

FORMULACIONES DE AMINOACIDOS DE LIBERACION MODIFICADA
ADMINISTRADAS ORALMENTE

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención está dirigida a formulaciones y formas de dosificación de aminoácidos administradas por vía oral que presentan una precisión de dosificación mejorada, una palatabilidad mejorada y una farmacocinética mejorada para lograr un efecto terapéutico óptimo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Los aminoácidos son los bloques de construcción necesarios para la síntesis de proteínas en el cuerpo humano, que derivan fundamentalmente de fuentes de proteínas de la dieta. El cuerpo humano emplea diecinueve aminoácidos distintos en la configuración L para sintetizar proteínas. Algunos de estos aminoácidos se conocen como "aminoácidos esenciales" porque el cuerpo no puede sintetizarlos de manera independiente. Otros aminoácidos no son "esenciales" porque el cuerpo puede sintetizarlos.

La digestión de las proteínas de la dieta en aminoácidos comienza en el estómago, gracias a la actividad combinada del pepsinógeno, pepsina y ácido clorhídrico que permite obtener oligopéptidos. La digestión continúa en el duodeno, después del tránsito por el estómago pasando a través del píloro, donde la actividad combinada de la secreción biliar, bicarbonatos y las

enzimas pancreáticas permiten producir aminoácidos individuales. Montgomery R. et al., 1988; Baracos, 2004. Los aminoácidos liberados son absorbidos luego en el intestino delgado hacia la vena portal de acuerdo con procesos de transporte estereoespecíficos activos que son específicos de los aminoácidos. La secreción hacia el intestino de los aminoácidos es un mecanismo concomitante. Los dipéptidos y tripéptidos también se pueden absorber en el intestino delgado, pero ellos también serán hidrolizados finalmente en aminoácidos en el enterocito. Estos procesos dependen en gran medida del pH. Cuando se ingiere alimento, el estómago secreta ácido clorhídrico y el pH disminuye hasta un valor de alrededor de 2. Después de la válvula pilórica, el pH aumenta progresivamente de 4 a 7 aproximadamente como consecuencia de la secreción biliar alcalina. Hay un sistema amortiguador del pH cuya función es impedir valores de pH mayores que aproximadamente 7,5-7,8.

El tiempo requerido para digerir las proteínas de la dieta es la suma del tiempo transcurrido en la fase de vaciado gástrico y el tiempo necesario para la hidrólisis en el intestino delgado. El tiempo necesario para ambos procesos puede variar dependiendo de la ingesta de alimentos, la ingesta de proteínas, enfermedades y tratamientos concomitantes con fármacos, siendo la ingesta de alimentos el factor determinante más común. Amidon et al., 1995 informan un tiempo de vaciado gástrico de aproximadamente 3,5 horas después de una comida rica en grasas, aproximadamente 1,5 horas después de una comida promedio y entre 10 y 20 minutos

aproximadamente después de 250 ml de agua. Keohane et al., 1985 informan que el tiempo necesario para hidrolizar los aminoácidos en el intestino delgado es, en promedio, de aproximadamente tres horas, y que este tiempo varía según las proteínas y los aminoácidos individuales. Esta hidrólisis comienza inmediatamente después del vaciado gástrico, después del tránsito a través de la válvula pilórica, y demora varias horas en el primer tramo del intestino delgado, es decir, el yeyuno.

Los aminoácidos se administran habitualmente como suplementos de la dieta para facilitar la síntesis de proteínas, en particular cuando se desea aumentar la masa muscular. También se administran combinaciones de aminoácidos formuladas especialmente para fomentar la salud nutricional de los individuos con limitaciones y requerimientos especiales respecto de la ingesta alimentaria. En la fenilcetonuria, por ejemplo, el cuerpo no puede metabolizar fenilalanina en tirosina debido a la falta de las enzimas necesarias. En su lugar, la fenilalanina se descompone en varios productos secundarios tóxicos. Montgomery et al., 1988; Waisbren et al., 2007.

La fenilalanina es un aminoácido esencial que normalmente es metabolizada en tirosina por la enzima fenilalanina hidroxilasa. En la fenilcetonuria, esta enzima no existe o no funciona apropiadamente, y la fenilalanina es descarboxilada en varios compuestos, siendo tres de ellos tóxicos: el fenilpiruvato, el lactato de fenilo y el acetato de fenilo. Debido a esta inhibición metabólica, se debe reducir la ingesta alimenticia de

fenilalanina proporcionando al mismo tiempo el aminoácido tirosina con la dieta ya que éste último es indispensable. Ney D. M. *et al.*, 2014; Dioguardi, 2011; Waisbren *et al.*, 2007.

Una estrategia de manejo eficaz para la fenilcetonuria consiste en formulaciones de aminoácidos formuladas especialmente que omiten la fenilalanina al mismo tiempo que suplementan la tirosina. Dado que no se puede eliminar la fenilalanina de la mayoría de las fuentes de proteínas de la dieta, estos suplementos de aminoácidos habitualmente tomarán el lugar de las proteínas de la dieta, que por ende se eliminan por completo de la dieta. Vliet Van D. *et al.*, 2014. Sin embargo, estos pacientes también pueden ser tratados con una dieta de proteínas controlada cuidadosamente que comprenden muy poca fenilalanina. Gropper S. S. *et al.*, 1991.

Los ejemplos formulaciones de aminoácidos comercializados para el manejo de la fenilcetonuria incluyen las formulaciones comercializadas como AntifenTM, Nutricia XP2TM (Maxamaid) y Milupa PKU2TM (Secunda). Nutricia XP2TM y Milupa PKU2TM también contienen vitaminas y minerales. En la siguiente Tabla A se muestran las formulaciones de estos productos, basado en aproximadamente 100 g de aminoácidos en cada formulación, pero omitiendo el contenido de vitaminas y minerales.

TABLA A

	AntifenTM ¹	Nutricia XP2TM ²	Milupa PKU2TM ³
<i>Componente</i>	g	g	g
Alanina	7,60	4,05	4,03
Arginina	7,83	7,20	3,32
Ácido	11,30	6,70	9,48

aspártico			
Cistina	1,17	2,66	2,25
Ácido glutámico	-----	-----	19,92
Glutamina	12,50	4,94	-----
Glicina	4,80	6,35	2,25
histidina	2,73	4,11	2,25
Isoleucina	3,23	6,35	5,69
Leucina	7,20	10,86	9,37
Lisina	8,19	7,37	6,64
Metionina	2,14	1,73	2,25
Prolina	4,89	7,70	9,01
Serina	8,10	4,66	4,98
Taurina	0,25	1,17	-----
Treonina	3,80	5,33	4,51
Triptofano	1,25	2,14	1,66
Tirosina	7,50	9,64	5,57
Valina	5,40	6,97	6,64
Carnitina	0,11	0,06	0,18

¹ <http://www.dmfmetabolic.it/wp-content/uploads/2013/10/AntifenIntegrale.pdf>

² <http://www.nutricia.it/prodotti/xp2-maxamaid/>

³ <http://www.nutricia.it/prodotti/pku-2-secunda/>

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

Potencialmente, los aminoácidos libres presentan numerosas desventajas en comparación con las proteínas naturales, debido a la rápida absorción de los aminoácidos, lo que obliga a una carga

ácida más alta en la dieta, en particular cuando se administran dosis más elevadas.

Además, el sabor y el olor y sabor de algunas formulaciones de aminoácidos comerciales no son buenos, lo cual las vuelve extremadamente difíciles de ingerir para muchas personas sobre una base regular, en particular para lactantes y niños. Aún más, estas formulaciones son liberadas inmediatamente al ser ingeridas, lo que conduce a un patrón de absorción muy diferente al observado cuando se ingieren proteínas.

Un objeto de la presente invención consiste en limitar el catabolismo de aminoácidos causado por la ingesta de aminoácidos libres y superar la capacidad metabólica del cuerpo.

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

Aún otro objeto de la presente invención consiste en proveer formas de dosificación de aminoácidos únicas que se puedan ingerir directamente sin necesidad de reconstituirlas.

Aún otro objeto de la presente invención consiste en proveer formulaciones de aminoácidos con propiedades de liberación modificada, que imitan más estrechamente el patrón de absorción de proteínas cuando se ingieren por vía oral.

RESUMEN DE LA INVENCION

Se han desarrollado formulaciones de aminoácidos de liberación modificada que permiten superar las desventajas precedentes. Las formulaciones son más agradables al paladar y,

más importante aún, imitan el perfil de liberación de aminoácidos de las fuentes de alimentos naturales. En particular, las formulaciones emplean un mecanismo de retardo de la liberación que modifica la liberación de los aminoácidos de la formulación para imitar la velocidad de liberación de los aminoácidos de las proteínas naturales.

En los ensayos limitados realizados hasta la fecha, hay varios aminoácidos individuales y combinaciones de aminoácidos que, cuando se modifican para lograr criterios de liberación *in vitro* específicos, mostraron mejoras estadísticamente superiores en las concentraciones de aminoácidos en plasma frente a las formulaciones de aminoácidos libres comparables. Por lo tanto, en una primera forma de realización principal, la invención provee una formulación de aminoácidos administrada por vía oral que comprende uno o más aminoácidos de liberación modificada, en donde una formulación que comprende 2 g de los aminoácidos de liberación modificada no libera más de un x% de los aminoácidos de liberación modificada en 30 minutos en una prueba de disolución efectuada en un aparato de paletas <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 450 ó 500 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x% es 90%, 80%, 70%, 60%, 50% o aún 40%.

En un estudio de biodisponibilidad en animales *in vivo*, se descubrió inesperadamente que cuando se modifica isoleucina, leucina, tirosina y valina para su liberación según se describe en la presente, tienen de manera consistente una concentración

máxima en sangre que es significativamente menor que la concentración máxima producida por una formulación de aminoácidos libres comparable. Por lo tanto, en una segunda forma de realización principal, la invención provee una formulación de aminoácidos administrada por vía oral que comprende un aminoácido de liberación modificada seleccionado entre arginina, isoleucina, leucina, tirosina y valina, en donde una formulación que comprende 2 g de los aminoácidos de liberación modificada no libera más de un x% de los aminoácidos de liberación modificada en 30 minutos en una prueba de disolución efectuada en un aparato de paletas <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 450 ó 500 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x% es 90%, 80%, 70%, 60%, 50% o aún 40%.

Otra forma de realización principal se relaciona con un agrupamiento particular de aminoácidos - los aminoácidos de cadena ramificada - y el descubrimiento inesperado que los aminoácidos de cadena ramificada, en la forma de agrupaciones, cuando se modifican para la liberación según se describe en la presente, producen una $C_{\text{máx}}$ significativamente menor y una $C_{\text{última}}$ más elevada que la $C_{\text{máx}}$ y la $C_{\text{última}}$ producida por una formulación de aminoácidos libres comparable. Por lo tanto, en otra forma de realización principal la invención provee una formulación de aminoácidos administrada por vía oral que comprende uno o más aminoácidos de cadena ramificada de liberación modificada, en donde una formulación que comprende 2 g de los aminoácidos de cadena ramificada de liberación modificada no libera más de un x%

de los aminoácidos de liberación modificada en 30 minutos en una prueba de disolución efectuada en un aparato de paletas <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 450 ó 500 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x% es 90%, 80%, 70%, 60%, 50% o aún 40%.

Aún otra forma de realización principal se relaciona con otro agrupamiento particular de aminoácidos - los aminoácidos esenciales - que, cuando se modifican para una liberación según se describe en la presente, producen inesperadamente una $C_{\text{máx}}$ significativamente menor y una $C_{\text{última}}$ significativamente más elevada en comparación con una formulación de aminoácidos libres comparable. Por lo tanto, en aún otra forma de realización principal, la invención provee una formulación de aminoácidos administrada por vía oral que comprende uno o más aminoácidos esenciales de liberación modificada, en donde una formulación que comprende 2 g de los aminoácidos esenciales de liberación modificada no libera más de un x% de los aminoácidos de liberación modificada en 30 minutos en una prueba de disolución efectuada en un aparato de paletas <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 450 ó 500 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x% es 90%, 80%, 70%, 60%, 50% o aún 40%.

Aún otra forma de realización principal se relaciona con otro agrupamiento de aminoácidos - los aminoácidos neutros grandes (excluyendo fenilalanina, tirosina y metionina) - que, cuando se modifican para una liberación según se describe en la presente, producen inesperadamente una $C_{\text{máx}}$ significativamente

menor y una $C_{\text{última}}$ significativamente más elevada en comparación con una formulación de aminoácidos libres comparable. Por lo tanto, en aún otra forma de realización principal, la invención provee una formulación de aminoácidos administrada por vía oral que comprende uno o más aminoácidos neutros grandes de liberación modificada, en donde una formulación que comprende 2 g de los aminoácidos neutros grandes de liberación modificadas no libera más de un x% de los aminoácidos de liberación modificada en 30 minutos en una prueba de disolución realizada en un aparato de paletas <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 450 ó 500 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x% es 90%, 80%, 70%, 60%, 50% o aún 40%.

