

COMPRIMIDOS PROBIÓTICOS BICAPA DE DOBLE LIBERACIÓNREFERENCIA CRUZADA A LA SOLICITUD RELACIONADA

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud
5 de patente provisional 62/019,717, presentada el 01 de julio
2014, los contenidos de la cual se incorporan en la presente
en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCION

10 En general, la presente invención se relaciona con un
suplemento dietético y formulaciones farmacéuticas que
comprenden formulaciones de dosificación oral protectoras de
ácidos multi-capas y bi-capas, que comprenden probióticos y
se proporcionan como unidades de forma de dosificación
15 individuales unificadas o cohesivas. Cada capa protectora de
ácido individual de la forma de dosificación cohesiva
proporciona uno de una carga de probiótico diferente, un
perfil de liberación diferente para la liberación blanco del
probiótico a una región particular en el tracto
20 gastrointestinal, o ambas cargas diferentes de probióticos y
perfiles de liberación para la liberación blanco de
diferentes probióticos a determinadas regiones en el tracto
gastrointestinal.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las formas de dosificación de probióticos convencionales proporcionan un modo único o velocidad de liberación de la carga de probiótico contenido en la misma.

5 Varias formulaciones de probióticos y métodos de fabricación de tales formulaciones son conocidos por los experimentados en la técnica. Por ejemplo, las formulaciones probióticas de liberación controlada uniforme se describen en la Patente U.S. Nos. 8,540,980; 8,007,777; 7,150,623; y
10 6,627,220. Los contenidos de estas patentes se indican específicamente y se incorporan en esta descripción por referencia. Específicamente, la patente U.S. Nos. 8,540,980 y 8,007,777 se refieren a diversos polvos de pre-mezcla de probióticos usados para hacer diversas unidades de forma de
15 dosificación única uniforme que tienen liberación controlada o sostenida.

Los humanos y los animales que buscan el beneficio de la suplementación probiótica de microbios distintos localizados en diferentes regiones del tracto gastrointestinal usando las
20 formas de dosificación de probióticos convencionales deben: (1) ingerir formas de dosificación múltiples cada una específica para la liberación dirigida de cada microbio particular y región del tracto gastrointestinal de interés; o (2) tomar formas de dosificación simple ineficientes o menos
25 efectivas que proporcionan una liberación uniforme de los

distintos microbios. De esta manera, los inventores han determinado que, en ciertos casos, las formulaciones de forma de dosificación unitaria simples que incluyen una mezcla o combinación de varios probióticos, pueden resultar en una liberación ineficiente y menos efectiva de la carga de probiótico.

Las formas de dosificación de carga de probiótico heterogéneas combinadas o mezcladas uniformes pueden resultar en la liberación ineficiente, por ejemplo, cuando ciertos microbios mejor adaptados para su liberación al tracto gastrointestinal superior en vez de esto se liberan en su totalidad o en parte al tracto gastrointestinal inferior; mientras tanto, algunos otros microbios mejor apropiados para la liberación en el tracto gastrointestinal inferior pueden liberarse en su totalidad o en parte al tracto gastrointestinal superior.

Existe una necesidad de una unidad de forma de dosificación que proporciona la formulación separada y liberación de distintos probióticos. Además, existe una necesidad de una forma de dosificación de protección de ácido en capas, cohesiva, simple para proporcionar velocidades de liberación variadas y la liberación dirigida de los probióticos adecuados a distintas regiones del tracto gastrointestinal, tales como, por ejemplo el tracto gastrointestinal superior y el tracto gastrointestinal

inferior.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los inventores han desarrollado por primera vez
5 formulaciones de dosificación oral de protección de ácido y
cohesivas que comprenden distintos probióticos en las
diferentes capas, en donde cada capa tiene la misma o una
velocidad de liberación diferente. Las formulaciones de
dosificación oral en capas de la invención pueden realizar la
10 liberación dirigida de los distintos probióticos en
diferentes sitios en el tracto gastrointestinal, por ejemplo,
el tracto gastrointestinal superior, tales como la boca,
esófago, estómago, duodeno, yeyuno e íleo proximal y también
el tracto gastrointestinal inferior, tal como el íleo distal,
15 colon y el ano, para lograr el máximo efecto.

Las formulaciones de la presente invención se pueden
usar para llevar a cabo la liberación de probióticos
inmediata, sostenida, controlada, intermitente, pulsada y/o
dirigida a varios sitios dentro del tracto gastrointestinal,
20 liberando de esta manera los probióticos dirigidos durante
cualquier periodo de tiempo inmediato, intervalo, pulsado y/o
sostenido. Los inventores de la presente invención, por
primera vez, se han dado cuenta y han hecho posible la
combinación de varios polvos de pre-mezcla de probióticos
25 protectores de ácidos en capas separadas para lograr la

liberación de formulaciones de diferentes probióticos juntos en una unidad de forma de dosificación protectora de ácido unificada o cohesiva simple. También, los inventores de la presente invención, por primera vez, se han dado cuenta y
5 hecho posible la combinación de varios polvos de pre-mezcla probióticos protectores de ácidos en capas separadas para lograr la liberación de formulaciones probióticas diferentes que tienen perfiles de liberación diferentes en una forma de dosificación protector de ácido unificada y cohesiva simple.

10 Cada capa de la formulación de protección de ácido puede contener un probiótico o mezcla de probióticos diferente, distinguible en uno o más del género, especie, subespecie y el nivel de cepa. Cada capa puede caracterizarse como inmediata o por tener cualquiera de los diversos niveles de
15 liberación pulsada, sostenida, prolongada o controlada. Cada capa puede ser de un tamaño diferente, o comprender una porción mayor de la forma de dosificación final, con relación a una o más de las otras capas. Los inventores de la presente invención encontraron que la cohesión de la unidad de la
20 forma de dosificación entre las formas de dosificación protectoras de ácido multicapa o bi-capa de la presente invención se optimiza preferentemente incluyendo cantidades similares o idénticas de uno o más excipientes similares o idénticos en cada capa de la forma de dosificación. De esta
25 manera, en las modalidades preferidas de la presente

invención, ciertos componentes de la formulación se comparten a través de las diversas formulaciones de capa.

Las formas de dosificación de la presente invención son el ácido protector, pero cada capa puede incluir diferentes
5 niveles de protección de ácido. Los distintos niveles de protección de ácido pueden facilitar la personalización de los perfiles de liberación de la capa para la liberación dirigida de la carga de probiótico.

Las modalidades preferidas de la presente invención no
10 incluyen ningún recubrimiento entérico. Debido a que los recubrimientos entéricos no son necesarios para obtener los beneficios de la presente invención, las formas de dosificación descritas en la presente evitan la complejidad de fabricación adicional y los gastos asociados con la
15 inclusión de tal recubrimiento entérico. En cualquier caso, las formulaciones de la presente invención pueden incluir un recubrimiento entérico, pero el recubrimiento entérico no es necesario.

Las formulaciones de la presente invención se pueden
20 usar para proteger los probióticos del ambiente ácido severo del estómago.

Las formulaciones de la presente invención se pueden formar en comprimidos estratificados o Caplets (marca registrada), o formas de dosificación similares, a través de
25 compresión directa. Cada capa de las formulaciones de la

presente invención puede comprender un material en polvo
suelto o mezclado antes de la compresión. Al final de la
compresión, las modalidades de la presente invención forman
ventajosamente unidades de forma de dosificación no friable,
5 cohesiva en capas individuales resistentes a la separación de
capas. Cada capa de formulación de la presente invención se
puede comprimir primero separadamente, o pre-comprimirse, y
luego se comprime nuevamente junto con una o más capas
adicionales. Alternativamente, las capas de formulación
10 pueden comprimirse juntas en una sola compresión. Pueden
usarse varias presiones de compresión o compactación con
respecto a la compresión de cada una de las capas y/o la
formulación total. Los procesos descritos en la presente son
sólo ejemplos, y no constituyen una lista exclusiva de los
15 procesos que pueden usarse para hacer la invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las Figuras 1A, 1B, 1C y 1D muestran imágenes de
evaluación de liberación sostenida de los comprimidos bicapa
20 producidos de acuerdo con la presente invención a cero, tres,
seis o nueve horas, respectivamente, después de la exposición
al ácido (aparato USP Tipo 2, pH 2.5 a 37°C con agitación con
paletas ajustado a 50 RPM), seguido por la disolución
continua en una solución neutra.

