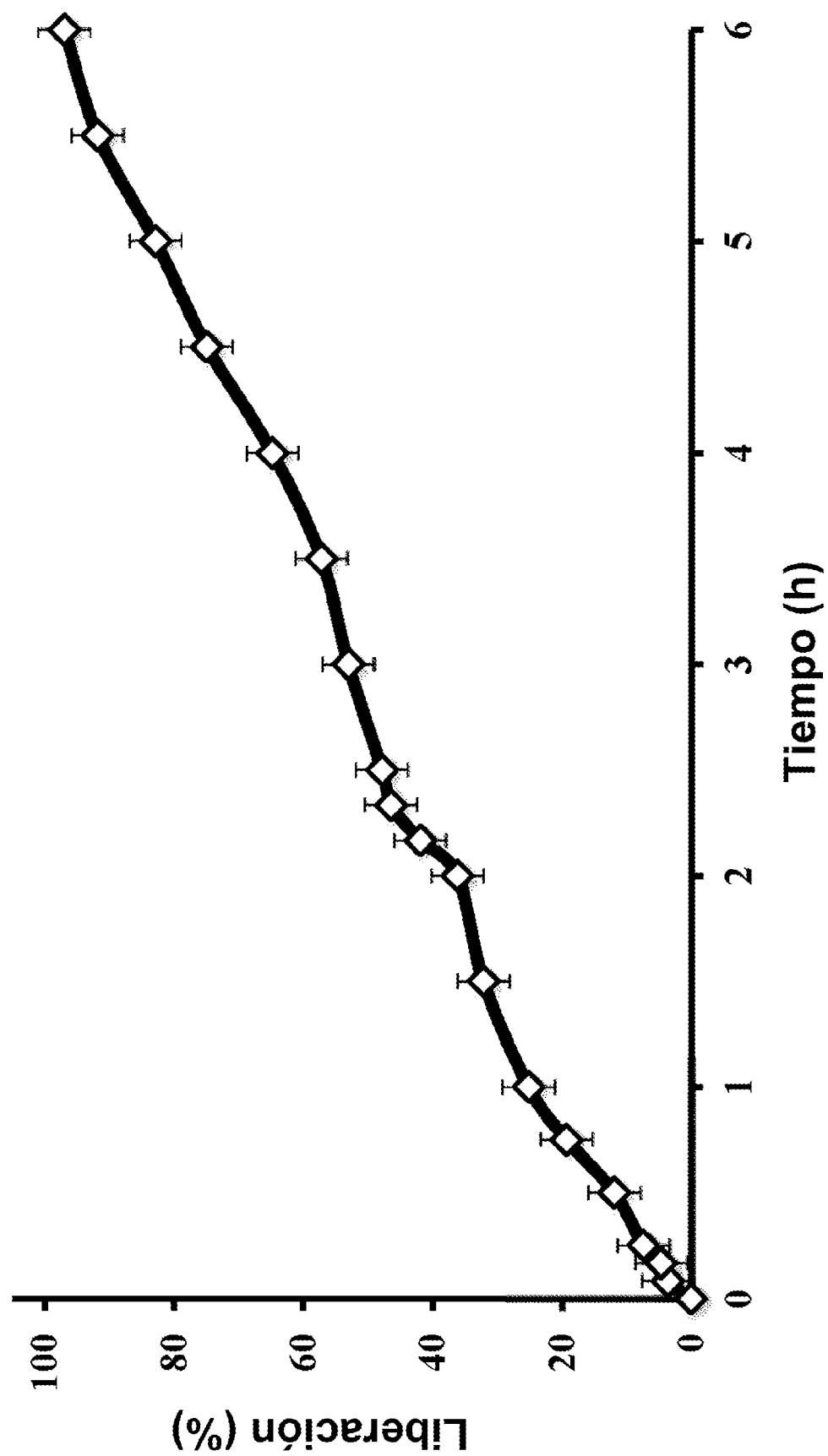


Figura 19