En una séptima forma de realización principal, la invención provee una formulación de aminoácidos administrada por vía oral que comprende una combinación de aminoácidos no esenciales de liberación modificada, en donde una formulación que comprende 2 g de los aminoácidos de liberación modificada no libera más de un x% de los aminoácidos de liberación modificada en 30 minutos en una prueba de disolución realizada en un aparato de paletas <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 450 ó 500 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x% es 90%, 80%, 70%, 60%, 50% o aún 40%.

Las formulaciones preferiblemente se encuentran en la forma de gránulos comestibles que se pueden mezclar con otros alimentos, tal como yogur, o como comprimidos masticables grandes que no se pueden tragar enteros, sino que se deben ingerir como

una galletitas en varias mordidas. La cantidad de aminoácidos en las formulaciones de dosis unitaria dependerá de la demanda metabólica del individuo bajo tratamiento, que en general depende de la edad, el sexo, peso y actividades físicas del individuo, y si dicho individuo sufre de un trastorno metabólico que pueda limitar la ingesta de uno o más aminoácidos, según se describirá con mayor detalle en la presente.

La formulación puede comprender uno, todos o cualquier combinación de aminoácidos esenciales y no esenciales, y se puede diseñar específicamente para cualquier aplicación donde se desea un suplemento de aminoácidos. Las formulaciones son particularmente adecuadas para el tratamiento de personas con trastornos del procesamiento de aminoácidos tales como fenilcetonuria, tirosinemia, leucinosis, acidemia metilmalónica, homocistinuria, hiperglicinemia, acidemia isovalérica, acidemia propiónica y acidemia glutámica.

La liberación modificada se puede lograr mediante los ingredientes designados de diversas maneras en la presente como agentes retardadores de la liberación, medios para liberar los aminoácidos preferencialmente en el yeyuno, etc. Estos agentes pueden causar una liberación modificada de los aminoácidos de la formulación cuando es ingerida o cuando es evaluada en un medio de disolución. Como alternativa, pueden extender o demorar la liberación de aminoácidos de modo que algunos de los aminoácidos no son liberados hasta un punto posterior en el proceso digestivo, tal como después que la formulación alcanzó el entorno

de mayor pH del intestino delgado. Estos agentes hasta pueden, en una formulación apropiadamente diseñada, liberar un subconjunto de aminoácidos de la formulación a una velocidad de liberación diferente que los demás aminoácidos. Las formulaciones preferiblemente son liberadas sobre la base de su patrón de liberación modificada cuando se evalúan a un valor de pH fijo.

Otros aspectos de la presente invención comprenden el uso de las formulaciones para tratar o gestionar una enfermedad que requiere un manejo cuidadoso de la ingesta de aminoácidos, habitualmente debido a un metabolismo de aminoácidos deficiente. Por lo tanto, en otra forma de realización, la invención provee un método de tratamiento de un trastorno metabólico seleccionado del grupo que consiste en fenilcetonuria, tirosinemia, leucinosis, acidemia metilmalónica, homocistinuria, hiperglicinemia, acidemia isovalérica, acidemia propiónica y acidemia glutámica, en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral una formulación de aminoácidos de la presente invención a dicho paciente.

Aún otra forma de realización provee métodos de elaboración de las formulaciones de la presente invención, y en esta forma de realización la invención provee un método de elaboración de una formulación de la presente invención que comprende: (a) proveer una primera mezcla que comprende un solo o una pluralidad de aminoácidos; (b) poner dicha mezcla en contacto con un agente humectante o un solvente (por ejemplo, un alcohol y/o un solvente

orgánico y/o agua) y un aglutinante para formar una mezcla húmeda; (c) opcionalmente pasar dicha mezcla húmeda a través de un tamiz para formar un granulado húmedo uniforme; (d) secar dicho granulado húmedo uniforme para formar un granulado seco; (e) opcionalmente pasar dicho granulado seco a través de un tamiz para formar un granulado seco uniforme y (f) opcionalmente recubrir el granulado seco con uno o más agentes de recubrimiento para proveer una liberación modificada de dicho granulado seco. Los agentes de recubrimiento adecuados incluyen, por ejemplo, polímeros de celulosa, ácidos grasos, ceras y otros agentes de recubrimientos que puedan proporcionar una liberación modificada a dicho granulado seco. Las técnicas de recubrimiento adecuadas incluyen, por ejemplo, recubrimientos de lecho fluido y granulación por fusión. Los granulados secos se pueden incorporar en cualquier forma de dosificación convencional pero preferiblemente se usan como la forma de dosificación, sin una modificación adicional, donde se pueden mezclar fácilmente con otros ingredientes tales como sabores y excipientes o aditivos inactivos o ingredientes activos tales como vitaminas, minerales y carbohidratos. Como alternativa, los granulados secos se pueden comprimir en un comprimido masticable.

En la descripción que sigue se proveen ventajas adicionales de la invención y en parte resultarán evidentes a partir de la descripción o bien, con la práctica de la invención. Las ventajas de la invención se pueden realizar y obtener por medio de los elementos y combinaciones indicadas particularmente en las

reivindicaciones adjuntas. Se debe tener en cuenta que tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada solamente se ofrecen a modo de ejemplo y a efectos de una mayor explicación y no restringen la invención reivindicada.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 es una tabla de los 19 aminoácidos usados por el cuerpo humano para sintetizar proteínas, y los clasifica de acuerdo con su estructura y propiedades, a saber, alifáticos, aromáticos, ácidos, básicos, azufrados y pK_a .

La Figura 2 es una tabla de aminoácidos esenciales, es decir aquellos aminoácidos que no son producidos en el cuerpo a través de síntesis bioquímica, sino que se deben ingerir con la dieta, como lo informa Montgomery y col., 1988.

La Figura 3 es una representación gráfica del perfil de liberación a lo largo del tiempo de triptófano si recubrir elaborado de acuerdo con el método del Ejemplo 7, usando dos velocidades de paletas diferentes, en comparación con el triptófano que se formula de acuerdo con la presente invención.

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

La Figura 5 es una representación gráfica del perfil de liberación de triptófano a lo largo del tiempo a partir de la formulación del Ejemplo 9 cuando se la somete a las condiciones experimentales que se describen en el Ejemplo 8 pero usando el

método de canasta en lugar del de paleta.

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

La Figura 7 es una representación gráfica del perfil de disolución ponderal de la formulación de aminoácidos libres que se describe en el Ejemplo 11, Tabla 10b, ensayada de acuerdo con los métodos que se describen en el Ejemplo 11.

La Figura 8 es una gráfica del perfil de disolución para los 18 aminoácidos separados de la mezcla APR AA (bkT037/71)

La Figura 9 es una representación gráfica del perfil de disolución ponderal de cuatro formulaciones separadas de aminoácidos recubiertos con etilcelulosa de liberación modificada, elaboradas y ensayadas de acuerdo con los métodos y la formulación informada en el Ejemplo 11 y Tabla 10d y 10e.

La Figura 10 es una gráfica del perfil de disolución para los 18 aminoácidos separados de APR Lote 2 (bkT037/72-2), Tabla 10f, cuando se los ensaya de acuerdo con los métodos informados en el Ejemplo 11.

La Figura 11 es una gráfica del perfil de disolución para los 18 aminoácidos separados de APR Lote 4 (bkT037/72-4), Tabla 10g, cuando se los ensaya de acuerdo con los métodos informados en el Ejemplo 11.

La Figura 12 es una gráfica del perfil de disolución

ponderal agregado de aminoácidos de cuatro formulaciones separadas de aminoácidos recubiertos con etilcelulosa/dibehenato de glicerilo de liberación modificada, elaboradas y ensayadas según se describe en el Ejemplo 12, con las composiciones que se describen en Tabla 11a.

La Figura 13 es una gráfica del perfil de disolución de 18 aminoácidos separados de APR Lote 5 (bkT037/73-5) (Tabla 11c), cuando se los ensaya de acuerdo con los métodos informados en el Ejemplo 12.

La Figura 14 es una gráfica del perfil de disolución de 18 aminoácidos separados de APR Lote 7 (bkT037/72-7) (Tabla 11d), cuando se los ensaya de acuerdo con los métodos informados en el Ejemplo 12.

La Figura 15 muestra los perfiles de disolución ponderales agregados de aminoácidos de cuatro formulaciones de ensayo separadas de la presente invención (APR Lote 2/bkT037/72-2, APR Lote 4/bkT037/72-4, APR Lote 5/bkT037/73-5, APR Lote 7/bkT037/72-7) y la mezcla de aminoácidos libres bkT037/71, elaboradas y ensayadas según se describe en Ejemplos 11 y 12.

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

La Figura 17 informa las concentraciones plasmáticas medias

en cerdos de los aminoácidos esenciales a lo largo del tiempo, en base a valores agregados, de dos formulaciones de aminoácidos separadas de liberación modificada de la presente invención, una formulación de aminoácidos libre, y caseína, según se describe en el Ejemplo 14.

La Figura 18 informa las concentraciones plasmáticas medias de los aminoácidos de cadena ramificada a lo largo del tiempo en cerdos, en base a valores agregados, de dos formulaciones de aminoácidos separadas de liberación modificada de la presente invención, una formulación de aminoácidos libre, y caseína, según se describe en el Ejemplo 14.

La Figura 19 informa las concentraciones plasmáticas medias de aminoácidos de cadena neutra grande a lo largo del tiempo en cerdos, en base a valores agregados, de dos formulaciones de aminoácidos separadas de liberación modificada de la presente invención, una formulación de aminoácidos libre, y caseína, según se describe en el Ejemplo 14.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Definiciones

Cuando en la presente se utilizan las formas en singular "una", "un" y "el/la" u otros términos similares, se entenderá que las mismas incluyen a los referentes en plural a no ser que el contexto dicte claramente otra cosa. Por lo tanto, por ejemplo, una referencia a "un hidrocarburo" incluye a las mezclas de dos o más de dichos hidrocarburos, etcétera. La palabra "o" o los términos similares que se usan en la presente se refieren a

un miembro cualquiera de una lista en particular y también incluyen a cualquier combinación de miembros de dicha lista.

Cuando en la presente se utiliza el término "aproximadamente" o "ca". compensará la variabilidad que se acepta en la industria farmacéutica y que es inherente a los productos farmacéuticos, por ejemplo las diferencias de fuerza del producto y la biodisponibilidad debida a variaciones en la elaboración y degradación del producto inducida por el tiempo. El término abarca cualquier variación que en la práctica farmacéutica permita que el producto se considere farmacéuticamente equivalente o bioequivalente, o también, si el contexto lo requiere, de la fuerza declarada de un producto que se reivindica. Se entenderá que todos los valores numéricos que se expresan en este documento pueden estar precedidos por el término "aproximadamente".

El término "independientemente" se utiliza con la intención de significar que los elementos particulares modificados por un conjunto de variables potenciales pueden estar definidos por la misma variable o no. Por lo tanto, por ejemplo, si una composición comprende $z\%$ del elemento A y $z\%$ del elemento B, y z puede ser independientemente 10% o 20%, la composición puede comprender 10% del elemento A y 10% del elemento B, o 10% del elemento A y 20% del elemento B, etc.

El término "aminoácido" se refiere a cualquier aminoácido de origen natural capaz de participar en la síntesis de péptidos y proteínas. Para una mayor facilidad al realizar el esbozo, el

aminoácido frecuentemente se escribirá sin su configuración espacial, aunque se entenderá que el aminoácido debería estar presente como su estereoisómero natural original.

En las formulaciones de la presente invención, los aminoácidos pueden estar presentes como la base libre, como la sal clorhidrato, o como otra sal apropiada. La expresión "aminoácido esencial" se refiere a cualquier aminoácido que el cuerpo no sea capaz de fabricar por sí mismo, y que se debe obtener de una fuente externa. Los aminoácidos esenciales que se pueden incluir en las formulaciones de la presente invención incluyen: L-Isoleucina, L-Leucina, L-Lisina, L-Treonina, L-Triptofano, L-Valina, L-Metionina, L-Fenilalanina, L-Histidina y L-Arginina o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables (de las cuales estas dos últimas solo se consideran esenciales para bebés aunque, para simplificar, en la presente se consideran "aminoácidos esenciales").

La expresión "aminoácido no esencial" se refiere a cualquier aminoácido diferente de los aminoácidos esenciales, y por lo tanto incluye por ejemplo a: L-Alanina, Ácido L-aspártico, L-Cistina, L-Glutamina y/o Ácido L-glutámico, Glicina, L-Prolina, L-Serina, Taurina, L-Tirosina, y L-Carnitina o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables. Cualquiera de dichos aminoácidos puede estar presente como la base libre, la sal clorhidrato, o cualquier otra sal apropiada.

La expresión "aminoácidos de cadena ramificada" se refiere a valina, isoleucina, y leucina, o cualquiera de sus sales

farmacéuticamente aceptables.

La expresión "aminoácidos neutros grandes" en una forma de realización se refiere a triptofano, treonina, valina, isoleucina, leucina, y histidina, o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables. En otra forma de realización el término también incluye a fenilalanina, metionina y tirosina.

El término "formulación" se refiere a una combinación terminada o semi-terminada de ingredientes farmacéuticos o dietéticos de uso médico o alimenticios, que incluyen tanto ingredientes activos como excipientes o aditivos inactivos. El término se refiere a formulaciones en proceso, formulaciones terminadas, y formulaciones envasadas como una dosis unitaria final.