25 La Figura 2 muestra los efectos de los agentes

hidrofílicos en la liberación controlada de microorganismos
benéficos viables en el intestino delgado a partir de una
formulación de la técnica anterior que podría ser recién
adaptada y usarse para formar un lado de una forma de
5 dosificación de dos capas.

La Figura 3 muestra los efectos de la adición de agentes
electrolíticos sobre la liberación controlada de
microorganismos benéficos viables en el intestino delgado a
partir de una formulación de la técnica anterior que podría
10 ser recién adaptada y usarse para formar un lado de una forma
de dosificación de dos capas.

La Figura 4 muestra los efectos de la adición de agentes
sensibles al pH y enzimas en la liberación controlada de
microorganismos benéficos viables en el intestino delgado a
15 partir de una formulación de la técnica anterior que podría
ser recién adaptada y usarse para formar un lado de una forma
de dosificación de dos capas.

La Figura 5 muestra la capacidad para la liberación
controlada de microorganismos benéficos viables sobre
20 duraciones extendidas de una formulación de la técnica
anterior que podría ser recién adaptada y usarse para formar
un lado de una forma de dosificación de dos capas.

La Figura 6 muestra la liberación controlada de
microorganismos benéficos específicos para el tracto
25 intestinal inferior durante una duración prolongada de 12

horas a partir de una formulación de la técnica anterior que podría ser recién adaptada y usarse para formar un lado de una forma de dosificación de dos capas.

La Figura 7 muestra la capacidad para controlar la
5 escalabilidad geométrica, el tamaño del comprimido y la
variación de la forma en la presente invención y el efecto de
tales cambios en la liberación controlada de microorganismos
benéficos viables en el intestino delgado a partir de una
formulación de la técnica anterior que podría ser recién
10 adaptada y usarse para formar un lado de una forma de
dosificación de dos capas.

La Figura 8 muestra los efectos del secado de los
agentes antes del tableteado (formación de comprimidos) en la
liberación controlada de microorganismos benéficos viables en
15 el intestino delgado a partir de una formulación de la
técnica anterior que podría ser recién adaptada y usarse para
formar un lado de una forma de dosificación de dos capas.

La Figura 9 muestra los efectos de una matriz
hidrofílica que emplea agentes hidrofílicos de diferentes
20 viscosidades en la liberación controlada de microorganismos
benéficos viables en el intestino delgado a partir de una
formulación de la técnica anterior que podría ser recién
adaptada y usarse para formar un lado de una forma de
dosificación de dos capas.

25 La Figura 10 muestra los efectos de los agentes

electrolíticos fisiológicamente aceptables en la estabilidad de una formulación de la técnica anterior que podría ser recién adaptada y usarse para formar un lado de una forma de dosificación de dos capas.

5

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

1. Componentes de formulación

Los probióticos de la presente invención incluyen, por ejemplo y sin limitación, miembros del género *Lactobacillus*,
10 *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*,
Pediococcus, *Bacterioides* u otros organismos que se encuentra que tienen efecto probiótico, o porciones, fragmentos, componentes, proteínas o subproductos de tales organismos. Específicamente cultivos de *Bifidobacterium animalis*
15 subespecie *lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum* (por ejemplo, fabricado por DANISCO® códigos de artículos del vendedor 1217794 y 1244824, nombres de marcas BI-05 100B 1KG, BI-05 100B 20 kg, conteo de probiótico viable $\geq 1.0E+11$
20 CFU/g; *Bifidobacterium longum* B1-05 SD-5588), *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei* subespecies *casei*, *Lactobacillus casei* subespecie *rhamnosus*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus fermentum* (por
25 ejemplo, fabricado por NUTRACEUTIX®, conteo de probiótico

viable $\geq 5.0E+10$ CFU/g, incluyendo el material de fuente no de GMO, incluyendo SD-5847), *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus*
5 *salivarius*, *Lactococcus lactis* subespecie *lactis*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus thermophilus*, *Saccharomyces boulardii* y varios organismos del suelo modificados. Los probióticos de la presente invención pueden incluir microorganismos que no se encuentran en la
10 naturaleza o probióticos de otro modo alterados para incluir un material genético o químico exterior, incluyendo ADN recombinante. Los probióticos de la presente invención también incluyen enzimas probióticas producidas, o derivadas o aisladas de bacterias, y otros subproductos probióticos,
15 incluyendo, por ejemplo, superóxido dismutasa (SodA). Los probióticos de la presente invención también pueden incluir, opcionalmente células no viables o componentes o fragmentos de las mismas.

Cada capa de la formulación puede contener un probiótico
20 diferente o mezcla de probióticos, distinguibles en uno o más de género, especie, subespecie y el nivel de cepa.

Las formulaciones de acuerdo con la presente invención incluyen uno o más componentes que protegen la carga de probiótico de los efectos perjudiciales de ácido estomacal.
25 Tales componentes incluyen, por ejemplo, carbonato de sodio,

bicarbonato de sodio y fosfato de sodio.

Los componentes adicionales de las formulaciones de probióticos incluyen agentes hidrofílicos, tales como, por ejemplo, hinchazón, aumento de la viscosidad, agentes
5 potenciadores de la concentración de gel. Los agentes hidrofílicos pueden seleccionarse de un grupo que comprende, por ejemplo: almidones (por ejemplo, maíz, arroz o almidón de papa), goma hidrofílica, polisacárido o galactomanano (por ejemplo, pectina, agar, dextrano, carragenina, goma de
10 tragacanto, goma de algarroba, goma de acacia, goma guar, goma xantana, goma ghatti, ácido algínico o alginato de sodio), derivado de celulosa (por ejemplo, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, almidón glicolato de sodio, carboximetilcelulosa sódica o de calcio,
15 hidroxietilmetilcelulosa, etilhidroxi etilcelulosa, etilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, ftalato de acetato de celulosa o celulosa microcristalina), sílice (por ejemplo, dióxido de silicio, nombre comercial PRIOSIL PS-200, fabricado por Glassven; CAS # 7631-86-9), silicato de
20 aluminio, silicato de magnesio, silicato de magnesio aluminio, silicato de sodio o feldespato, hidróxido de aluminio, proteína (por ejemplo, gelatina o caseína), polímeros (por ejemplo, acrilato, carboxipolimetileno, un polialquilenglicol o polivinilpirrolidona), polímeros
25 hidrofílicos (por ejemplo, derivados de celulosa, tales como

celulosa microcristalina (MCC)) (por ejemplo, CAS # 9004-34-6; celulosa microcristalina MCC 112 fabricada por Accent Microcell Private Ltd.; el material puede proceder de pulpa de madera, e incluye fuentes no de GMO),
5 hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) (también conocida como hipromelosa) (por ejemplo, METHOCEL® K100 PREMIUM fabricado por THE DOW CHEMICAL COMPANY; el material puede proceder de pulpa de madera y borra de algodón; CAS # 9004-65-3) o hidroxipropilcelulosa (HPC), o gomas y polisacáridos, tales
10 como goma guar o maltodextrina. También pueden usarse materiales de combinación, tales como, por ejemplo, AVICEL® CE-15 (MCC) y goma guar fabricados por FMC Biopolymer, en donde cada componente se obtiene de pulpa de madera y fuentes vegetales, respectivamente, e incluyen
15 fuentes no modificadas genéticamente; (CAS # 9004-34-6 y CAS # 9004-30-0).

También pueden usarse agentes hidrofóbicos, que incluyen ceras y otros materiales inertes, por ejemplo, tales como cera de etilcelulosa o carnauba.