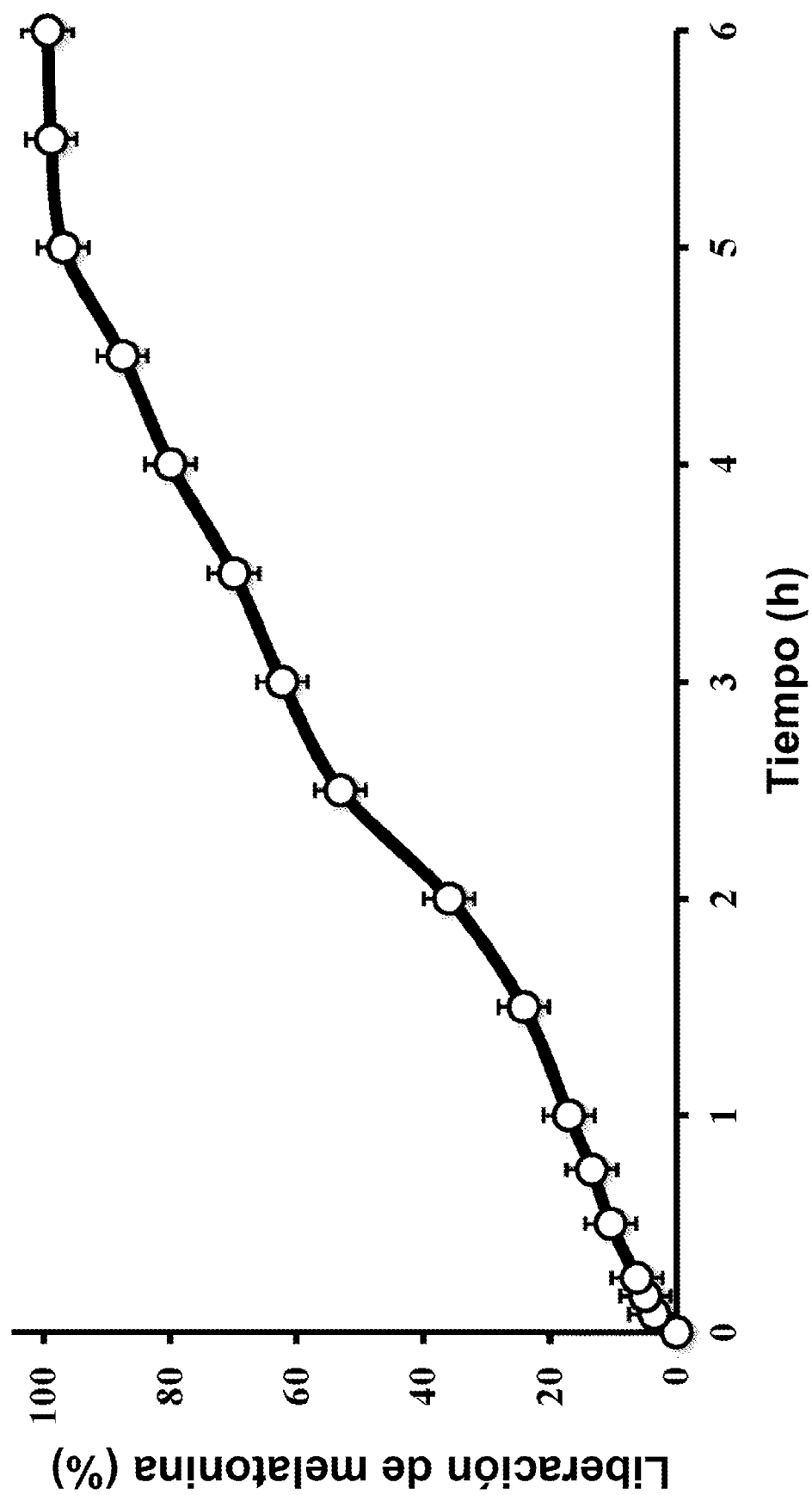


Figura 20