En toda la descripción y las reivindicaciones de la presente memoria descriptiva, la palabra "comprende" y las variaciones de dicha palabra, por ejemplo "que comprende" y "comprende", significan "incluyendo, pero de manera no taxativa", y no se utiliza con la intención de excluir, por ejemplo, a otros aditivos, componentes, números enteros o pasos.

Cuando en la presente se utilizan los términos "tratar" y "tratamiento", se refieren a la gestión médica de un paciente con la intención de curar, mejorar, estabilizar, o prevenir una enfermedad, condición patológica, o trastorno. Dicho término incluye al tratamiento activo, es decir, al tratamiento dirigido específicamente a conseguir mejoras en una enfermedad, condición patológica, o trastorno, y también incluye al tratamiento causal,

es decir, al tratamiento dirigido a eliminar la causa de la enfermedad, condición patológica, o trastorno asociados. Además, dicho término incluye al tratamiento paliativo, es decir, al tratamiento diseñado para aliviar síntomas más que para curar la enfermedad, condición patológica, o trastorno; al tratamiento preventivo, es decir, al tratamiento dirigido a minimizar o inhibir parcialmente o por completo el desarrollo de la enfermedad, condición patológica, o trastorno asociados; y al tratamiento de apoyo, es decir, al tratamiento que se emplea para suplementar otra terapia específica dirigida a obtener mejoras en la enfermedad, condición patológica, o trastorno asociados. El término incluye también a la gestión dietaria de un paciente que, debido a una enfermedad o condición médica específica, tiene una limitada o disminuida su capacidad de ingerir, digerir, adsorber o metabolizar materias alimenticias o nutrientes o que tiene otros requerimientos especiales de nutrientes determinados médicamente, cuya gestión dietaria no se puede obtener solo mediante la modificación de la dieta normal.

La expresión "liberación modificada" se refiere a cualquier formulación farmacéutica cuya velocidad de liberación se ha alterado intencionalmente para obtener una respuesta terapéutica o farmacocinética que se desea. De esa manera, el término incluye a las formulaciones de liberación extendida, en las cuales la liberación del fármaco se ha extendido durante el transcurso del tiempo, o una velocidad de liberación que es independiente del pH del ambiente circundante. El término también incluye a las

formulaciones de liberación retardada, donde la liberación del ingrediente activo desde la formulación (o una porción del mismo) se retarda para que ocurra luego de la ingestión inicial. Una formulación de liberación retardada típicamente se diseña de manera tal que la liberación ocurra predominantemente una vez que la formulación alcance el intestino delgado.

Según se usa en la presente, "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad suficiente para suscitar la respuesta biológica que se desea. La cantidad o dosis terapéuticamente eficaz dependerá de la edad, el sexo y el peso del paciente, y de la condición médica actual del paciente. El técnico con experiencia será capaz de determinar cuáles son las dosificaciones apropiadas, dependiendo de dichos factores y otros, además de la presente invención. Cuando se utiliza para hacer referencia a nutrientes tales como aminoácidos, minerales, vitaminas, etc., el término se refiere a aquella cantidad que generalmente se reconoce como necesaria para sostener las necesidades metabólicas del cuerpo humano.

"Farmacéuticamente aceptable" significa que el compuesto es útil para preparar una composición farmacéutica que es en general segura, que no es tóxica ni indeseable de otra manera, e incluye a aquellos compuestos que son veterinariamente aceptables, así como farmacéuticamente aceptables en seres humanos. "Sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales que son farmacéuticamente aceptables o que son aceptables en dietéticas médica o como alimentos, según se definió antes, y que poseen la

actividad farmacológica o nutritiva que se desea.

Cuando en la presente se expresan rangos especificando límites superiores e inferiores alternativos del rango, se entenderá que los puntos finales se pueden combinar de cualquier manera que sea matemáticamente factible. Por lo tanto, por ejemplo, un rango entre 50 o 80 y 100 o 70 se puede expresar de manera alternativa como una serie de rangos entre 50 y 100, entre 50 y 70, y entre 80 y 100. Cuando hay una serie de límites superiores y límites inferiores relacionados usando la expresión y/o, se entenderá que los límites superiores pueden no estar limitados por los límites inferiores o bien se pueden combinar con los límites inferiores, y viceversa. Por lo tanto, por ejemplo, un rango entre más del 40% y/o menos del 80% incluye a los rangos de "mayor al 40%", "menor al 80%", y "mayor al 40% pero menor al 80%".

Cuando en la presente se da una metodología de prueba específica de la United States Pharmacopoeia o de otro compendio aceptado por la industria, se entenderá que el método para prueba se puede modificar de acuerdo con las prácticas usuales y de costumbre sin alterar los principios físicos básicos no los resultados finales en base a la experiencia convencional del técnico con experiencia, y los ejemplos que se dan en la presente, por ejemplo, según pueda ser necesario para probar diferentes formas de dosificación.

Cuando en la presente se dan porcentajes, se entenderá que los porcentajes en peso, y que las proporciones son en base al

peso, a no ser que se especifique otra cosa.

Exposición

La invención se define en términos de formas de realización principales y formas de realización secundarias, y se entenderá que las formas de realización principales se pueden combinar para definir otras formas de realización principales, que las formas de realización secundarias se pueden combinar para definir formas de realización secundarias adicionales, y que las formas de realización secundarias y combinaciones de formas de realización secundarias se pueden combinar con todas las formas de realización principales para definir formas de realización adicionales de la presente invención. La capacidad de combinar formas de realización y formas de realización secundarias solo está limitada por lo que sea matemáticamente o físicamente imposible.

En una primera forma de realización principal, la invención provee una formulación de aminoácidos para administrar por vía oral que comprende uno o más aminoácidos de liberación modificada en donde una formulación que comprende 2 g de los aminoácidos de liberación modificada no libera más de un x% de los aminoácidos de liberación modificada en 30 minutos en las pruebas de disolución, cuando se llevan a cabo en un aparato de paletas <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 450 o 500 ml, de ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x% es 90%, 80%, 70%, 60%, 50% o aún 40%.

En una segunda forma de realización principal, la invención

provee una formulación de aminoácidos para administrar por vía oral que comprende un aminoácido de liberación modificada que se puede seleccionar entre arginina, isoleucina, leucina, tirosina y valina, en donde una formulación que comprende 2 g de los aminoácidos de liberación modificada no libera más de un x% de los aminoácidos de liberación modificada en 30 minutos en las pruebas de disolución, cuando se llevan a cabo en un aparato de paletas <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 450 o 500 ml, de ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x% es 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, o aún 40%.

En una tercera forma de realización principal, la invención provee una formulación de aminoácidos para administrar por vía oral que comprende aminoácidos de liberación modificada de cadena ramificada, en donde una formulación que comprende 2 g de los aminoácidos de liberación modificada no libera más de un x% de los aminoácidos de liberación modificada en 30 minutos en las pruebas de disolución, cuando se llevan a cabo en un aparato de paletas <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 450 o 500 ml, de ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x% es 90%, 80%, 70%, 60%, 50% o aún 40%. En una forma de realización preferida, la formulación incluye valina, isoleucina y leucina de liberación modificada.

En una cuarta forma de realización principal, la invención provee una formulación de aminoácidos para administrar por vía oral que comprende una combinación de aminoácidos esenciales de liberación modificada en donde una formulación que comprende 2 g

de los aminoácidos de liberación modificada no libera más de un x% de los aminoácidos de liberación modificada en 30 minutos en las pruebas de disolución, cuando se llevan a cabo en un aparato de paletas <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 450 o 500 ml, de ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x% es 90%, 80%, 70%, 60%, 50% o aún 40%. En una forma de realización, preferida los aminoácidos de liberación modificada incluyen Arginina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Treonina, Lisina y Triptofano.

En una quinta forma de realización principal, la invención provee una formulación de aminoácidos para administrar por vía oral que comprende aminoácidos de liberación modificada neutros grandes, en donde una formulación que comprende 2 g de los aminoácidos de liberación modificada neutros grandes no libera más de un x% de los aminoácidos de liberación modificada en 30 minutos en las pruebas de disolución, cuando se llevan a cabo en un aparato de paletas <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 450 o 500 ml, de ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x% es 90%, 80%, 70%, 60%, 50% o aún 40%. En una forma de realización preferida, la formulación incluye liberación modificada incluye triptofano, treonina, valina, isoleucina, leucina, y histidina.

En una sexta forma de realización principal, la invención provee un método para tratar un trastorno metabólico que se puede seleccionar entre el grupo que consiste en fenilcetonuria, tirosinamia, leucinosis, acidosis metilmalónica, homocisteinuria,

hiperglicinamia, acidosis isovalérica, acidosis propiónica, y acidosis glutámica, en un paciente que lo necesita, que comprende administrar en forma oral al paciente una formulación de la presente invención definida por cualquiera de las formas de realización principales o las formas de realización secundarias.

En una séptima forma de realización principal, la invención provee una formulación de aminoácidos para administrar por vía oral que comprende una combinación de liberación modificada de aminoácidos no esenciales en donde una formulación que comprende 2 g de los aminoácidos de liberación modificada no libera más de un x% de los aminoácidos de liberación modificada en 30 minutos en las pruebas de disolución, cuando se llevan a cabo en un aparato de paletas <711> USP 39 NF 34, a 37 °C, en 450 o 500 ml, de ácido clorhídrico 0,1 N (pH 1,2), velocidad de paleta 50 rpm, en donde x% es 90%, 80%, 70%, 60%, 50% o aún 40%.

En diversas formas de realización secundarias, la formulación puede comprender un aminoácido esencial y no esencial, todos ellos, o cualquier combinación de los mismos, y se puede diseñar específicamente para cualquier aplicación donde se desea una suplementación con aminoácidos. Las formulaciones son particularmente apropiadas para el tratamiento de personas con trastornos en el procesamiento de los aminoácidos tales como la fenilcetonuria, tirosinamia, leucinosis, acidosis metilmalónica, homocisteinuria, hiperglicinamia, acidosis isovalérica, acidosis propiónica, y acidosis glutámica. Otras formas de realización secundarias más particulares se describen

más específicamente en las Tablas B-D. Sin embargo, se entenderá que a dichas formulaciones se les debería incorporar cierta flexibilidad para tomar en consideración, por ejemplo, los requerimientos de aminoácidos de bebés y niños, que pueden hacer que algunos de los aminoácido queden fuera de las proporciones requeridas.

En la Tabla B se presentan las partes en peso relativas de diecinueve aminoácidos, para utilizar generalmente como aminoácidos de liberación modificada en formulaciones para la suplementación con aminoácidos, así como la fenilcetonuria y la tirosinamia. La Columna A presenta los rangos preferidos de proporciones de aminoácidos apropiadas, mientras que la columna B presenta los rangos más preferidos de proporciones apropiadas. La Tabla B solo describe las proporciones relativas de aminoácidos en la formulación. Por lo tanto, se pueden incluir otros ingredientes. Las velocidades de liberación de aminoácidos agregadas de las formulaciones descritas en la Tabla B preferiblemente son según se declara en la primera forma de realización principal.

Tabla B

	General		Fenilcetonuria		Tirosinamia	
	A	B	A	B	A	B
L-alanina	2,0-12,0	2,0-7,0	2,0-12,0	2,0-7,0	2,0-12,0	3,5-5,0
L-Arginina	3,0-10,5	3,0-8,2	3,0-10,5	3,0-8,0	3,0-10,5	7,0-8,0
Ácido L-aspartico	5,0-10,5	5,0-10,5	5,0-10,5	5,0-10,5	5,0-10,5	6,0-8,0
L-Cistina	1,5-4,0	1,5-4,0	1,5-4,0	1,0-3,0	1,5-4,0	2,5-3,5
Ácido L-glutámico + Glutamina	7,0-25,0	10,0-22,0	7,0-25,0	11,0-22,0	7,0-25,0	8,0-12,0

Glicina	3,5-15,0	4,0-8,0	3,5-15,0	4,0-6,0	3,5-15,0	6,0-8,0
L-Histidina	2,0-6,5	2,5-5,0	2,0-6,5	2,0-3,5	2,0-6,5	4,0-5,0
L-Isoleucina	2,0-8,5	4,0-7,0	2,0-8,5	4,5-6,5	2,0-8,5	6,0-8,0
L-Leucina	8,0-15,0	8,0-14,0	8,0-15,0	8,0-13,0	8,0-15,0	10,0-12,5
L-lisina	4,5-10,5	4,9-9,0	4,5-10,5	4,9-8,0	4,5-10,5	7,5-9,5
L-Metionina	1,0-3,0	1,0-3,0	1,0-3,0	1,0-3,0	1,0-3,0	1,5-2,5
L-fenilalanina	4,0-7,5	4,5-7,0	0,0	0,0	0,0	0,0
L-prolina	3,5-15,0	4,0-10,0	3,5-15,0	5,0-8,2	3,5-15,0	7,5-9,0
L-serina	2,0-8,5	3,0-7,0	2,0-8,5	3,0-7,0	2,0-8,5	4,5-6,0
L-Treonina	4,0-7,5	4,0-6,5	4,0-7,5	4,0-6,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptofano	1,0-4,0	1,5-3,0	1,0-4,0	1,5-3,0	1,0-4,0	1,5-3,0
L-Tirosina	2,5-14,0	6,5-12,0	2,5-14,0	6,5-12,0	0,0	0,0
L-Valina	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	6,5-8,0
L-Carnitina	0,0-0,2	0,05-0,2	0,0-0,2	0,05-0,2	0,0-0,2	0,0-0,2
Taurina	0,05-1,0	0,1-0,7	0,05-1,0	0,2-0,5	0,05-1,0	0,05-0,5

Se definen formas de realización adicionales cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a tres o más, cinco o más, 10 o más, o 15 o más, o aún a todos los aminoácidos que abarcan a las formulaciones generales de la Tabla B (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Se definen formas de realización adicionales cuando la primera forma de realización principal incluyen como aminoácidos de liberación modificada a los aminoácidos esenciales, los aminoácidos de cadena ramificada, o los aminoácidos neutros grandes que abarcan a las formulaciones generales de la Tabla B (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan

en las columnas A o B.