20 Las presentes formulaciones pueden usar las características de hinchamiento de pH específico o degradación de la enzima de sitio específico para personalizar la liberación controlada de los probióticos. Por ejemplo, puede usarse uno o más de los siguientes
25 componentes, o su cantidad relativa en la formulación

ajustada: alginato, polisacáridos, tales como gelatina o colágeno, goma guar, goma xantana, pectina (por ejemplo, procedente de cáscara de cítricos y manzana, que incluye cáscara de cítricos no GMO y manzana), mezclas de proteínas heterogéneas, polipéptidos, polisacáridos (por ejemplo, PECTIN 150 SLOW SET fabricado por Herbstreith & Fox; CAS #9000-69-5), pectina y/o una sal de alginato y gomias de galactomanano (por ejemplo, goma guar, goma xantana y/o goma de algarroba), derivados de polietileno (por ejemplo, óxido de polietileno (PEO) y/o polietilenglicol (PEG)), proteínas hidrolizadas (por ejemplo, gelatina y/o colágeno) y polipéptidos (por ejemplo, gelatina, colágeno, caseína o una mezcla de proteína heterogénea).

Además, pueden incluirse electrolitos, tal como, por ejemplo, sodio, potasio, carbonato de sodio anhidro (por ejemplo, carbonato de sodio anhidro de grado alimenticio, incluyendo CAS # 497-19-8), o sales de calcio, entre otras. La inclusión de electrolitos fisiológicamente aceptables puede producir un ambiente amortiguado que permite la reconstitución y se produzca la liberación bajo condiciones óptimas de pH para la viabilidad bacteriana. La interacción entre electrolitos y, por ejemplo, un agente hidrofílico puede permitir no sólo la liberación independiente del pH del probiótico, sino que también estabiliza el pH interno de la forma de dosificación. El mantenimiento de un pH interno

estable contribuye a la estabilidad de los probióticos.

Los aglomerantes, algunos de los cuales pueden servir para un doble propósito en las formulaciones, como se señaló anteriormente, pueden incluir HPMC, MCC, goma guar, pectina
5 (como aglomerante cohesivo), etc.

Los ingredientes opcionales adicionales incluyen sales, desecantes, agentes de desintegración, agentes de flujo y entubado, lubricantes y agentes colorantes. Por ejemplo, las sales fisiológicamente aceptables pueden ser introducidas a
10 los probióticos durante la liofilización en una proporción de probióticos a sal de 1.0:0.1 a 1.0:25. La adición de las sales también ayuda a mantener un pH constante dentro de la forma de dosificación misma y actúa como un crioprotector durante el proceso de liofilización para ayudar a prevenir la
15 lisis celular. Los desecantes pueden incluir, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, carboximetilcelulosa de calcio, dióxido de sílice coloidal y/o combinaciones de los mismos. Los agentes de desintegración pueden incluir, por ejemplo, croscarmelosa sódica vendida como
20 SOLUTAB® disponible en Blanver Farmoquímica LTDA y crospovidona (polivinilpirrolidona insoluble) vendida como KOLLIDON® disponible en BASF. Los agentes de flujo, de entubado y lubricantes pueden incluir, por ejemplo, estearato de magnesio y ácido esteárico (por ejemplo, STEARIC ACID
25 TRISTAR 149). Los agentes colorantes pueden incluir, por

ejemplo, cúrcuma (por ejemplo, NO. 03255 TURMERIC CG 90).

2. Procesos para preparar las formulaciones

Las formulaciones de la invención se pueden preparar
5 mediante la combinación de varias mezclas de polvos,
comprendiendo cada mezcla uno o más probióticos
preseleccionados. Estas mezclas pueden ser comprimidas juntas
en una forma de dosificación en capas mediante una sola
compresión. Alternativamente, la mezcla usada para formar
10 cualquier capa puede ser pre-comprimida antes de la
combinación con una o más capas adicionales. En una
modalidad, la forma de dosificación es un comprimido
multicapa o Caplet (comprimido oblongo). En una modalidad
preferida, la forma de dosificación es un comprimido de doble
15 capa o caplet para la administración oral. En otra modalidad
preferida, la forma de dosificación es un comprimido de doble
capa formado por compresión directa secuencial en una prensa
de comprimidos de dos caras. La compresión puede implicar el
uso intencional de enfriamiento para evitar dañar los
20 probióticos.

Las mezclas en polvo usadas con la presente invención
son secas. Las mezclas de polvos pueden incluir pre-mezclas
de probióticos liofilizados. Específicamente, el contenido de
humedad de las mezclas de polvo antes de las compresiones no
25 excede 5%. Las formas de dosificación final de acuerdo con la

presente invención tienen un contenido de agua que no excede 0.275 Aw.

El procesamiento de las mezclas de comprimidos se lleva a cabo a temperatura y humedad ambiente. Idealmente, la temperatura y la humedad ambiente de procesamiento no excederían 23°C/45 RH, pero muy baja humedad puede conducir a problemas electrostáticos y dificultad en el mezclado y compresión de los ingredientes secos. El almacenamiento de los concentrados de cultivo a granel y las formas de dosificación a granel se mantiene en o por debajo de -10°C. Las mezclas de los comprimidos en proceso se almacenan a temperaturas refrigeradas de 4-15°C en los recubrimientos sellados cuando los comprimidos no están siendo fabricados activamente.

La estabilidad de las formulaciones descritas en la presente puede evaluarse usando varias pruebas y protocolos. Por ejemplo, y sin limitación, las formulaciones se pueden probar preferentemente en tiempo real durante un periodo de 18 meses y/o en un Medio de Estabilidad Ambiental (17-20 grados Celsius/ $\leq$ 50% de humedad relativa) para CFU viable después de, por ejemplo, 1 día y después nuevamente de 120 días. Alternativamente, por ejemplo, y sin limitación, las formulaciones pueden probarse en tiempo real durante un periodo de 18 meses y/o en un Medio de Estabilidad Ambiental (25 grados Celsius/60% de humedad relativa) para CFU viable

después de, por ejemplo, 1 día y después nuevamente de 120 días.

Se contempla que la estabilidad no debe verse afectada; Sin embargo, las pérdidas de compresión iniciales pueden ser
5 mayores debido a un proceso de compresión de dos etapas o múltiples etapas.

La fabricación de caplets o comprimidos de dos capas probióticos puede seguir la configuración estándar y las instrucciones ofrecidas por los fabricantes de prensas para
10 la fabricación de las formas de dosificación de dos capas. Por ejemplo, una prensa de comprimidos de doble cara diseñada para incorporar dos mezclas de fórmula única a través de un proceso de compresión doble se monta y se llena con las mezclas en cada una de las dos tolvas de alimentación.
15 Conforme comienza el procesamiento, los operadores ajustan la velocidad rotacional, la velocidad de flujo, la fuerza de compresión y la profundidad de perforación para introducir la mezcla y comprimirla en la primera etapa (lado primario) del caplet. Este lado continúa en la matriz a la segunda etapa de
20 llenado y compresión (lado secundario) para formar un comprimido simple.

En una modalidad, las cantidades relativas de los pesos del comprimido de dos capas del lado primario y el lado secundario pueden variar de aproximadamente 60%:40% a 70%:30%
25 dependiendo de la prensa usada y la matriz del comprimido. En

una modalidad particular, como se muestra en el Ejemplo 1, los pesos del comprimido bi-capa comprenden aproximadamente 67% del peso total en la compresión del lado primario y aproximadamente 33% del peso total de la compresión del lado secundario. Una vez terminado, el comprimido se expulsa de la prensa y la estación de punzón/troquel continúa su rotación de nuevo a la primera etapa para repetir el proceso.

3. Formulaciones

Además de los parámetros generales de formulación proporcionados en la presente, las formulaciones usadas en cualquier capa, o uno o ambos de los lados individuales (si es un comprimido de doble capa), o en cada subcomponente (si es un comprimido de múltiples capas), de la presente invención, se traslapan con algunas de las formulaciones de unidad de la forma de dosificación individual uniforme descritas en la Patente U.S. Nos. 8,540,980 y 8,007,777 (que se refieren a, y/o describen las formulaciones de BIO-tract®). Por esta razón, los presentes inventores incluyen en la presente, evidencia y datos de la técnica previa con relación a la preparación de ciertas formas de dosificación uniformes, probióticas de liberación variada, de protección de ácidos que se ha determinado desde entonces, pueden, de manera ventajosa, rediseñarse sustancialmente, reconfigurarse y reusarse para formar las formas de dosificación en capas de

la presente invención, en donde cada capa comprende un probiótico distinto y, opcionalmente, tiene un perfil de liberación distinto. Ver los Ejemplos 4-12 y Figuras 2-10.