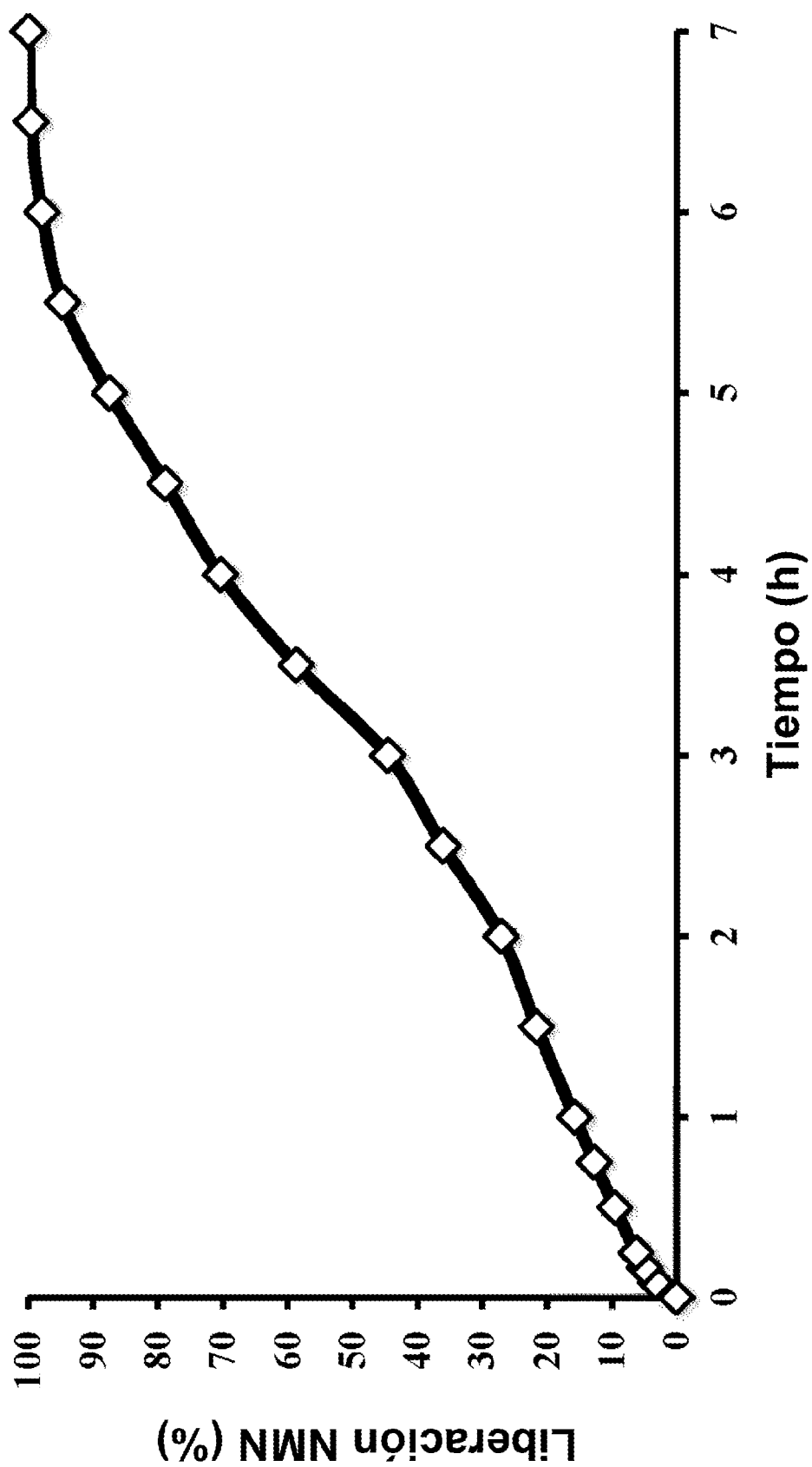