Las Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a tres o más, cinco o más, 10 o más, o 15 o más, o aún a todos los aminoácidos que abarcan a las formulaciones para fenilcetonuria de la Tabla B (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a los aminoácidos esenciales, los aminoácidos de cadena ramificada, o los aminoácidos neutros grandes que abarcan a las formulaciones para fenilcetonuria de la Tabla B (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a tres o más, cinco o más, 10 o más, o 15 o más, o aún a todos los aminoácidos que abarcan a las formulaciones para tirosinamia de la Tabla B (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a los aminoácidos esenciales, los aminoácidos de cadena ramificada, o los aminoácidos neutros

grandes que abarcan a las formulaciones para tirosinamia de la Tabla B (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

La Tabla C presenta partes en peso relativas de diecinueve aminoácidos para utilizar como aminoácidos de liberación modificada para la leucinosis, acidosis metilmalónica, acidosis propiónica, y acidosis glutárica. La Columna A presenta los rangos preferidos de proporciones de aminoácidos apropiadas para cada uno de dichos trastornos metabólicos, mientras que la columna B presenta los rangos más preferidos de proporciones apropiadas. La Tabla C solo describe las proporciones relativas de aminoácidos en la formulación. Por lo tanto, se pueden incluir otros ingredientes. Las velocidades de liberación de aminoácidos agregadas de cualquiera de las formulaciones descritas en la Tabla C preferiblemente son según se declara en la primera forma de realización principal.

Tabla C

	Leucinosis		Acidosis metilmalónica o acidosis propiónica		Acidosis glutárica	
	A	B	A	B	A	B
L-alanina	2,0-12,0	4,5-6,0	2,0-12,0	9,0-11,0	2,0-12,0	4,0-5,0
L-Arginina	3,0-10,5	8,5-10,5	3,0-10,5	8,0-10,0	3,0-10,5	7,0-8,5
Ácido L-aspártico	5,0-10,5	7,0-8,5	5,0-10,5	7,0-9,0	5,0-10,5	6,0-7,0
L-Cistina	1,5-4,0	3,0-4,0	1,5-4,0	3,0-4,0	1,5-4,0	2,5-3,5
Ácido L-glutámico + Glutamina	7,0-25,0	9,0-13,0	7,0-25,0	9,0-11,0	7,0-25,0	8,0-10,0
Glicina	3,5-	7,5-9,5	3,5-	3,5-4,5	3,5-	6,5-8,0

	15,0		15,0		15,0	
L-Histidina	2,0-6,5	4,5-6,0	2,0-6,5	5,5-7,0	2,0-6,5	3,5-5,5
L-Isoleucina	0,0	0,0	0,0-0,5	0,0-0,5	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	12,0-15,0	10,0-15,0	10,5-13,0
L-lisina	4,5-10,5	8,5-10,5	4,5-10,5	8,0-10,5	0,0	0,0
L-Metionina	1,0-3,0	1,5-3,0	0,0	0,0	1,0-3,0	1,5-2,5
L-fenilalanina	4,0-7,5	5,5-7,0	4,0-7,5	5,5-7,5	4,0-7,5	4,5-6,0
L-prolina	3,5-15,0	9,5-11,0	3,5-15,0	3,5-5,0	3,5-15,0	7,5-9,0
L-serina	2,0-8,5	5,5-7,5	2,0-8,5	5,0-6,5	2,0-8,5	4,5-6,0
L-Treonina	4,0-7,5	6,5-8,0	0,0	0,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptofano	1,0-4,0	2,5-3,5	1,0-4,0	2,0-3,5	0,0-0,5	0,0-0,5
L-Tirosina	2,5-14,0	2,5-7,0	2,5-14,0	5,0-7,0	2,5-14,0	4,5-6,0
L-Valina	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5-10,0	6,5-8,0
L-Carnitina	0,0-0,2	0,02-0,12	0,0-0,2	0,0-0,15	0,0-0,2	0,0-0,2
Taurina	0,05-1,0	0,05-1,0	0,05-1,0	0,05-1,0	0,05-1,0	0,5-0,5

realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a tres o más, cinco o más, 10 o más, o 15 o más, o aún a todos los aminoácidos que abarcan a las formulaciones para leucinosis de la Tabla C (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a los aminoácidos esenciales, los aminoácidos de cadena ramificada, o los aminoácidos neutros

grandes que abarcan a las formulaciones para leucinosis de la Tabla C (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a tres o más, cinco o más, 10 o más, o 15 o más, o aún a todos los aminoácidos que abarcan a las formulaciones para acidosis metilmalónica de la Tabla C (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a los aminoácidos esenciales, los aminoácidos de cadena ramificada, o los aminoácidos neutros grandes que abarcan a las formulaciones para acidosis metilmalónica de la Tabla C (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a tres o más, cinco o más, 10 o más, o 15 o más, o aún a todos los aminoácidos que abarcan a las formulaciones para acidosis propiónica de la Tabla C (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos

de liberación modificada a los aminoácidos esenciales, los aminoácidos de cadena ramificada, o los aminoácidos neutros grandes que abarcan a las formulaciones para acidosis propiónica de la Tabla C (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a tres o más, cinco o más, 10 o más, o 15 o más, o aún a todos los aminoácidos que abarcan a las formulaciones para acidosis glutárica de la Tabla C (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a los aminoácidos esenciales, los aminoácidos de cadena ramificada, o los aminoácidos neutros grandes que abarcan a las formulaciones para acidosis glutárica de la Tabla C (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

La Tabla D presenta partes en peso relativas de diecinueve aminoácidos para utilizar como aminoácidos de liberación modificada en acidosis isovalérica, homocisteinuria, y hiperglicinamia. La Columna A presenta los rangos preferidos de proporciones de aminoácidos apropiadas para cada uno de dichos trastornos metabólicos, mientras que la columna B presenta más rangos preferidos de proporciones apropiadas. La Tabla D solo

describe las proporciones relativas de aminoácidos en la formulación. Por lo tanto, se pueden incluir otros ingredientes. Las velocidades de liberación de aminoácidos agregadas de cualquiera de las formulaciones descritas en la Tabla D preferiblemente son según se declara en la primera forma de realización principal.

Tabla D

	Acidosis isovalérica		Homcisteinuria		Hiperglicinamia	
	A	B	A	B	A	B
L-alanina	2,0-12,0	4,0-6,0	2,0-12,0	3,0-5,0	2,0-12,0	3,5-5,0
L-Arginina	3,0-10,5	7,0-9,0	3,0-10,5	6,5-8,0	3,0-10,5	6,5-8,5
Ácido L-aspártico	5,0-10	6,0-7,0	5,0-10,0	5,0-7,0	5,0-10,0	6,0-8,0
L-Cistina	1,5-4,0	2,5-3,5	1,5-4,0	2,0-3,0	1,5-4,0	2,0-3,5
Ácido L-glutámico + Glutamina	7,0-25,0	8,0-9,5	7,0-25,0	7,5-9,0	7,0-25,0	7,0-10,0
Glicina	3,5-15,0	13,0-16,0	3,5-15,0	5,5-7,0	0,0	0,0
L-Histidina	2,0-6,5	4,0-5,0	2,0-6,5	3,5-4,5	2,0-6,5	4,0-5,0
L-Isoleucina	2,0-8,5	2,0-3,5	2,0-8,5	5,5-7,0	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	10,0-12,0	10,0-15,0	10,0-12,5
L-lisina	4,5-10,5	6,0-7,5	4,5-10,5	7,0-8,0	4,5-10,5	7,0-8,5
L-Metionina	1,0-3,0	1,5-2,5	0,0	0,0	1,0-3,0	1,0-2,5
L-fenilalanina	4,0-7,5	5,0-6,0	4,0-7,5	4,0-5,5	4,0-7,5	4,5-6,0
L-prolina	3,5-15,0	13,0-15,0	3,5-15,0	7,0-8,5	3,5-15,0	7,0-9,0
L-serina	2,0-8,5	4,0-5,0	2,5-8,5	5,0-8,5	2,5-8,5	4,5-5,5
L-Treonina	4,0-7,5	4,0-5,5	4,0-7,5	5,0-6,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptofano	1,0-4,0	1,5-2,5	1,0-4,0	1,5-2,5	1,0-4,0	2,0-3,0
L-Tirosina	2,5-14,0	4,5-6,0	2,5-14,0	4,5-6,0	2,5-14,0	4,0-6,0
L-Valina	2,5-10,0	2,5-4,0	2,5-8,0	6,0-8,0	2,5-10,0	6,0-8,0

L-Carnitina	0,0-0,2	0,0-0,15	0,0-0,2	0,0-0,1	0,0-0,2	0,05-0,2
Taurina	0,05-1,0	0,05-0,5	0,05-1,0	0,5-0,5	0,05-1,0	0,1-0,5

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a tres o más, cinco o más, 10 o más, o 15 o más, o aún a todos los aminoácidos que abarcan a las formulaciones para acidosis isovalérica de la Tabla D (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a los aminoácidos esenciales, los aminoácidos de cadena ramificada, o los aminoácidos neutros grandes que abarcan a las formulaciones para acidosis isovalérica de la Tabla D (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a tres o más, cinco o más, 10 o más, o 15 o más, o aún a todos los aminoácidos que abarcan a las formulaciones para homocisteinuria de la Tabla D (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a los aminoácidos esenciales, los

aminoácidos de cadena ramificada, o los aminoácidos neutros grandes que abarcan a las formulaciones para homocisteinuria de la Tabla D (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a tres o más, cinco o más, 10 o más, o 15 o más, o aún a todos los aminoácidos que abarcan a las formulaciones para hiperglicinamia de la Tabla D (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización adicionales se definen cuando la primera forma de realización principal incluye como aminoácidos de liberación modificada a los aminoácidos esenciales, los aminoácidos de cadena ramificada, o los aminoácidos neutros grandes que abarcan a las formulaciones para hiperglicinamia de la Tabla D (definidos por la Columna A o B) en las proporciones que se dan en las columnas A o B.

Otras formas de realización secundarias adicionales se definen cuando la tercera forma de realización principal está limitada por las proporciones relativas de aminoácidos de cadena ramificada que se declara en la Tabla E1-E3.

Tabla E1

	General		Fenilcetonuria		Tirosinamia	
	A	B	A	B	A	B
L-	2, 0-	4, 0-	2, 0-	4, 5-6, 5	2, 0-	6, 0-

Isoleucina	8,5	7,0	8,5		8,5	8,0
L-Leucina	8,0-15,0	8,0-14,0	8,0-15,0	8,0-13,0	8,0-15,0	10,0-12,5
L-Valina	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	6,5-8,0

Tabla E2

	Leucinosis		Acidosis metilmalónica o acidosis propiónica		Acidosis glutárica	
	A	B	A	B	A	B
L-Isoleucina	0,0	0,0	0,0-0,5	0,0-0,5	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	12,0-15,0	10,0-15,0	10,5-13,0
L-Valina	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5-10,0	6,5-8,0

Tabla E3

	Acidosis isovalérica		Homcisteinuria		Hiperglicinamia	
	A	B	A	B	A	B
L-Isoleucina	2,0-8,5	2,0-3,5	2,0-8,5	5,5-7,0	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	10,0-12,0	10,0-15,0	10,0-12,5
L-Valina	2,5-10,0	2,5-4,0	2,5-8,0	6,0-8,0	2,5-10,0	6,0-8,0

Otras formas de realización secundarias adicionales se definen cuando la cuarta forma de realización principal está limitada por las proporciones relativas de aminoácidos esenciales (Arginina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Treonina, Triptofano y Valina) declarada en las Tablas F1-F3.