En una modalidad preferida, una o más capas individuales
5 o "lados" del comprimido de doble capa de la presente invención pueden incluir 5-40% de agente hidrofílico, 5-40% de agente de modificación de liberación, y 1-40% de electrolitos. Las modificaciones del tiempo de liberación se lograrán inicialmente mediante el uso de la variación del %
10 de entrada y las viscosidades de los agentes de liberación.

Por ejemplo, en una modalidad, se proporciona un comprimido de doble capa de acuerdo con la presente invención, que tiene un peso objetivo de aproximadamente 923 mg, con una primera capa que representa aproximadamente 621
15 mg y una segunda capa que representa aproximadamente 302 mg. Se contempla que se pueden preparar variaciones de esta modalidad, en donde la primera capa representa aproximadamente 621 mg (± 50 mg) y la segunda capa representa aproximadamente 302 mg (± 30 mg).

20 Los inventores también han determinado que la inclusión de ciertas cantidades de por ciento en peso (%) (p/p) de ciertos ingredientes idénticos en cada capa contribuye a la preparación exitosa de las formas de dosificación en capas cohesivas unificadas y reduce o elimina la friabilidad de la
25 forma de dosificación final. Por ejemplo, las formas de

dosificación diseñadas principalmente para proporcionar distintos probióticos de las formas de dosificación en capas separadas, es óptimo para las capas equilibrar el lado primario y las capas del segundo lado de un comprimido de dos capas con el mismo porcentaje relativo de todos los ingredientes. Los inventores también han determinado que es particularmente importante para los componentes de las formulaciones, tales como HPMC, pectina, MCC y pre-mezcla en polvo de probiótico, que esté presente en cantidades relativamente similares en cada lado para promover mejor la cohesión de la unidad. La cohesión de la forma de dosificación es importante no sólo para la aceptación de almacenamiento del producto, sino la estabilidad y la funcionalidad de las formas de dosificación. Esto se debe a que las formas de dosificación separadas, rotas y divididas son más difíciles de manejar, y resultan físicamente en tamaños de masa de dosificación más pequeños y una mayor cantidad de área superficial que se exponen al oxígeno (estabilidad) y/o agentes de disolución gastrointestinales que pueden resultar en la disolución prematura y la liberación ineficiente o inefectiva de la carga de probiótico.

En varias formulaciones de comprimidos de doble capa de la presente invención, HPMC, pectina, MCC y la premezcla de polvo de probiótico, son los componentes de entrada

principales (p/p) en las formas de dosificación terminadas.

En una modalidad, las formulaciones de comprimidos de dos capas de la presente invención incluyen cantidades de porcentaje relativo (p/p) idéntico, o sustancialmente similar de uno o más de los componentes principales de entrada de la formulación dada, incluyendo, pero no se limita a HPMC, pectina, MCC y pre-mezcla de polvo de probiótico, en cada capa para facilitar la preparación de una forma de dosificación farmacéutica en capas, cohesiva, unificada. Por ejemplo, las cantidades del porcentaje relativo (p/p) de un componente de la formulación dada en cada lado de un comprimido de dos capas puede estar dentro de aproximadamente 20% del otro lado, más preferentemente dentro de aproximadamente 15% del otro lado, todavía más preferiblemente dentro de aproximadamente 10% del otro lado, y más preferentemente dentro de aproximadamente 5% del otro lado, y de manera óptima dentro de aproximadamente 1% del otro lado.

Se observa que mientras que las formas de dosificación de la presente invención se denominan con más frecuencia como comprimidos de dos capas en la presente, la presente invención abarca formulaciones de múltiples capas y todos los tipos de formas de dosificación por vía oral ingeribles compresibles, tales como tabletas y caplets.

4. Liberación dirigida

Las diferentes poblaciones de cultivos habitan preferentemente diferentes áreas del tracto gastrointestinal humano. Para los propósitos de una forma de dosificación ingerible de probiótico de liberación dirigida, los microorganismos que habitan las regiones de la cavidad oral y esófago no forman parte de esta discusión. La ecología microbiana del intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleo) está poblada predominantemente por, por ejemplo, especies de Lactobacillus y Streptococcus. El colon (ascendente, transverso y descendente) comprende, por ejemplo, alguna población microbiana estrictamente anaerobia dominada por bifidobacterias, Bacteroides, Clostridium así como Enterobacteriaceae.

El tracto gastrointestinal humano es uno de los primeros mecanismos de defensa para mantener las enfermedades a raya. Las enzimas y ácidos en el estómago actúan para matar los agentes patógenos antes de que tengan la oportunidad de infectar y proliferar o causar la enfermedad. Los cultivos probióticos pueden morir por la exposición a los ácidos del estómago, enzimas digestivas y sales biliares.

Los cultivos difieren en su capacidad de resistir estos agentes digestivos, siendo algunos muy sensibles y siendo algunos más resistentes. En general, sin embargo, una pérdida significativa de células viables se presenta en el estómago.

La selección del probiótico se ha centrado históricamente en las cepas capaces de resistir estos agentes y existen varias tecnologías de administración eficaces para proteger los cultivos sensibles más allá de la región digestiva del tracto
5 gastrointestinal.

Muchas formas de dosis en polvo y líquida convencionales de productos probióticos no proporcionan ninguna protección de ácido a la dosis de cultivo y, a menudo, dependen de la resistencia a los ácidos nativa de un cultivo para sobrevivir
10 al paso a través del estómago. Muchas tecnologías de suministro liberan su carga total al inicio del intestino delgado en una respuesta de ráfaga dependiente del pH/enzima. Para los cultivos adaptados a tal ambiente este puede ser adecuado, pero para los cultivos sensibles al potencial de
15 oxígeno del intestino delgado superior, una liberación de ráfaga o inmediata puede resultar en la pérdida de viabilidad. Un mejor sistema de liberación para los cultivos sensibles al potencial de oxígeno del intestino delgado superior proporcionaría protección y liberación de cultivos
20 viables durante duraciones posteriores o extendidas en el tracto gastrointestinal inferior, incluyendo el colon.

En una modalidad, esta invención se relaciona con preparaciones de diferentes perfiles de liberación para depositar por lo menos dos clases divergentes de los
25 probióticos preferentemente en sus nichos microbianos

destinados. Por ejemplo, la presente invención puede liberar el *Lactobacillus* y *Streptococcus* en el intestino delgado, o el tracto gastrointestinal superior, y los anaerobios estrictos como *Bifidobacteria* además en el tracto intestinal inferior. Las formulaciones de ejemplo para demostrar el concepto incluyen las comparaciones de dosis sólidas de liberación inmediata como controles negativos (sin protección) de cada cultivo y, por ejemplo, comprimidos de dos capas de acuerdo con la presente invención.

10 *Bifidobacterium infantis* es muy sensible al oxígeno y la exposición al ácido. Por ejemplo, la mezcla de *B. infantis* puede estar diseñada para tener una duración de la liberación prolongada y protección del ácido superior, por ejemplo, para la liberación al tracto gastrointestinal inferior. También, 15 *Lactobacillus plantarum* es aero tolerante y resistente al ácido; esta mezcla se diseña para la protección de ácido moderada y un perfil de liberación más corto, por ejemplo, para la liberación a través de formas de dosificación ingeribles oralmente al tracto gastrointestinal superior.

20 En una modalidad de la presente invención, los comprimidos de dos capas de mezcla de *B. infantis* en el lado primario y *L. plantarum* en el lado secundario pueden evaluarse para la pérdida de compresión de manufacturación y la liberación del conteo viable diferencial con el tiempo en 25 disolución. En otra modalidad, los comprimidos de dos capas

de mezcla de *B. lactus* en el lado primario y *L. fermentum* en el lado secundario pueden evaluarse para la pérdida de manufacturación de compresión y liberación de conteo viable diferencial con el tiempo en disolución.