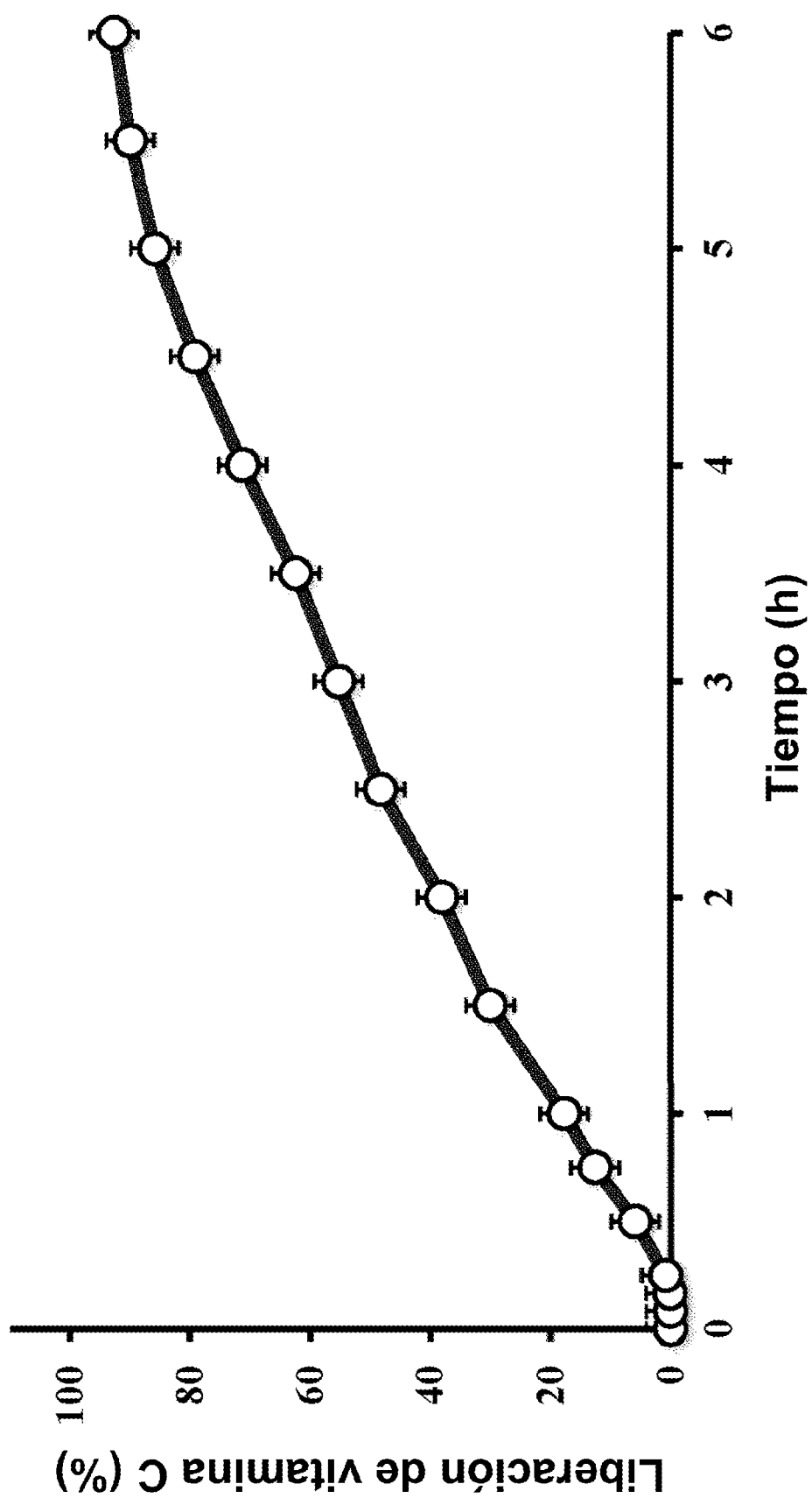
Figura 21

Figura 22