Tabla F1

	General		Fenilcetonuria		Tirosinamia	
	A	B	A	B	A	B
L-Arginina	3,0-10,5	3,0-8,2	3,0-10,5	3,0-8,0	3,0-10,5	7,0-8,0
L-Histidina	2,0-6,5	2,5-5,0	2,0-6,5	2,0-3,5	2,0-6,5	4,0-5,0
L-Isoleucina	2,0-8,5	4,0-7,0	2,0-8,5	4,5-6,5	2,0-8,5	6,0-8,0
L-Leucina	8,0-15,0	8,0-14,0	8,0-15,0	8,0-13,0	8,0-15,0	10,0-12,5
L-lisina	4,5-10,5	4,9-9,0	4,5-10,5	4,9-8,0	4,5-10,5	7,5-9,5
L-Treonina	4,0-7,5	4,0-6,5	4,0-7,5	4,0-6,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptofano	1,0-4,0	1,5-3,0	1,0-4,0	1,5-3,0	1,0-4,0	1,5-3,0
L-Valina	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	4,0-8,0	2,5-10,0	6,5-8,0

Tabla F2

	Leucinosis		Acidosis metilmalónica o acidosis propiónica		Acidosis glutárica	
	A	B	A	B	A	B
L-Arginina	3,0-10,5	8,5-10,5	3,0-10,5	8,0-10,0	3,0-10,5	7,0-8,5
L-Histidina	2,0-6,5	4,5-6,0	2,0-6,5	5,5-7,0	2,0-6,5	3,5-5,5
L-Isoleucina	0,0	0,0	0,0-0,5	0,0-0,5	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	12,0-15,0	10,0-15,0	10,5-13,0
L-lisina	4,5-10,5	8,5-10,5	4,5-10,5	8,0-10,5	0,0	0,0
L-Treonina	4,0-7,5	6,5-8,0	0,0	0,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptofano	1,0-4,0	2,5-3,5	1,0-4,0	2,0-3,5	0,0-0,5	0,0-0,5
L-Valina	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5-10,0	6,5-8,0

Tabla F3

	Acidosis isovalérica	Homcisteinuria	Hiperglicinamia
--	----------------------	----------------	-----------------

	A	B	A	B	A	B
L-Arginina	3,0-10,5	7,0-9,0	3,0-10,5	6,5-8,0	3,0-10,5	6,5-8,5
L-Histidina	2,0-6,5	4,0-5,0	2,0-6,5	3,5-4,5	2,0-6,5	4,0-5,0
L-Isoleucina	2,0-8,5	2,0-3,5	2,0-8,5	5,5-7,0	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	10,0-12,0	10,0-15,0	10,0-12,5
L-lisina	4,5-10,5	6,0-7,5	4,5-10,5	7,0-8,0	4,5-10,5	7,0-8,5
L-Treonina	4,0-7,5	4,0-5,5	4,0-7,5	5,0-6,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptofano	1,0-4,0	1,5-2,5	1,0-4,0	1,5-2,5	1,0-4,0	2,0-3,0
L-Valina	2,5-10,0	2,5-4,0	2,5-8,0	6,0-8,0	2,5-10,0	6,0-8,0

Otras formas de realización secundarias adicionales se definen cuando la quinta forma de realización principal está limitada por las proporciones relativas de aminoácidos neutros grandes que se declara en la Tabla G1-G3.

Tabla G1

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

Tabla G3

	Leucinosis		Acidosis metilmalónica o acidosis propiónica		Acidosis glutárica	
	A	B	A	B	A	B
L-Histidina	2,0-6,5	4,5-6,0	2,0-6,5	5,5-7,0	2,0-6,5	3,5-5,5
L-	0,0	0,0	0,0-0,5	0,0-0,5	2,0-	6,0-8,5

Isoleucina					8,5	
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	12,0-15,0	10,0-15,0	10,5-13,0
L-Treonina	4,0-7,5	6,5-8,0	0,0	0,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptofano	1,0-4,0	2,5-3,5	1,0-4,0	2,0-3,5	0,0-0,5	0,0-0,5
L-Valina	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5-10,0	6,5-8,0

Tabla G3

	Acidosis isovalérica		Homcisteinuria		Hiperglicinamia	
	A	B	A	B	A	B
L-Histidina	2,0-6,5	4,0-5,0	2,0-6,5	3,5-4,5	2,0-6,5	4,0-5,0
L-Isoleucina	2,0-8,5	2,0-3,5	2,0-8,5	5,5-7,0	2,0-8,5	6,0-8,5
L-Leucina	0,0	0,0	10,0-15,0	10,0-12,0	10,0-15,0	10,0-12,5
L-Treonina	4,0-7,5	4,0-5,5	4,0-7,5	5,0-6,0	4,0-7,5	5,0-6,5
L-Triptofano	1,0-4,0	1,5-2,5	1,0-4,0	1,5-2,5	1,0-4,0	2,0-3,0
L-Valina	2,5-10,0	2,5-4,0	2,5-8,0	6,0-8,0	2,5-10,0	6,0-8,0

En otra forma de realización secundaria para el tratamiento de la fenilcetonuria, definido sin tener en cuenta las proporciones de aminoácidos, la formulación de la presente invención comprende tres o más, cinco o más, de: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano, y valina, o todos ellos, o una o más sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, como aminoácidos esenciales de liberación modificada.

En otra forma de realización secundaria para el tratamiento de la fenilcetonuria, nuevamente definida sin tener en cuenta las proporciones de aminoácidos, las formulaciones de la presente invención comprenden tres o más, cinco o más de arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina,

triptofano, y valina, o todos ellos, o una o más sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, como aminoácidos esenciales de liberación modificada, y tres o más, cinco o más, de alanina, ácido aspártico, carnitina, cistina, glutamina y/o ácido glutámico, glicina, prolina, serina, taurina, y tirosina, o todos ellos, o una o más sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, como aminoácidos no esenciales de liberación modificada.

En una forma de realización secundaria en particular, que es apropiada para el tratamiento de cualquiera de los trastornos metabólicos que se describen en la presente, definida sin tener en cuenta las proporciones de ingredientes, la formulación comprende arginina y histidina, o una o más sales farmacéuticamente aceptables de las mismas, como aminoácidos esenciales de liberación modificada, y alanina, ácido aspártico, carnitina, cistina, glutamina y/o ácido glutámico, prolina, serina, y taurina, o una o más sales aceptables de los mismos, como aminoácidos no esenciales de liberación modificada.

En una forma de realización particularmente preferida, la formulación se provee como una única dosis, como una forma de dosificación unitaria, que comprende entre 1 y 40 gramos de aminoácidos, en donde la formulación es terapéuticamente eficaz para satisfacer las necesidades dietarias de aminoácidos de un paciente humano cuando se administran entre tres y cuatro veces al día. Es decir, la formulación es adecuada para satisfacer las necesidades dietarias de aminoácidos del paciente que

efectivamente están presentes en la formulación.

En otra forma de realización principal, la invención provee un método para hacer la formulación definida por cualquiera de las formas de realización principales o formas de realización secundarias de la presente invención, que comprende: (a) proveer una primera mezcla que comprende un único aminoácido o una pluralidad de los mismos; (b) poner en contacto la mezcla con un agente humectante y un aglutinante para formar una mezcla húmeda; (c) opcionalmente hacer pasar la mezcla húmeda a través de un tamiz para formar un granulado húmedo uniforme, (d) secar el granulado húmedo uniforme para formar un granulado seco, (e) opcionalmente hacer pasar el granulado seco a través de un tamiz para formar un granulado seco uniforme, y (f) opcionalmente recubrir el granulado seco uniforme con una composición de liberación modificada.

El método es particularmente apropiado para mezclar una gran cantidad de aminoácidos, y se puede adaptar adicionalmente por preparación de más de un granulado con diferentes mezclas de aminoácidos, y combinando los diferentes granulados para formar la formulación final. Por lo tanto, en una forma de realización preferida del método para fabricación, la primera mezcla puede comprender solo un tipo de aminoácido, o tanto como 6 aminoácidos, y además comprende repetir los pasos (a)-(d) y opcionalmente (e) y (f) con una segunda mezcla de aminoácidos diferente que comprende solo un aminoácido, o tanto como 6 aminoácidos para formar un segundo granulado seco uniforme, y

combinar los granulados secos uniformes para hacer la formulación. En una forma de realización los granulados se comprimen para formar un comprimido masticable. En otra forma de realización, luego de formar la mezcla de granulado, esta se continúa procesando, por ejemplo, por el agregado de saborizantes o nutrientes.

Las formulaciones también se pueden definir en base al porcentaje de aminoácidos en la formulación. Por lo tanto, por ejemplo, la invención también provee formulaciones que comprenden más del 20 % en peso, 70 % en peso o 90 % en peso de aminoácidos, en donde (a) dichos aminoácidos comprenden entre aproximadamente 10 % en peso y aproximadamente 80 % en peso, entre aproximadamente 20 % en peso y aproximadamente 60 % en peso, entre aproximadamente 30 y aproximadamente 50%, o entre aproximadamente 35 y aproximadamente 45% de aminoácidos esenciales; y (b) dichos aminoácidos esenciales comprenden a todos los siguientes: L-Isoleucina, L-Leucina, L-Lisina, L-Treonina, L-Triptofano, L-Valina, L-Metionina, L-Histidina y L-Arginina (estos dos últimos se consideran esenciales solo para los bebés) o a cualquier combinación de los mismos.

Como alternativa, la formulación de liberación modificada se puede definir en base a la proporción de aminoácidos esenciales a aminoácidos no esenciales en la formulación. Por lo tanto, en diversas formas de realización la invención provee una formulación de liberación modificada de aminoácidos para administrar por vía oral que comprende más del 20 % en peso, 50%,

70 % en peso o 90 % en peso de aminoácidos, en donde (a) dichos aminoácidos comprenden aminoácidos esenciales y no esenciales en una proporción en peso de entre aproximadamente 10:90, 20:80. 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30 80:20 y aproximadamente 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50. 40:60, 30:70, o 20:80; y (b) dichos aminoácidos esenciales comprenden a todos los siguientes: L-Isoleucina, L-Leucina, L-Lisina, L-Treonina, L-Triptofano, L-Valina, L-Metionina, L-Histidina y L-Arginina (estos dos últimos se consideran esenciales solo para los bebés) o a cualquier combinación de los mismos.

La formulación preferiblemente incluye uno o más excipientes o aditivos capaces de controlar la liberación de todos los aminoácidos de la formulación, o de un subconjunto de aminoácidos. Dichos excipientes o aditivos en la presente se denominan en general como "excipientes o aditivos retardadores de la liberación", y son capaces de proveer un perfil de liberación prolongada, un perfil de liberación retardada, una combinación de perfiles de liberación inmediata y liberación extendida o de liberación retardada. En una forma de realización, los excipientes o aditivos son excipientes o aditivos de liberación retardada y se denominan "medios para la liberación preferente de dichos aminoácidos a un pH entre 4 y 7" o "medios para la liberación preferente de dichos aminoácidos en el yeyuno cuando se administran por vía oral". En dicho caso el excipiente típicamente está presente en una cantidad eficaz para causar la liberación preferencial de dichos aminoácidos desde dicha

formulación a un pH entre 4 y 7.

El término "liberación preferencial" no excluye la posibilidad de que parte del excipiente libere aminoácidos en un ambiente con un pH inferior, o aún de que la velocidad de liberación en un ambiente con un pH inferior sea igual a la que se obtenga en un ambiente con un pH mayor. El punto importante es que el excipiente reduce la cantidad total de aminoácidos que de otra manera se liberaría en el ambiente a bajo pH del estómago respecto de una forma de dosificación de liberación inmediata. Por lo tanto, por ejemplo, el excipiente puede dar un perfil de liberación más lenta durante el transcurso del tiempo a medida que la formulación se desplaza través del tracto GI respecto del que se obtendría con una formulación de liberación inmediata, o según el modelo en un experimento in vitro apropiado. Como alternativa, el excipiente puede retardar la liberación hasta que la formulación alcance el ambiente a mayor pH del yeyuno.

Los excipientes o aditivos / agentes de recubrimiento modificadores de la liberación son bien conocidos por aquellos con experiencia en el arte e incluyen, por ejemplo, etilcelulosa, acetato de celulosa, copolímeros de acetato de vinilo/cloruro de vinilo, copolímeros de acrilato/metacrilato, poli(óxido de etileno), hidroxipropilmetilcelulosa, carragenano, ácido algínico y sales de los mismos, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, goma de karaya, goma de acacia, goma tragacanto, goma de algarroba, goma guar, goma xantana, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, cera de abejas, cera

carnaúba, alcohol cetílico, aceites vegetales hidrogenados, alcohol estearílico, copolímeros ácido acrílico, carragenano, pectina, una carboximetilcelulosa sódica, mono y diglicéridos de ácidos grasos, ácidos grasos y sus ésteres o derivados, incluyendo a los behenatos de glicerilo y dipalmitoestearato de glicerilo, almidones y sus derivados, tales como el acetato de almidón de maíz.

Formulaciones

Estas composiciones de la presente invención se pueden preparar de una forma bien conocida en la farmacéutica y en el arte de la suplementación alimenticia, y se pueden administrar mediante una variedad de rutas dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico. La ruta de administración más preferida es la oral. Las composiciones típicamente contendrán, además de los aminoácidos, uno o más vehículos aceptables (excipientes o aditivos). Al elaborar las composiciones de la invención, típicamente se mezcla el ingrediente activo con un excipiente, se lo diluye con un excipiente o se lo incluye en dicho vehículo bajo forma de, por ejemplo, de una cápsula, un saché, un papel u otro recipiente. Cuando el excipiente funciona como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido que actúa como vehículo, transporte o medio para el ingrediente activo. Por lo tanto, las composiciones pueden estar en la forma de comprimidos, píldoras (incluyendo cápsulas de gelatina blanda y dura), polvos, granulados, microesferas, grageas, sachés (es decir polvos o granulados o microesferas

empaquetadas) sachés, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, y jarabes, que contienen, por ejemplo, hasta un 90% en peso de aminoácidos.