5 Además, se observa que la masa adicional del primario o primera, capa o lado de un comprimido de dos capas con relación a la capa secundaria puede influir en la supervivencia de ácido. Por lo tanto, las modalidades de dos capas mencionadas anteriormente se pueden probar mediante la
10 comparación de cada probiótico, ya sea en la primera o segunda capa para determinar qué forma de dosificación por capas ofrece las mejores tasas de supervivencia global.

 Las combinaciones preferidas pueden liberar, por ejemplo, 25-70% del peso de dosis sólida de la fórmula de
15 intestino delgado entre las horas 3-7; y, por ejemplo, 35 a 90% de la fórmula de colon entre las horas 6-12.

 En algunas modalidades del comprimido de dos capas, por ejemplo, entre aproximadamente 30-40% del peso de dosis sólida se libera a la fórmula intestino delgado entre las
20 horas 3-7, principalmente desde el primer lado primario. Posteriormente, la cantidad restante del peso de la dosis sólida se libera al colon o tracto intestinal inferior entre las horas 6-12, principalmente desde el lado secundario. En algunas otras modalidades del comprimido de dos capas, por
25 ejemplo, entre aproximadamente 20-30% del peso de la dosis

sólida se libera a la fórmula del intestino delgado entre las horas 3-7, principalmente desde el primer lado primario. Posteriormente, la cantidad restante del peso de la dosis sólida se libera al colon o tracto intestinal inferior entre las horas 6-12, principalmente desde el lado secundario.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Formulación y preparación cohesiva de dos capas *B. lactis* y *L. Fermentum*

10

Tabla 1

15

20

25

Parte A	mg de entrada por lado	% de lado	Función
<i>Bifidobacterium lactis</i>	100.50	17%	Activa
Celulosa microcristalina	274.03	47%	Rellenador
HPMC, Methocel, Dow K100m premium	67.00	11%	aglomerante/ polímero
Pectina (150 slow set)	100.50	17%	modificador de liberación
Carbonato de sodio anhidro grado alimenticio	10.72	2%	Sal
Ácido esteárico (tristar 149)	10.72	2%	lubricante

5	Parte A	mg de entrada por lado	% de lado	Función
	Avicel CE-15	13.40	2%	Lubricante
	Cúrcuma #3255 (color)	1.68	0%	Color
	Dióxido de sílice	6.70	1%	Lubricante
		585.25	100%	

10	Parte B	mg de entrada por lado	% de lado	Función
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	49.50	17%	Activa
	Celulosa microcristalina	132.33	46%	Rellenador
	HPMC, Methocel, Dow K100m premium	33.00	12%	aglomerante/ polímero
	Pectina (150 slow set)	49.50	17%	modificador de liberación
20	Carbonato de sodio anhidro grado alimenticio	5.28	2%	Sal
	Ácido esteárico (tristar 149)	5.28	2%	Lubricante
	Avicel CE-15	6.60	2%	Lubricante
	Dióxido de sílice	3.33	1%	Lubricante
		284.82	100%	Lubricante

25

Los comprimidos de dos capas fabricados usando las formulaciones anteriores se prepararon usando una prensa de comprimidos de dos capas Manesty® Double-Sided Press con pre-compresión (modelo mark IV) para incorporar dos fórmula única
5 a través de un proceso de compresión doble.

El tamaño del troquel o punzón usado es el tamaño de 0.312 x 0.750 (ID de punzón: D23). Los comprimidos de doble capa pueden manufacturarse usando una velocidad de torreta de 1,000 comprimidos por minuto. La penetración del punzón
10 superior incluye una parte trasera de 8 mm y un frente de 4 mm. La primera capa tiene una profundidad de relleno de aproximadamente 0.531 (punto de ajuste 0.377) y la segunda capa tiene una profundidad de relleno de aproximadamente 0.564 (punto de ajuste 0.394). Las presiones de punción
15 promedio (lb/in²) son para la primera capa, pre-compresión a aproximadamente 202 y compresión principal a aproximadamente 738. Las presiones de punción promedio para la segunda capa son pre-compresión a aproximadamente 64 y la compresión principal en aproximadamente 2188. El KP final (Kilopond) es
20 de aproximadamente 10.7 KP (promedio). La friabilidad de tales comprimidos de dos capas es de aproximadamente 0.25%, en donde la friabilidad indica rotura de las píldoras o separación de las capas.

La friabilidad es una prueba estándar USP para la
25 durabilidad del comprimido: se pesan diez (10) comprimidos, y

luego se insertan en un vaso de dimensión estándar y velocidad de rotación y tiempo, después se pesan de nuevo. La pérdida se registra como un porcentaje. La pérdida de <1% es buena para la mayoría de los suplementos y excepcional para los probióticos.

En la presente, el peso de la forma de dosificación terminada (p/p) es de aproximadamente 870 mg, con un peso objetivo de aproximadamente 923 mg, con una primera capa que representa aproximadamente 621 mg y una segunda capa que representa aproximadamente 302 mg.

Ejemplo 2: Evaluación de la protección de ácido de las formulaciones de dos capas tableteadas de distinto cultivo

La supervivencia de los cultivos probióticos viables se evaluó en un aparato de disolución USP de tipo 2 para los parámetros de prueba de estado en ayuno de 30 minutos de exposición a pH 2.5 a 37°C con agitación con paletas ajustada a 50 RPM. Cada punto de datos es un promedio de tres pruebas de dosis individuales replicados por separado en 900 mL de medio de disolución. Las formas de dosificación probadas fueron las preparadas de acuerdo con el Ejemplo 1.

Los conteos de probióticos se completaron en el material de caplet residual al final de la exposición levantando suavemente el caplet hidratado fuera de la cámara y procesándolos para la prueba de conteo de placa por dilución

suave y homogeneizando en un mezclador Stomacher seguido por la prueba de conteo de placa estándar para enumerar las unidades de formación de colonias viables.

Para evaluar la supervivencia del probiótico en un
5 estado no protegido, se probaron cultivos de polvo liofilizado (usados para la fabricación de los caplets) para el conteo viable antes de la exposición al ácido y 1 g de este material se hidrató en el medio de disolución en el aparato y recibió la misma exposición. Después de la
10 exposición, se extrajo una muestra del medio y se procesó como anteriormente para los conteos viables.

La enumeración diferencial de *B. lactis* y *L. fermentum* se hizo posible por la aparición de colonias distintas de los cultivos y se presenta como las células viables recuperadas
15 totales después de ajustar por factores de dilución. La supervivencia se determinó dividiendo CFU recuperado post-ácido por el CFU introducido y expresado como un porcentaje. Esto se expresó adicionalmente como un "Factor de Protección" para los cultivos individuales dividiendo el porcentaje de
20 supervivencia de caplet por el porcentaje de supervivencia de polvos sin protección.

Tabla 2

30 Minutos, pH 2.5 a 37°C

50 RPM

5	Producto y Lote No.	CFU/cap pre-disolución	CFU/cap post-disolución	% supervivencia	Factor de protección
	Caplet/ comprimido bi-capa				
10	Conteo de B. lactis	4.5E+09	3.0E+09	60.0	18X
	Caplet/ comprimido bi-capa				
15	Conteo de L. fermentum	2.3E+09	1.5E+09	73.9	1850X
		FFU introducido post-disolución	FFU recuperado post-disolución		
20	Polvo desprotegido				
	Conteo de B. lactis	6.0+11	2.0E+10	3.3%	
25	Polvo desprotegido				
	Conteo de L. fermentum	5.0+11	2.0E+08	0.04%	

L. fermentum es un cultivo sensible a ácido, pero que está dirigido para su liberación al tracto gastrointestinal superior, de tal manera que se puede considerar de forma convencional apropiado para las formulaciones de liberación inmediata o formulaciones que no requieren perfiles de liberación prolongada o controlada. Los datos en la presente muestran pérdidas importantes en la viabilidad de *L. fermentum* cuando *L. fermentum* se probó directamente en ácido, y evitar o la reducción marcada de estas pérdidas cuando se preparan en las presentes formas de dosificación de protección de ácido de la presente invención, tales como las descritas en el Ejemplo 1. Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad crítica de protección de ácido durante el pasaje del estómago, incluso si el cultivo que es administrado está dirigido para la liberación al tracto gastrointestinal superior y, por lo tanto, no se espera que necesite protección contra el ácido del estómago.