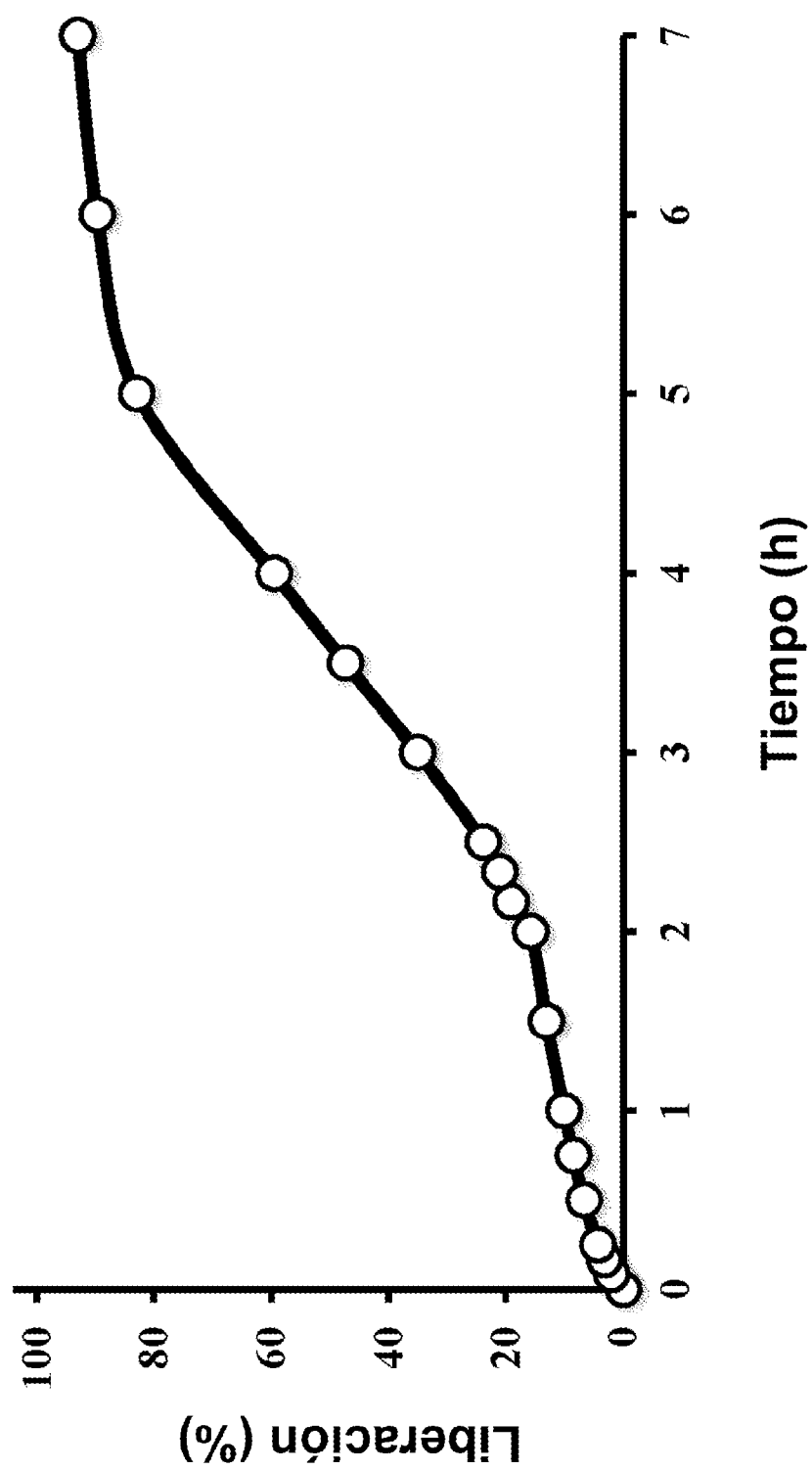


Figura 23