Usando esta tecnología es posible diseñar diversos productos de aminoácidos, en donde todos o solo una porción seleccionada de los aminoácidos, tiene el perfil de liberación modificada. Por ejemplo, es posible diseñar una formulación donde:

- todos o solo una porción de los aminoácidos en la formulación se formulan para liberación modificada. Es decir, más de 20%, 40%, 60% o 80%, y/o menos de 80%, 60%, 40%, o 20% de los aminoácidos se formulan para liberación modificada.

- todos o solo una porción de los aminoácidos esenciales en la formulación se formulan para liberación modificada. Es decir, más de 20%, 40%, 60% o 80%, y/o menos de 80%, 60%, 40%, o 20% de los aminoácidos esenciales se formulan para liberación modificada.

- ninguno de los aminoácidos esenciales se formula para liberación modificada.

- todos o solo una porción de los aminoácidos no esenciales en la formulación se formulan para liberación modificada. Es decir, más de 20%, 40%, 60% o 80%, y/o menos de 80%, 60%, 40%, o 20% de los aminoácidos no esenciales se formulan para liberación modificada.

- ninguno de los aminoácidos no esenciales se formula para liberación modificada.

- cualquier combinación de las estrategias anteriores.

Por ejemplo, usando las estrategias de formulación que se describen en esta solicitud, es posible formular formas de dosificación de aminoácidos, de forma que solo los aminoácidos esenciales se formulan para liberación modificada, y no así los aminoácidos no esenciales. Como alternativa, es posible formular las formas de dosificación de aminoácidos de forma que solo los aminoácidos no esenciales se formulan para liberación modificada, y no así los aminoácidos esenciales. Como alternativa, dependiendo de los resultados del ensayo de liberación para una formulación particular, podría ser mejor mantener algunos de los aminoácidos, tales como tirosina, como aminoácidos de liberación inmediata.

Hay disponibles varias estrategias para controlar la liberación de aminoácidos de la formulación, dependiendo del perfil farmacocinético que se desee. Estas estrategias típicamente implicaran excipientes o aditivos no dependientes de pH, de forma que la formulación libere los aminoácidos independientemente de su localización en el tracto gastrointestinal, o excipientes o aditivos dependientes de pH, para retrasar la liberación de los aminoácidos hasta que la formulación alcance el entorno de mayor pH del intestino delgado.

Los agentes/recubrimientos para liberación sostenida no dependiente del pH que se pueden incluir en la composición incluyen, a título enunciativo no taxativo, etilcelulosa, acetato de celulosa, copolímeros de acetato de vinilo/cloruro de vinilo, copolímeros de acrilato/metacrilato, óxido de polietileno,

hidroxipropil metilcelulosa, carragenano, ácido algínico y sales de los mismos, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa, goma xantano, goma karaya, goma de acacia, goma tragacanto, goma de algarroba, goma guar, carboximetil celulosa de sodio, metil celulosa, cera de abejas, cera carnauba, alcohol cetílico, aceites vegetales hidrogenados, alcohol estearílico, ácidos grasos y sus ésteres o derivados incluyendo por ejemplo behenatos de glicerilo y dipalmitoestearato de glicerilo, goma xantano, almidones, y derivados de almidones tales como acetato de maíz.

En general, el por lo menos un agente de liberación modificada no dependiente del pH está presente en la composición en una cantidad de entre aproximadamente 1 % en peso o 5 % en peso y aproximadamente 50 % en peso o 25 % en peso, preferiblemente entre aproximadamente 1 % en peso y aproximadamente 30 % en peso. Ha de comprenderse, sin embargo, que el alcance de la presente invención no se limita a ningún agente de liberación sostenida particular no dependiente del pH.

Los agentes dependientes del pH que incrementan la tasa de liberación de los aminoácidos de la formulación a un pH de más de 5,5 incluyen, a título enunciativo no taxativo, polímeros que se dilatan a un pH de más de 5,5, agentes entéricos para recubrimiento del aminoácido, y agentes que incrementan la solubilidad de los aminoácidos a un pH más de 5,5, mediante el mantenimiento de un microentorno ácido en la formulación, por ejemplo, un ácido orgánico. Los orgánicos adecuados ácidos incluyen, por ejemplo, ácido fórmico, ácido acético, ácido

propiónico, ácido butírico, ácido valérico, ácido caproico, ácido oxálico, ácido láctico, ácido málico, ácido cítrico, ácido benzoico, y ácido carbónico. Se puede emplear cualquier combinación de estas estrategias para promover la liberación de aminoácidos a un pH mayor a 5,5. El por lo menos un agente dependiente del pH está típicamente presente en la composición en una cantidad de entre aproximadamente 0,5 % en peso y aproximadamente 40 % en peso, preferiblemente entre aproximadamente 1 % en peso y aproximadamente 20 % en peso.

Los polímeros que se dilatan a un pH de más de 5,5 incluyen, a título enunciativo no taxativo, copolímeros de ácido acrílico, copolímeros de ácido metacrílico (incluyendo por ejemplo los que se venden bajo la marca Eudragit®), alginato de sodio, carragenano, ácido algínico, pectina, y carboximetil celulosa de sodio.

Los agentes entéricos incluyen, a título enunciativo no taxativo, acetato de celulosa ftalato, hidroxipropilmetilcelulosa ftalato, acetato de polivinil ftalato, copolímeros de ácido metacrílico, acetato de celulosa trimelitato, hidroxipropil metilacetato de celulosa, succinato, shellac, y zeína.

Los agentes que incrementan la solubilidad de los aminoácidos a un pH mayor a 5,5 incluyen, a título enunciativo no taxativo, ácidos orgánicos. Dichos ácidos orgánicos mantienen un microentorno ácido en el comprimido, e incluyen, a título enunciativo no taxativo, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido adípico, glucona delta-lactona, y ácido málico.

Las composiciones de la presente invención típicamente se preparan primero por granulación húmeda, recubrimiento y, si se desea un biscocho, subsiguientemente se comprimen a una forma de dosificación en biscocho después de mezcla con otros excipientes o aditivos adecuados tales como agentes lubricantes, antiadherentes y desintegrantes. Se pueden agregar agentes saborizantes durante los pasos de granulación de forma que los mismos sean parte de los gránulos o "intragranulares," o se mezclan subsiguientemente con los granulados, antes de la compresión de los granulados y opcionalmente antes de comprimirse a un comprimido / biscocho.

En el método de granulación húmeda, el por lo menos un aminoácido y los otros ingredientes se granulan con un fluido de granulación (por ejemplo, alcohol isopropílico, alcohol etílico, triclorometano o agua) en una mezcladora planetaria, mezcladora de alta fuerza de corte, o granulador de lecho fluidificado. Puede haber contenidos agentes de unión en el fluido de granulación, o los mismos pueden estar en la mezcla seca. Los gránulos húmedos se secan en un horno o secadora de lecho fluidificado, y luego se tamizan a través de un tamiz adecuado para obtener gránulos de fluidez libre que luego se pueden recubrir con excipientes funcionales o aditivos capaces de otorgar un perfil de liberación modificado o prolongado o retrasado.

Se pueden incluir agentes espesantes dentro de los gránulos o formulación en biscocho y los mismos incluyen, a título

enunciativo no taxativo, celulosa microcristalina, manitol, xilitol, fosfato de dicalcio, sulfato de calcio, almidones, lactosa, sacarosa, dextrosa, sorbitol, fructosa, y celulosa en polvo. Cuando está presente, el agente espesante puede estar presente en la composición en una cantidad de entre aproximadamente 5 % en peso y aproximadamente 90 % en peso, preferiblemente entre aproximadamente 10 % en peso y aproximadamente 50 % en peso.

Los agentes desintegrantes que se pueden incluir en las formulaciones incluyen, a título enunciativo no taxativo, celulosa microcristalina, almidones, crospovidona, glicolato de almidón sódico, y croscarmelosa de sodio. Cuando está presente, el agente desintegrante puede estar presente en la composición en una cantidad de entre aproximadamente 0,5 % en peso y aproximadamente 30 % en peso, preferiblemente entre aproximadamente 1 % en peso y aproximadamente 15 % en peso.

Los antiadherentes y fluidificantes que se pueden emplear en la composición incluyen, a título enunciativo no taxativo, talco, almodón de maíz, dióxido de silicio, lauril sulfato de sodio, y estearatos metálicos. Cuando está presente, el antiadherente o fluidificante puede estar presente en la composición en una cantidad de entre aproximadamente 0,2 % en peso y aproximadamente 15 % en peso, preferiblemente entre aproximadamente 0,5 % en peso y aproximadamente 5 % en peso.

Los lubricantes que se pueden emplear en la composición incluyen, a título enunciativo no taxativo, estearato de

magnesio, estearato de calcio, estearato de sodio, ácido esteárico, estearil fumarato de sodio, aceite de semilla de algodón hidrogenado, talco, y ceras, incluyendo a título enunciativo no taxativo, cera de abejas, cera carnuba, alcohol cetílico, estearato de glicerilo, palmitato de glicerilo, behenato de glicerilo, aceites vegetales hidrogenados, y alcohol estearílico. Cuando está presente, el lubricante puede estar presente en una cantidad de entre aproximadamente 0,2 % en peso y aproximadamente 20 % en peso, preferiblemente entre aproximadamente 0,5 % en peso y aproximadamente 5 % en peso.

Los agentes de unión ("aglutinantes") que se pueden emplear incluyen, a título enunciativo no taxativo, polivinil pirrolidona, almidón, metilcelulosa, hidroxipropil metilcelulosa, carboximetil celulosa, solución de sacarosa, solución de dextrosa, goma guar, goma xantano, acacia, tragacanto, goma de algarroba y alginato de sodio o cualquier otra sal de ácido algínico. Cuando está presente, el agente aglutinante puede estar presente en la composición en una cantidad de entre aproximadamente 0,2 % en peso y aproximadamente 10 % en peso, preferiblemente entre aproximadamente 0,5 % en peso y aproximadamente 5 % en peso.

Los agentes de recubrimiento que se pueden incluir en la composición incluyen, a título enunciativo no taxativo, etilcelulosa, acetato de celulosa, copolímeros de acetato de vinilo/cloruro de vinilo, copolímeros de acrilato/metacrilato, óxido de polietileno, hidroxipropil metilcelulosa, carragenano,

ácido algínico y sales de los mismos, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa, goma karaya, goma de acacia, goma tragacanto, goma de algarroba, goma guar, carboximetil celulosa de sodio, metil celulosa, cera de abejas, cera carnauba, alcohol cetílico, aceites vegetales hidrogenados, alcohol estearílico, ácidos grasos y sus ésteres o derivados incluyendo, behenatos de glicerilo y dipalmitoestearato de glicerilo, goma xantano, almidones, y derivados de almidón incluyendo acetato de maíz.

Materiales enmascaradores de sabor

Los aminoácidos son inherentemente de sabor amargo y en una forma de realización de la presente invención, estos aminoácidos amargos se microencapsulan con un material enmascarador del sabor. Los materiales útiles para enmascarar el sabor de las formulaciones farmacéuticas incluyen a aquellos materiales capaces de microencapsular el aminoácido, protegiendo de esa forma a los sentidos de su sabor amargo. Los materiales enmascaradores del sabor de la presente invención proveen formulaciones farmacéuticas superiores mediante por ejemplo, la creación de una formulación farmacéutica más agradable al paladar en comparación con las formulaciones farmacéuticas, y/o mediante la creación de una forma de dosificación que requiere menos de los agentes tradicionales saborizantes o enmascaradores del sabor.

Los materiales enmascaradores del sabor incluyen, por ejemplo, éteres de hidroxipropil celulosa (HPC); éteres de hidroxipropilo de baja sustitución (L-HPC); éteres de

hidroxipropil metilcelulosa (HPMC); polímeros de metilcelulosa; Etilcelulosas (EC) y mezclas de los mismos; alcohol polivinílico (PVA); hidroxietilcelulosas; carboximetilcelulosas y sales de carboximetilcelulosas (CMC); copolímeros de alcohol polivinílico y polietilenglicol; monoglicéridos, triglicéridos, polietilenglicoles, almidón modificado para alimentos, polímeros acrílicos y mezclas de polímeros acrílicos con éteres de celulosa; acetato ftalato de celulosa; *sepifilms* tales como mezclas de HPMC y ácido esteárico, ciclodextrinas, y mezclas de estos materiales.