Esta serie de pruebas demuestra la protección superior de la carga viable para cada uno de los dos géneros divergentes de cultivos probióticos proporcionados por el comprimido de doble capa. De manera sorprendente, el cultivo de *L. fermentum*, la formulación ausente de acuerdo con la presente invención, resultó ser extremadamente sensible al ácido. De hecho, los inventores encontraron que las presentes formulaciones de la invención proporcionan un factor de

protección de formulación sorprendente en exceso de 1800X para el cultivo de *L. fermentum*.

En la presente, mientras que el cultivo de *Bifidobacterium*, *B. lactis*, terminó siendo de órdenes de magnitud más resistente a los ácidos que el cultivo de *L. fermentum*, ambos cultivos se beneficiaron de la protección de ácido proporcionada por la forma de dosificación de comprimido de doble capa. Los datos en la presente demuestran una ventaja importante de usar las formulaciones de protección de ácido descritas en la presente para todos los cultivos independientemente de si el cultivo(s) incorporado en la formulación es más o menos sensible a los ácidos e independientemente de si el sitio de liberación dirigida es el tracto gastrointestinal superior o el tracto gastrointestinal inferior.

Además, este ejemplo muestra que las formulaciones de protección de ácido de la presente invención permiten la combinación de formulaciones diferentes que contienen, por ejemplo, cultivos sensibles o resistentes a ácidos, juntos en una sola forma de dosificación cohesiva que proporciona protección de ácido similar compartida para el transporte de la carga de probiótico de la forma de dosificación después del estómago. En consecuencia, este ejemplo muestra que las formas de dosificación en capas protegidas de ácido de la presente invención pueden facilitar el depósito de

probióticos apropiados, incluyendo probióticos sensibles a los ácidos, a los sitios blanco localizados en distintas regiones del tracto gastrointestinal.

5 Ejemplo 3: Evaluación de la liberación prolongada

Para demostrar la liberación prolongada de probiótico viable de tales formas de dosificación preparadas de acuerdo con el Ejemplo 1 a través de un pasaje intestinal simulado, se usaron el mismo aparato USP de tipo 2 y los parámetros de
10 prueba para la exposición al ácido inicial, como se señaló anteriormente en el Ejemplo 2 (es decir, aparato de disolución USP tipo 2 para los parámetros de la prueba de estado en ayuno de 30 minutos de exposición a pH 2.5 a 37°C con agitación con paletas fijada a 50 RPM). Luego, a los 30
15 minutos, el pH de las cámaras se ajustó a neutralidad, pH 7.0-7.5, y las dosis se permitieron permanecer en las cámaras durante la exposición de disolución adicional a un tiempo total de 3, 6 ó 9 horas. Las imágenes de las formas de dosificación preparadas de acuerdo con el Ejemplo 1 se
20 proporcionan en la presente como las Figuras 1A, 1B, 1C y 1D para cada uno del tiempo cero, tiempo de 3 horas, tiempo de 6 horas, y el tiempo de 9 horas, respectivamente. Al final del periodo de prueba, la forma de dosificación residual se eliminó con cuidado de la cámara y se procesó como
25 anteriormente para determinar el conteo viable que queda en

el caplet intacto. Una muestra del medio de disolución se tomó y se probó para el conteo viable probiótico liberado en el medio. Los conteos se ajustaron para reflejar el CFU total introducido y recuperado de la cámara de disolución.

5 Nuevamente, tres réplicas se probaron para cada punto de datos y se promediaron en el reporte.

Los datos a continuación muestran una recuperación del conteo celular que aumenta gradualmente conforme se disuelve el comprimido de doble capa. La sección de recuperación total
10 en la parte inferior muestra que los probióticos recuperados disminuyen gradualmente, pero cabe destacar que la recuperación celular se produce y está presente a través de por lo menos 9 horas de exposición.

15

Tabla 3

30 Minutos a pH 2.5 a 37°C, 50 RPM seguido de neutralización del medio y la disolución continua

20

Caplets residuales probados a:	CFU/cap pre-disolución	CFU/cap post-disolución	% supervivencia
Conteo total de 3 horas	7.70E+09	1.6E+09	20.8%
Conteo de B. lactis de 3 horas	4.5E+09	7.4E+08	16.5%
Conteo de L. fermentum de 3 horas	2.3E+09	8.6E+08	37.2%

25

	Caplets residuales probados a:	CFU/cap pre-disolución	CFU/cap post-disolución	% supervivencia
5	Conteo total de 6 horas	7.70E+09	6.8E+08	8.8%
	Conteo de B. lactis de 6 horas	4.5E+09	2.7E+08	6.0%
	Conteo de L. fermentum de 6 horas	2.3E+09	4.1E+08	17.8%
	Conteo total de 9 horas	7.70E+09	1.5E+08	2.0%
	Conteo de B. lactis de 9 horas	4.5E+09	2.3E+07	0.5%
10	Conteo de L. fermentum de 9 horas	2.3E+09	1.3E+08	5.7%
	Medio de disolución probado a:	CFU de caplet pre-disolución introducido	CFU recuperado post-disolución	% de supervivencia
15	Conteo total de 3 horas	7.70E+09	3.8E+08	5.6
	Conteo de B. lactis de 3 horas	4.5E+09	1.8E+08	3.9
	Conteo de L. fermentum de 3 horas	2.3E+09	2.1E+08	9.1
20	Conteo total de 6 horas	7.70E+09	1.2E+09	17.1
	Conteo de B. lactis de 6 horas	4.5E+09	5.1E+08	11.2
	Conteo de L. fermentum de 6 horas	2.3E+09	6.6E+08	28.6
25	Conteo total de 9 horas	7.70E+09	9.1E+08	13.3
	Conteo de B. lactis de 9 horas	4.5E+09	3.9E+08	8.6

	Medio de disolución probado a:	CFU de caplet pre-disolución introducido	CFU recuperado post-disolución	% de supervivencia
5	Conteo de <i>L. fermentum</i> de 9 horas	2.3E+09	5.2E+08	22.6
	Conteo viable recuperado total, Caplet + Medio	CFU de caplet pre-disolución introducido	CFU recuperado post-disolución	% de supervivencia total
10	Conteo total de 3 horas	7.70E+09	2.0E+09	26%
	Conteo de <i>B. lactis</i> de 3 horas	4.5E+09	9.2E+08	20%
	Conteo de <i>L. fermentum</i> de 3 horas	2.3E+09	1.1E+09	46%
15	Conteo total de 6 horas	7.70E+09	1.8E+09	24%
	Conteo de <i>B. lactis</i> de 6 horas	4.5E+09	7.7E+08	17%
	Conteo de <i>L. fermentum</i> de 6 horas	2.3E+09	1.1E+09	46%
	Conteo total de 9 horas	7.70E+09	1.1E+09	14%
20	Conteo de <i>B. lactis</i> de 9 horas	4.5E+09	4.1E+08	9%
	Conteo de <i>L. fermentum</i> de 9 horas	2.3E+09	6.5E+08	28%

Las formas de dosificación residuales demostraron una
 25 reducción progresiva en el conteo viable ya que las formas de

dosificación erosionaron en el medio. Las muestras del medio aumentaron progresivamente en el conteo a través de las 9 horas de prueba. De manera importante, la recuperación de células viables se mantuvo durante 9 horas, con la caída de recuperación total de 66% de la dosis inicial en el punto de tiempo de 30 minutos a 26%, 24% y 14% a 3, 6 y 9 horas respectivamente. Se observa que los conteos de células activas significativas se recuperaron a través de la disolución.

Los siguientes ejemplos proporcionan formulaciones de capa propuestas para su uso como subcomponentes de las formas de dosificación de la presente invención. Estas formulaciones tomadas solas se consideran demasiado pequeñas en la masa total para trabajar con muchas prensas de comprimidos en capas convencionales. Se observa que una forma de aumentar el peso total de la masa es, por ejemplo, incluyendo rellenos, tales como MCC o maltodextrina. Se observa, sin embargo, que mientras que la inclusión de MCC o maltodextrina puede ser importante para la compresión del comprimido, estos componentes en general no ayudan a la cohesión del comprimido. Además, incluyendo grandes cantidades de MCC o maltodextrina pueden afectar la velocidad de liberación del comprimido, es decir, aumentar la velocidad de liberación.