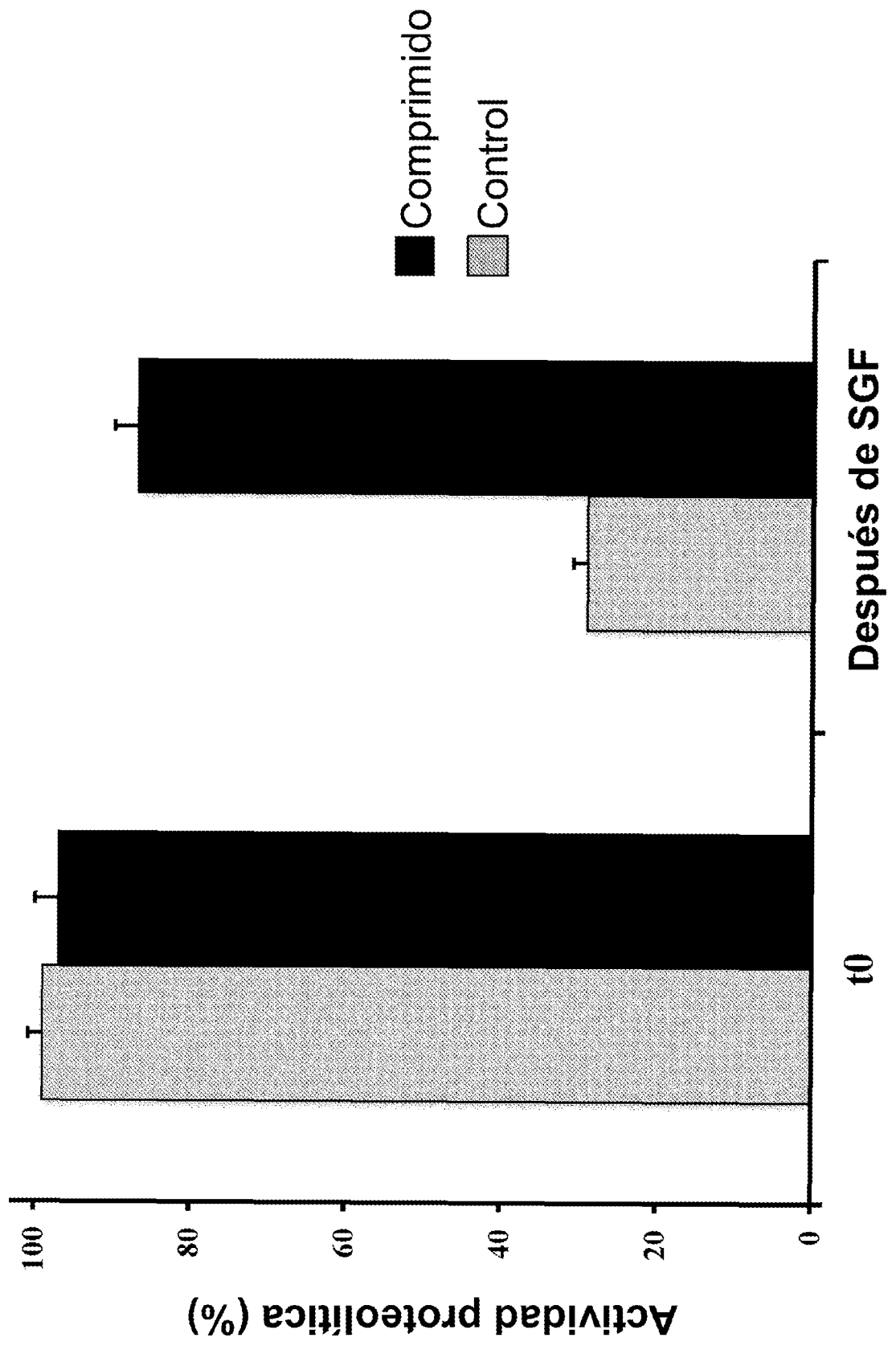


Figura 24