Además de microencapsular a los aminoácidos con un material enmascarador del sabor o un material que potencie la vida útil de la formulación según se describe en la presente, las formulaciones farmacéuticas de la presente invención también pueden comprender uno o más agentes saborizantes. Los "agentes saborizantes" y/o "endulzantes" que son de utilidad en las formulaciones farmacéuticas de la presente invención, incluyen, por ejemplo, jarabe de acacia, acesulfame K, alitame, anís, manzana, aspartame, banana, crema bávara, baya, grosella negra, caramelo de leche, citrato de calcio, alcanfor, caramelo, cereza, crema de cereza, chocolate, canela, chicle, cítricos, ponche de cítricos, crema de cítricos, algodón de azúcar, cacao, cola, cereza fresca, cítricos frescos, ciclamato, dextrosa, eucalipto, eugenol, fructosa, ponche de frutas, jengibre, glicirretinato, jarabe de Glycyrrhiza (regaliz), uva, pomelo, miel, isomalta, limón, lima, crema de limón, glirrizinato monoamónico, maltol,

manitol, arce, malvavisco, mentol, crema de menta, bayas mixtas, neohesperidina DC, neotame, naranja, pera, melocotón, menta, crema de menta, frambuesa, zarzaparrilla, ron, sacarina, safrol, sorbitol, menta verde, crema de menta verde, fresa, crema de fresa, stevia, sucralosa, sacarosa, sacarina de sodio, sacarina, aspartame, acesulfame de potasio, manitol, talina, silitol, sucralosa, sorbitol, crema suiza, tagatosa, mandarina, taumatina, tutti frutti, vainilla, nuez, sandía, cereza salvaje, gaulteria, xilitol o cualquier combinación de estos ingredientes aromatizantes, por ejemplo, anís-mentol, cereza-anís, canela-naranja, cereza-canela, chocolate-menta, miel-limón, lima-limón, limón y menta, mentol-eucalipto, naranja-crema, vainilla-menta y mezclas de los mismos. En otras formas de realización, se incorpora cloruro de sodio a la formulación farmacéutica.

En base a los aminoácidos y excipientes o aditivos, las personas con experiencia en el arte serán capaces de determinar la mejor combinación de saborizantes para proveer el producto óptimamente saborizado para la demanda y satisfacción del consumidor. Véase, por ejemplo, Roy y col., *Modifying Bitterness: Mechanisms, Ingredients, y Applications* (1997).

Métodos de Microencapsulamiento

El aminoácido se puede microencapsular mediante métodos conocidos por las personas con experiencia en el arte. Dichos métodos conocidos incluyen, por ejemplo, procesos de secado por atomización, procesos de disco giratorio, procesos de fusión en caliente, métodos de enfriamiento por atomización, lecho

fluidificado, deposición electrostática, extrusión centrífuga, separación por suspensión rotacional, polimerización en interface líquido-gas o sólido-gas, extrusión por presión, o baño de extracción con solvente por atomizado. Además de ellos, también se pueden usar varias técnicas químicas, por ejemplo, coacervación compleja, evaporación con solvente, incompatibilidad de polímero-polímero, polimerización de interfase en medio líquido, polimerización en situ, secado en líquido y desolvatación en medio líquido. Además, también se pueden usar otros métodos tales como granulación en seco (es decir, precompresión y compactación por rodillos), extrusión/esferonización, o recubrimiento con nanopartículas.

Cuando se microencapsulan, los aminoácidos pueden estar presentes en tamaños de partícula en el rango entre 1 micrón y 1000 micrones, entre 5 micrones y 200 micrones, o entre 10 micrones y 100 micrones.

El secado por atomización con frecuencia tiene más fácil disponibilidad para el escalado a una escala comercial. En diversas formas de realización, el material usado en el proceso de encapsulamiento de secado por atomización se emulsiona o dispersa en un material central en una forma concentrada, por ejemplo, entre 10 y 60% de sólidos. En algunas formas de realización de la presente invención, la carga de sólido es de entre aproximadamente 10 y 20%, o entre aproximadamente 10 y 40%, o entre aproximadamente 40 y 60%. El material de microencapsulamiento, en una forma de realización, se emulsiona

hasta que se obtienen gotas de hasta aproximadamente entre 1 y 3 μm . En otras formas de realización, el material de microencapsulamiento se emulsiona hasta que se obtienen gotas de aproximadamente entre 1 y 200 μm , o hasta que se obtienen gotas de aproximadamente entre 1 y 100 μm . Una vez que se obtienen la dispersión del aminoácido y del material de encapsulamiento, la emulsión se carga en forma de gotas en la cámara caliente de la secadora por atomización. En algunas formas de realización, se atomizan las gotas dentro de la cámara o se hacen girar en un disco rotatorio. Las microesferas se secan entonces en la cámara caliente y caen al fondo de la cámara secadora por atomización en donde se recolectan.

La coacervación involucra el microencapsulamiento de los materiales tales como los ingredientes farmacéuticamente activos e implica un proceso de tres partes de formación de partículas o gotas, formación de pared coaservada, y aislamiento de cápsulas. Este método puede producir microcápsulas de tamaño de partícula muy pequeño (entre 10 y 70 micrones).

La extrusión/esferonización es otro método que implica la formación de masa húmeda de los ingredientes farmacéuticamente activos, seguido por la extrusión de la masa húmeda a través de una placa perforada para producir varillas cilíndricas cortas. Estas varillas se colocan subsiguientemente en un esferonizador de rotación rápida para darle forma a las varillas cilíndricas a esferas uniformes. Las esferas se secan subsiguientemente usando un secador de lecho fluidificado y luego se recubren con un

recubrimiento funcional usando un equipo de lecho fluidificado con un inserto de Wurster y boquilla de atomización. Este método produce esferas uniformes lisas que son ideales para recibir un recubrimiento funcional. Las cargas de fármacos posibles son tan altas como de 80% (dependiendo de las características del fármaco).

Métodos de Recubrimiento en Seco

Además del microencapsulamiento, la estabilidad o el tiempo de liberación de los aminoácidos usados en la presente invención se pueden incrementar por métodos alternativos tales como recubrimiento por secado y recubrimiento con nanopartículas. El recubrimiento por secado implica la formación de gránulos de aminoácido recubierto que luego se mezclan con otros componentes. La granulación en seco se consigue mediante la formación de compactos densos que subsiguientemente se muelen a un tamaño deseado de partícula y luego se mezclan con los otros componentes de la composición farmacéutica. La granulación en seco y el recubrimiento con nanopartículas pueden proveer características de mayor estabilidad y enmascarado del sabor a los fármacos activos mediante la dilución y aislamiento de dichos componentes en una matriz granulada de ingredientes compatibles que pueden aumentar la vida útil de los productos de aminoácidos así como también enmascarar el sabor de amargor si es que se usan endulzantes o saborizantes en el material de recubrimiento.

La técnica típica para la granulación en seco es el uso de precompresión o compactación por rodillo. Durante el proceso de

precompresión, los polvos secos se comprimen usando una máquina convencional para comprimidos, o más habitualmente, una prensa rotatoria para labores pesadas. Los compactos o "precomprimidos" resultantes se muelen luego a un tamaño deseado de partícula. La compactación e rodillo es un método alternativo más suave; la mezcla en polvo se estruja entre dos rodillo para formar una hoja comprimida. La hoja normalmente es débil y quebradiza y se rompe inmediatamente a escamas. Estas escamas necesitan un tratamiento más suave para romperse a gránulos, y esto habitualmente se puede conseguir simplemente mediante cribado. Parikh, D. M., Handbook of Pharmaceuthycal Granulation Technology, (Marcel Dekker ed. 1997).

Ingredientes adicionales

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

(calciferol), Vitamina E (alfa-tocoferol), Ácido Fólico (folato), y Vitamina K (filoquinona, menaquinona).

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

Por supuesto, ha de comprenderse que cualquiera de los nutrientes previos puede estar presente en una forma conocida para los trabajadores con experiencia en el arte, que proveen un valor nutritivo similar, tales como sales y quelatos y éteres y otros derivados de los nutrientes anteriores. La Tabla H describe un ejemplo de diversos nutrientes, dosis eficaces de nutrientes, y derivados de nutrientes capaces de ser incorporados a las formulaciones de la presente invención. La formulación puede incluir uno cualquiera o una combinación de estos nutrientes.

Tabla H

		1-3 años	3 - 16 años	más de 16 años
		gr/día	gr / día	gr / día
	Sustancia			

Vitamina	vitamina A	0,00040000	0,00065000	0,00072000
	vitamina D	0,00003200	0,00003250	0,00003600
	vitamina E	0,00360000	0,00975000	0,02070000
	vitamina K	0,00008000	0,00032500	0,00045000
	vitamina C	0,04000000	0,07150000	0,13500000
	tiamina	0,00060000	0,00104000	0,00135000
	riboflavina	0,00060000	0,00195000	0,00270000
	niacina	0,00720000	0,01300000	0,01800000
	vitamina B6	0,00040000	0,00227500	0,00135000
	folato	0,00012000	0,00013000	0,00036000
	vitamina B12	0,00000600	0,00005200	0,00005400
	biotina	0,00060000	0,00260000	0,00315000
	ácido pantoténico	0,00400000	0,02275000	0,02700000
Mineral	potasio	0,16000000	0,78000000	0,90000000
	calcio	0,50000000	0,97500000	0,76500000
	magnesio	0,06000000	0,22750000	0,19800000
	hierro	0,01100000	0,01625000	0,01350000
	zinc	0,00320000	0,01040000	0,01710000
	cobre	0,00060000	0,00084500	0,00090000
	manganeso	0,00040000	0,00182000	0,00252000
	selenio	0,00001400	0,00003250	0,00009000
	cromo	0,00000400	0,00003250	0,00006300
	molibdeno	0,00002000	0,00006500	0,00007200
	yodo	0,00008000	0,00011050	0,00015300
	sodio	0,03600000	0,00000000	0,00000000
	fósforo	0,20000000	0,78000000	0,63000000
	cloruro	0,08000000	0,00000000	0,00000000
Otros nutrientes	DHA ácido docosaheptaenoico	0,08000000	0,26000000	0,27000000
	ARA ácido araquidónico	0,15000000	0,00000000	0,00000000
	Luteína	0,00600000	0,00000000	0,00000000
	colina	0,07000000	0,14950000	0,18000000
	inositol	0,06000000	0,07800000	0,09000000

Formulaci3n final

En una forma de realización particularmente preferida la formulación comprende granulados de aminoácidos recubiertos por uno o más excipientes modificadores de la liberación, también llamados en la presente "medios de recubrimiento para retardar la velocidad de liberación de aminoácidos," o "medios de recubrimiento para conseguir la velocidad de liberación mencionada." Los granulados se pueden elaborar por técnicas de granulación húmeda o seca, como se describió previamente, pero preferiblemente se elaboran por granulación húmeda. También preferiblemente se confinan a un rango de tamaño particular, tal como entre 0,1 y 3 mm, entre 0,5 y 2,0 mm, entre 0,5 y 1,0 mm, entre 0,5 y 2,0 mm, o entre 1,0 y 2,0 mm. Cada aminoácido puede estar contenido dentro de su propio gránulo, pero los aminoácidos de liberación modificada preferiblemente se mezclan dentro de los gránulos.

Las propiedades de liberación modificada preferiblemente se consiguen con un recubrimiento o recubrimientos adecuados para modificación de la liberación que se aplican sobre el granulado, en una cantidad de entre 1 % en peso y 30 % en peso, o entre 5 % en peso y 25 % en peso en base al peso de los aminoácidos. Los excipientes retardantes de la liberación para el recubrimiento se describen en algún otro lado de este documento, pero una composición preferida comprende un recubrimiento de entre 1 % en peso y 15 % en peso, entre 2 % en peso y 10 % en peso, o entre 5 % en peso y 7,5 % en peso de etilcelulosa en base al peso de los aminoácidos. Otra composición preferida comprende un primer

recubrimiento de etilcelulosa (como se describió previamente) y un segundo recubrimiento de entre 5% y 15% o aproximadamente 10 % en peso de dibehenato de glicerilo en base al peso de los aminoácidos.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se establecen para proveer a las personas con experiencia en el arte una divulgación y descripción completa de cómo se elaboran y evalúan los métodos reivindicados en la presente, y pretenden ser puramente ejemplificativos de la invención y sin pretender limitar el alcance de lo que los inventores consideran como su propia invención. Se han realizado esfuerzos para asegurar la precisión con respecto a los números (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero se debe tener en cuenta que podrían existir algunos errores y desviaciones.

Ejemplo 1 - Ejemplos de Mezclas de Aminoácidos para Fenilcetonuria

La Tabla 1 lista cuatro mezclas separadas representativas de aminoácidos para el manejo dietario de fenilcetonuria, en base a porcentaje.

	A	B	C
Aminoácidos esenciales			
L-Isoleucina	5,11	7,18	5,11
L-Leucina	9,18	12,90	9,18
L-Lisina HCl	7,39	10,39	5,91 ¹
L-Treonina	3,8	5,34	5,28
L-Triptófano	1,68	2,36	1,68
L-Valina	6,39	8,98	6,39

L-Metionina	2,04	2,86	2,04
L-Histidina HCl	3,04	2,358	3,04 ¹
L-Arginina	6,14	4,764	6,14
Total AA Esen	41,70	54,764	44,77
Aminoácidos no esenciales			
L-alanina	6,0	4,665	6,0
L-Ácido aspártico	9,18	7,122	9,20
L-Cisteína	2,03	1,57	2,03
L-glutamina	12,49	9,691	12,49
Glicina	4,48	3,47	4,48
L-prolina	7,21	5,594	7,21
L-serina	5,9	4,57	5,9
Taurina	0,300	0,232	0,25
L-Tirosina	7,51	5,82	7,51
L-Carnitina	0,16	0,124	0,16
Total AA No Esen	58,30	45,236	55,23
Total AA	100	100	100

¹ pesos en base a la base libre

Ejemplo 2 - Ejemplos de Formulaciones en Polvo y Proceso de Elaboración

La siguiente tabla describe formulaciones de cinco productos separados que contienen 18 aminoácidos (excluyendo a Metionina) usando Plasdone K26/32 como agente aglutinante y un agente enmascarador del sabor (Productos 2, 3, 4, y 5). La formulación de referencia (Producto 1) es sin Plasdone K26/32 y sin saborizantes.