La preparación de las formas de dosificación de la presente invención pueden comprender una o más de las

siguientes formulaciones de capa junto con otras formulaciones de capa, como se describe en la presente, para formar las formulaciones de protección de ácido cohesiva en capas de la presente invención, para proporcionar capas
5 probióticas distintas y para proporcionar capas probióticas distintas que tienen perfiles de liberación diferentes.

Ejemplo 4

Un subcomponente de una forma de dosificación de
10 múltiples capas, o lado de una forma de dosificación de comprimido de dos capas, que pesa aproximadamente 382 mg, y que contiene un agente hidrofílico y una pre-mezcla de probiótico, se preparó como se muestra en la Tabla 4. El grupo A1 es el control. En este ejemplo, la pre-mezcla de
15 probiótico está compuesta de microorganismos benéficos, tales como la pre-mezcla de bacterias de ácido láctico de polvo liofilizado y almidón. El agente hidrofílico empleado es celulosa microcristalina (MCC), maltodextrina, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) u óxido de polietileno
20 (PEO). La adición del agente hidrofílico retardará la liberación del probiótico de la forma de dosificación. El ácido esteárico se incluye como un agente de flujo y se emplea sílice como agente de flujo y desecante.

Como se muestra en la Figura 2, los resultados de este
25 ejemplo reflejan un nivel de liberación controlada de un lado

separado de la forma de dosificación de dos capas concedida a través del uso de una matriz compuesta de un agente hidrofílico y el probiótico liofilizado. Esta liberación controlada se muestra a través de un nivel mucho mayor de las unidades de formación de colonias de las bacterias de ácido láctico viables (CFU) liberadas después de la exposición al medio gástrico que el control. El uso de agentes hidrofílicos menos hinchables, tales como MCC y maltodextrina se asocian con niveles suficientes, pero más bajos de control. Un nivel de control superior se demuestra en el óxido de polietileno y matrices de HPMC. De esta manera, el agente hidrofílico no se limita a un tipo particular de agente hidrofílico, siempre que se logre una viscosidad de la matriz suficiente.

15

Tabla 4

20

25

Fórmulas de dosificación (mg)	A1 (CTRL)	A2 (control negativo)	A3 (control negativo)	A4	A5
Pre-mezcla de bacterias de ácido láctico	150	150	150	150	150
HPMC	0	0	0	200	0
PEO	0	0	0	0	200
MCC	0	200	0	0	0

	Fórmulas de dosificación (mg)	A1 (CTRL)	A2 (control negativo)	A3 (control negativo)	A4	A5
5	Maltodextrina	0	0	200	0	0
	Ácido esteárico	16	16	16	16	16
	Sílice	16	16	16	16	16
	PESO TOTAL	182	382	382	382	382

10 Ejemplo 5

Un lado de una forma de dosificación de dos capas como un comprimido, aproximadamente 382 mg, que contiene un agente hidrofílico, un agente electrolítico y un pre-mezcla de probiótico puede prepararse como se muestra en la Tabla 5. El grupo B1 es el control. La formulación emplea HPMC como el agente hidrofílico. Los agentes electrolíticos usados incluyen cualquiera de NaHCO_3 , Na_2CO_3 o NaH_2PO_4 . El probiótico, en este caso, consiste de una pre-mezcla de bacterias de ácido láctico de polvo liofilizado y almidón. La adición del agente electrolítico, cualquiera de NaHCO_3 , Na_2CO_3 o NaH_2PO_4 , establece el pH interno dentro de la forma de dosificación del sistema de liberación. El ácido esteárico se incluye como un agente de flujo y la sílice se emplea como agente de flujo y desecante.

25 Este ejemplo demuestra, como se muestra en la Figura 3,

que el pH interno de un lado separado de la forma de dosificación bi-capa se altera por la presencia del agente electrolítico, que afecta la cantidad de CFU viable liberado. Este establecimiento de un pH interno particular, se asocia con diferentes niveles de viabilidad para un BC liofilizado reconstituido dado. En particular, la formulación B2 contiene Na_2CO_3 y el agente electrolítico proporciona un pH interno dentro de la forma de dosificación del sistema de liberación y ayuda en la reconstitución de bacterias viables de ácido láctico.

Tabla 5

<i>Fórmulas de dosificación (mg)</i>	<i>B1 (ctrl)</i>	<i>B2</i>	<i>B3</i>	<i>B4</i>
Pre-mezcla de bacterias de ácido láctico	150	150	150	150
HPMC	00	100	100	100
MCC	200	0	0	0
Na_2CO_3	0	100	0	0
NaHCO_3	0	0	100	0
NaH_2PO_4	0	0	0	100
Ácido esteárico	16	16	16	16
Sílice	16	16	16	16
PESO TOTAL	382	382	382	382

Ejemplo 6

Un lado de una forma de dosificación de dos capas como un comprimido, aproximadamente 382 mg, que contiene un agente hidrofílico, un agente modificador de la liberación y un pre-
5 mezcla probiótica puede prepararse como se muestra en la Tabla 6. El grupo C1 es el control. El agente hidrofílico empleado es HPMC. El agente modificador de la liberación empleado es pectina o gelatina. La pre-mezcla de bacterias de ácido láctico de polvo liofilizado y almidón constituye el
10 BC. El ácido esteárico se incluye como un agente de flujo y la sílice se emplea como agente de flujo y desecante.

Este ejemplo ilustra, como se muestra en la Figura 4, un aumento en el nivel de control que es posible cuando se adiciona el agente modificador de la liberación a una matriz
15 hinchable hidrofílica. La presencia de pectina o gelatina como el agente modificador de la liberación se asocia con un grado de degradación dependiente del pH y un aumento global en la viscosidad de la matriz que retarda la liberación del probiótico. Esto se refleja en el aumento de CFU viable
20 liberado después de la exposición al medio de pH gástrico.

Tabla 6

	<i>Fórmulas de dosificación (mg)</i>	<i>C1 (CTRL)</i>	<i>C2</i>	<i>C3</i>
5	Pre-mezcla de bacterias de ácido láctico	150	150	150
	HPMC	0	100	100
	MCC	200	0	0
	Pectina	0	100	0
10	Gelatina	0	0	100
	Ácido esteárico	16	16	16
	Sílice	16	16	16
	PESO TOTAL	382	382	382

15

Ejemplo 7

Un lado de una forma de dosificación de dos capas en forma de comprimidos, aproximadamente 534 mg, que contiene un agente hidrofílico, un agente electrolítico, un agente

20 modificador de la liberación, un relleno inerte y una pre-mezcla de probiótico se preparó como se muestra en la Tabla 7. El agente hidrofílico empleado es HPMC. El agente electrolítico usado es NaHCO_3 . El agente modificador de la liberación empleado es pectina, y el relleno inerte

25 empleado es MCC. La pre-mezcla de probiótico empleado en este

ejemplo consiste de la pre-mezcla de bacterias de ácido láctico de polvo liofilizado y almidón. La adición del rellenos inerte se asocia con un aumento de la capacidad de flujo de potencia que a menudo es ventajoso durante el proceso de manufacturación. El ácido esteárico se incluye como un agente de flujo, y la sílice se emplea como un agente de flujo y desecante. La cúrcuma se incluye como un colorante.

Como se muestra en la Figura 5, los resultados de este ejemplo demuestran la capacidad para la liberación controlada de las bacterias probióticas viables durante una duración prolongada. También se muestra la liberación controlada de la matriz hidrofílica para realizar de manera similar independientemente de la duración de la exposición al medio gástrico. E1 y E2 son formulaciones idénticas que muestran la diferencia en la liberación controlada con base en un tiempo de exposición de 1 hora ó 2 horas, respectivamente.

Tabla 7

20	Fórmulas de dosificación (mg)	E1	E2
	Pre-mezcla de bacterias de ácido láctico	150	150
	HPMC	50	50
	NaHCO ₃	50	50
25	MCC	200	200

5

Fórmulas de dosificación (mg)	E1	E2
Pectina	50	50
Ácido esteárico	16	16
Sílice	16	16
Cúrcuma	2	2
PESO TOTAL	534	534

Ejemplo 8

10 Un lado de una forma de dosificación de dos capas en forma de comprimidos, aproximadamente 532 mg, que contiene un agente hidrofílico, un agente electrolítico, un agente modificador de la liberación, un relleno inerte y una pre-

mezcla de probiótico se preparó como se muestra en la Tabla

15 8. El agente hidrofílico empleado es HPMC o PEO. El agente electrolítico usado es NaHCO_3 . El agente modificador de la liberación empleado es pectina, y el relleno inerte empleado es MCC. El probiótico empleado en este ejemplo consiste de la pre-mezcla de Bifidobacterium de polvo

20 liofilizado y almidón. El ácido esteárico se incluye como un agente de flujo, y la sílice se emplea como un agente de flujo y desecante. La cúrcuma se incluye como un colorante.

Como se representa en la Figura 6, los resultados de este ejemplo demuestran la capacidad para la liberación

25 controlada de los probióticos sobre una duración extendida.

También se muestra la liberación controlada de la matriz hidrofílica para liberar en un perfil favorable para la liberación de BC, que consiste en este caso de Bifidobacterium, después de ocho horas. Tal ejemplo sería
 5 útil para la liberación de Bifidobacterium en el intestino inferior y más allá de la parte del intestino inferior.

Tabla 8

10	Fórmulas de dosificación (mg)	F2	F3
	Pre-mezcla de bacterias Bifidobacterium	150	150
	HPMC	150	0
	PEO	0	150
	Pectina	100	100
15	NaHCO ₃	100	100
	Ácido esteárico	16	16
	Sílice	16	16
	PESO TOTAL	532	532

20

Ejemplo 9

Los lados simples de una forma de dosificación de dos capas en forma de comprimidos, aproximadamente 684 mg y 342 mg, respectivamente, que contiene un agente hidrofílico, un
 25 agente electrolítico, un agente modificador de la liberación,

un rellенador inerte y una pre-mezcla de probiótico se preparó como se muestra en la Tabla 9. El agente hidrofílico empleado es HPMC. El agente electrolítico usado es NaHCO_3 . El agente modificador de la liberación empleado es pectina. La pre-mezcla probiótica empleada en este ejemplo consiste de pre-mezcla de bacterias de ácido láctico de polvo liofilizado y almidón. El ácido esteárico se incluye como un agente de flujo, y la sílice se emplea como un agente de flujo y desecante.

Los resultados de este ejemplo, como se representa en la Figura 7, demuestran que la combinación del agente hidrofílico, el agente electrolítico y el agente modificador de la liberación es capaz de controlar la escalabilidad geométrica, la forma del comprimido, el tamaño y volumen, mientras que se controla de la liberación del probiótico del sistema de suministro en su matriz hidrofílica y la forma de dosificación de un comprimido monolítico. Esta flexibilidad de variación de la forma de dosificación es especialmente útil en la manufactura cuando se requieren diferentes volúmenes de formulación, alterando en particular las formas y tamaños del comprimido.

Tabla 9

5	Fórmulas de dosificación (mg)	H2	H2
	Pre-mezcla de bacterias de ácido láctico	75	150
	Pectina	50	100
	HPMC	50	100
	NaHCO ₃	50	100
10	Guar	100	200
	Ácido esteárico	8	16
	Sílice	8	16
	Cúrcuma	1	2
	PESO TOTAL	342	684

15 Ejemplo 10

Un lado de una forma de dosificación de dos capas como un comprimido, aproximadamente 684 mg, que contiene un agente hidrofílico, un agente electrolítico, un agente modificador de la liberación, un relleno inerte y una pre-mezcla de probiótico se preparó como se muestra en la Tabla 10. El agente hidrofílico empleado es HPMC. El agente electrolítico usado es NaHCO₃. El agente modificador de la liberación empleado es pectina, y un relleno inerte empleado es MCC. El probiótico empleado en este ejemplo consiste de la pre-

20 mezcla de bacterias de ácido láctico de polvo liofilizado y

25

almidón. El ácido esteárico se incluye como un agente de flujo, y la sílice se emplea como un agente de flujo y desecante. La cúrcuma se incluye como un colorante.

Los resultados de este ejemplo, como se representa en la Figura 8, demuestran la aplicación de secar una formulación idéntica de excipientes de una pre-mezcla antes del tableteado de comprimidos (I2) frente a una pre-mezcla no secada (I1). Los efectos benéficos del secado se ponen de manifiesto por el aumento de bacterias de ácido láctico viables o CFU probiótico liberado en la pre-mezcla seca, I2, cuando se compara con la pre-mezcla no secad, I1.

Tabla 10

15	Fórmulas de dosificación (mg)	I1	I2
	Pre-mezcla de bacterias de ácido láctico	150	150
	HPMC	100	100
	Pectina	100	100
	NaH(CO ₃) ₂	100	100
20	MCC	200	200
	Ácido esteárico	8	8
	Sílice	8	8
	Cúrcuma	2	2
25	PESO TOTAL	684	684

Ejemplo 11

Un lado de una forma de dosificación de dos capas como un comprimido, aproximadamente 532 mg, que contiene un agente hidrofílico, un agente electrolítico, un agente modificador de la liberación, un rellenos inerte y una pre-mezcla de probiótico se preparó como se muestra en la Tabla 11. El agente hidrofílico empleado es HPMC de viscosidad 4,000 mPa (H1) ó 15,000 mPa (H2). El agente electrolítico usado es NaHCO_3 . El agente modificador de la liberación empleado es pectina, y el rellenos inerte empleado es MCC. La pre-mezcla de probiótico empleado en este ejemplo consiste de la pre-mezcla de Bifidobacterium de polvo liofilizado y almidón. El ácido esteárico se incluye como un agente de flujo, y la sílice se emplea como un agente de flujo y desecante. La cúrcuma se incluye como un colorante.

Como se muestra en la Figura 9, los resultados de este ejemplo demuestran la capacidad para la liberación controlada diferencialmente de probióticos viables empleando agentes hidrofílicos de diferentes viscosidades.

Tabla 11

Fórmulas de dosificación (mg)	H1	H2
Pre-mezcla de bacterias de ácido láctico	75	75
HPMC, 4,000 mPa	50	0

	Fórmulas de dosificación (mg)	H1	H2
	HPMC, 15,000 mPa	0	50
	Pectina	50	50
	$\text{NaH}(\text{CO}_3)_2$	50	50
5	MCC	100	100
	Ácido esteárico	8	8
	Sílice	8	8
	Cúrcuma	1	1
10	PESO TOTAL	342	342

Ejemplo 12

Un lado de una forma de dosificación de dos capas como un comprimido, aproximadamente 343 mg, que contiene un agente hidrofílico, un agente electrolítico, un agente modificador de la liberación, un rellenedor inerte y una pre-mezcla de probiótico se preparó como se muestra en la Tabla 12. El agente hidrofílico empleado es HPMC. El agente electrolítico usado es NaHCO_3 . El agente modificador de la liberación empleado es pectina, y el rellenedor inerte empleado es MCC. La pre-mezcla probiótica empleada en este ejemplo consiste de la pre-mezcla de ácido láctico de polvo liofilizado y almidón. El ácido esteárico se incluye como un agente de flujo, y la sílice se emplea como un agente de flujo y

deseicante. La cúrcuma se incluye como un colorante.

Como se muestra en la Figura 10, los resultados de este ejemplo demuestran la capacidad de aumentar la estabilidad en el tiempo cuando se almacena en un entorno a ambiente (25
5 grados C, 60% de humedad relativa), evidenciado por una cantidad relativamente constante de CFU de bacterias de ácido láctico viables.

Tabla 12

10

15

20

Fórmulas de dosificación (mg)	K1
Pre-mezcla de bacterias de ácido láctico	75
HPMC	50
Pectina	50
NaHCO ₃	50
MCC	100
Ácido esteárico	8
Sílice	8
Cúrcuma	2
PESO TOTAL	343

La discusión anterior es descriptiva, ilustrativa y ejemplar y no se debe tomar como una limitación del alcance
25 definido por las reivindicaciones adjuntas.