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

	Producto 1	Producto 2	Producto 3	Producto 4	Producto 5
<i>Componente</i>	g	g	g	g	g
L-alanina	5,240	5,240	5,240	5,240	5,240
L-Arginina	6,140	6,140	6,140	6,140	6,140
L-Ácido	9,180	9,180	9,180	9,180	9,180

aspártico					
L-Cisteína	2,030	2,030	2,030	2,030	2,030
L-glutamina	12,490	12,490	12,490	12,490	12,490
Glicina	4,480	4,480	4,480	4,480	4,480
L-Histidina HCl	3,040	3,040	3,040	3,040	3,040
L-Isoleucina	5,110	5,110	5,110	5,110	5,110
L-Leucina	9,180	9,180	9,180	9,180	9,180
L-Lisina HCl	7,390	7,390	7,390	7,390	7,390
L-prolina	7,210	7,210	7,210	7,210	7,210
L-serina	5,900	5,900	5,900	5,900	5,900
Taurina	0,188	0,188	0,188	0,188	0,188
L-Treonina	4,540	4,540	4,540	4,540	4,540
L-Triptófano	1,680	1,680	1,680	1,680	1,680
L-Tirosina	7,510	7,510	7,510	7,510	7,510
L-Valina	6,360	6,360	6,360	6,360	6,360
L-Carnitina	0,116	0,116	0,116	0,116	0,116
Suma	97,784	97,784	97,784	97,784	97,784
Plasdone K26/32	0,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Saborizante ¹	0,000	0,000	1,250	1,400	1,500

¹ Producto 1 sin Saborizante; Producto 2 sin Saborizante; Producto 3 Sabor a caramelo; Producto 4 Sabor a vainilla; Producto 5 Sabor a banana

Cada una de las formulaciones se elaboró de acuerdo con el siguiente método general.

Paso 1

Equipamiento de elaboración:

- Balanzas de varios tipos
- Mezcladora de alta fuerza de corte: Diosna Laboratory Mixer P1/6
- Tamices
- Horno estático
- Máquina de mezclado

Mezcla de aminoácidos de Producto 1

Pesar en forma precisa los aminoácidos y mezclar durante 20 minutos con la máquina de mezclado.

Preparación de granulado sin saborizante, Producto 2

Pesar en forma precisa los aminoácidos y mezclar durante 20 minutos con la máquina de mezclado. Transferir la mezcla a la Diosna, y mezclar durante 1 minutos a una velocidad de paleta de 250 rpm. Humedecer la mezcla con una solución alcohólica de Plasdone K26/32 (10% en solución de etanol-10 g para 100 g de Etanol). Después de un minuto y 30 segundos, agregar la solución y granulado y mezclar durante tres minutos a una velocidad de paleta de 250 rpm y una velocidad de corte de 500 rpm. Descargar el granulado y pasar a través de un tamiz con un ancho de 0,8 mm. Secar en un horno estático durante aproximadamente cuatro horas a 40°C. Descargar y pasar otra vez a través de un tamiz con un ancho de 0,8 mm.

Preparación de granulado con saborizante, Productos 3, 4 y 5

Pesar en forma precisa los aminoácidos y mezclar durante 20 minutos con la máquina de mezclado. Transferir la mezcla a la Diosna, y mezclar durante 1 minuto y 30 segundos a una velocidad de paleta de 250 rpm. Humedecer la mezcla con una solución alcohólica de Plasdone K26/32 (10% de contenido en solución de etanol -10 g para 100 g de AA) y saborizante. La cantidad de saborizantes agregados a la solución alcohólica de Plasdone K26/32 es la siguiente:

-1,13 g de 58% de contenido de Caramelo en Etanol (para el

Producto 3)

-1,13 g de 60% de contenido de Vainilla en Etanol (para el Producto 4)

-1,46 g de 14% de contenido de Banana en Etanol (para el Producto 5)

Después de un minuto y 30 segundos mezclar la solución y granular durante tres minutos a una velocidad de paleta de 250 rpm y una velocidad de corte de 500 rpm. Descargar el granulado y pasar a través de un tamiz con un ancho de 0,8 mm. Secar en un horno estático durante aproximadamente cuatro horas a 40°C. Descargar y pasar la mezcla a través de un tamiz con un ancho de 0,8 mm.

Paso 2

Preparación de Metionina usando Plasdone K26/32 como agente aglutinante y agente enmascarador del sabor más una cantidad muy pequeña de saborizante de caramelo usando un método de elaboración similar al método usado para los Productos 3, 4 y 5 informados en el paso 1.

Tabla 2b Composición de granulado de L-Metionina, Producto 6

	Producto 6
<i>Componente</i>	g
L-Metionina ¹	250.0
Plasdone K26/32 ²	30
Saborizante Caramelo ³	3,6
<i>Suma</i>	289

¹ 100 g de L-Metionina corresponde a 103,2 g de L-Metionina granulada

² Plasdone K26/32 20% en solución de Etanol: 30 g corresponde a 6 g de Plasdone K29/32

³ Caramelo en solución de etanol al 58%: 3,6 g
corresponden a 2,088 g de Caramelo puro

Paso 3

Preparación de la formulación final mezclando el polvo/granulado del Paso 1 más el granulado del Paso 2 en la cantidad que se informa más adelante.

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

	Producto 7	Producto 8	Producto 9	Producto 10	Producto 11
<i>Componente</i>	g	g	g	g	g
L-alanina	5,240	5,240	5,240	5,240	5,240
L-Arginina	6,140	6,140	6,140	6,140	6,140
L-Ácido aspártico	9,180	9,180	9,180	9,180	9,180
L-Cisteína	2,030	2,030	2,030	2,030	2,030
L-glutamina	12,490	12,490	12,490	12,490	12,490
Glicina	4,480	4,480	4,480	4,480	4,480
L-Histidina HCl	3,040	3,040	3,040	3,040	3,040
L-Isoleucina	5,110	5,110	5,110	5,110	5,110
L-Leucina	9,180	9,180	9,180	9,180	9,180
L-Lisina HCl	7,390	7,390	7,390	7,390	7,390
L-prolina	7,210	7,210	7,210	7,210	7,210
L-serina	5,900	5,900	5,900	5,900	5,900
Taurina	0,188	0,188	0,188	0,188	0,188
L-Treonina	4,540	4,540	4,540	4,540	4,540
L-Triptófano	1,680	1,680	1,680	1,680	1,680
L-Tirosina	7,510	7,510	7,510	7,510	7,510
L-Valina	6,360	6,360	6,360	6,360	6,360
L-Carnitina	0,116	0,116	0,116	0,116	0,116
L-Metionina ¹	2,115	2,115	2,115	2,115	2,115
Suma de AA	99,899	99,899	99,899	99,899	99,899
Plasdone K26/32	0,050	1,050	1,050	1,050	1,050
Saborizante ²	0,000	0,000	1,250	1,400	1,500

¹ 2,115 g de L-Metionina granulada en el Producto 7 que

corresponde a 2,050 g de Metionina

² Producto 7 sin Saborizante (solo una pequeña cantidad de caramelo que deriva de la Metionina en polvo), Producto 8 sin Saborizante (solo una pequeña cantidad de caramelo que deriva de la Metionina en polvo), Producto 9 Sabor a caramelo, Producto 10 Sabor a Caramelo y Vainilla, Producto 11 Sabor a Caramelo y banana

Todos los Productos mencionados previamente se elaboraron por mezclado del polvo o los granulados de los Productos 2, 3, 4 y 5 con el granulado del Producto 6.

Ejemplo 3 - Ensayos de sabor

Sobre las formulaciones finales que se informaron en el Ejemplo 2 (Productos 8, 9, 10 y 11), se llevó a cabo el siguiente ensayo en 6 adultos sanos. Los resultados se informan como valores promedio:

Tabla 3. Resultados de Ensayos de Sabor

	Producto Comercial de Referencia	Producto 8	Producto 9	Producto 10	Producto 11
Producto en saborizante de Yogur con banana:					
-OLOR	4,25	4,6	-	-	-
-SABOR	3,75	4,6	-	-	-
-Persistencia (mal sabor en boca)	3	2,2	-	-	-

Producto en jugo de naranja:	4	5	-	-	-
-OLOR	3,25	4,125	-	-	-
-SABOR	2,5	1,75	-	-	-
-Persistencia (mal sabor en boca)					
Producto en Banana prensada	3,5	5	-	-	-
-OLOR	1	4,375	-	-	-
-SABOR	2,75	2,25	-	-	-
-Persistencia (mal sabor en boca)					
Producto dispersado en agua:	2,4	-	4,3	4,8	4,3
-OLOR	0,8	-	3,9	3,5	5
-SABOR	4,6	-	2,4	2	1,4
-Persistencia (mal sabor en boca)	2	4	4	4	4
-					
Dispersabilidad					

Leyenda:

-Olor/Sabor: 0= malo 5=bueno

-Persistencia (mal sabor en boca): 0= baja persistencia
5=larga persistencia

-Dispersabilidad: 0= malo 5=bueno

Tal como lo muestran los datos anteriores, las formulaciones de la presente invención son mejores que el Producto Comercial de Referencia y mejores que la formulación sin Plasdone K26/32 en términos de dispersabilidad y sabor.

Ejemplo 4 - Ejemplos de Formulaciones en Biscocho y Proceso de Fabricación

Se prepararon varias formulaciones en biscocho comenzando

con productos granulados similares a los que se informan en el Ejemplo 2 (cambiando levemente las cantidades de saborizantes).

Tabla 4a

	Producto 1	Producto 2	Producto 3
<i>Componente</i>	g	g	g
L-alanina	5,240	5,240	5,240
L-Arginina	6,140	6,140	6,140
L-Ácido aspártico	9,180	9,180	9,180
L-Cisteína	2,030	2,030	2,030
L-glutamina	12,490	12,490	12,490
Glicina	4,480	4,480	4,480
L-Histidina HCl	3,040	3,040	3,040
L-Isoleucina	5,110	5,110	5,110
L-Leucina	9,180	9,180	9,180
L-Lisina HCl	7,390	7,390	7,390
L-prolina	7,210	7,210	7,210
L-serina	5,900	5,900	5,900
Taurina	0,188	0,188	0,188
L-Treonina	4,540	4,540	4,540
L-Triptófano	1,680	1,680	1,680
L-Tirosina	7,510	7,510	7,510
L-Valina	6,360	6,360	6,360
L-Carnitina	0,116	0,116	0,116
L-Metionina ¹	2,115	2,115	2,115
<i>Suma</i>	99,899	99,899	99,899
Plasdone K26/32	1,050	1,050	1,050
Saborizante ²	0,986	1,02	0,306

¹ 2,115 g de L-Metionina granulada que corresponden a 2,050 g de Metionina

² Producto 1 Sabor a caramelo, Producto 2 Sabor a vainilla, Producto 3 Sabor a banana

A los Productos previamente mencionados se agregaron sacarosa, dióxido de silicio y dibehenato de glicerilo a través de un procedimiento de mezclado simple. Las formulaciones finales

fueron como sigue:

Tabla 4b

	Producto 41	Producto 51	Producto 61
<i>Componente</i>	g	g	g
L-alanina	5,240	5,240	5,240
L-Arginina	6,140	6,140	6,140
L-Ácido aspártico	9,180	9,180	9,180
L-Cisteína	2,030	2,030	2,030
L-glutamina	12,490	12,490	12,490
Glicina	4,480	4,480	4,480
L-Histidina HCl	3,040	3,040	3,040
L-Isoleucina	5,110	5,110	5,110
L-Leucina	9,180	9,180	9,180
L-Lisina HCl	7,390	7,390	7,390
L-prolina	7,210	7,210	7,210
L-serina	5,900	5,900	5,900
Taurina	0,188	0,188	0,188
L-Treonina	4,540	4,540	4,540
L-Triptófano	1,680	1,680	1,680
L-Tirosina	7,510	7,510	7,510
L-Valina	6,360	6,360	6,360
L-Carnitina	0,116	0,116	0,116
L-Metionina ²	2,115	2,115	2,115
<i>Suma</i>	99,899	99,899	99,899
Plasdone K26/32	1,050	1,050	1,050
Sabor	0,986	1,02	0,306
Sacarosa	50,000	50,000	50,000
Dibehenato de glicerilo	1,500	1,500	1,500

¹ Producto 4 Sabor a caramelo, Producto 5 Sabor a vainilla, Producto 6 Sabor a banana

² 2,115 g de L-Metionina granulada que corresponden a 2,050 g de Metionina

Los comprimidos se prepararon usando una máquina de formación de comprimidos por mono sacabocados con un peso promedio entre 5,5 y 6,2 g. Para corregir algunos problemas de

adherencia en el sacabocados, se preparó una nueva formulación comenzando desde el Producto 1:

Tabla 4c

	Producto 7
<i>Componente</i>	g
L-alanina	5,240
L-Arginina	6,140
L-Ácido aspártico	9,180
L-Cisteína	2,030
L-glutamina	12,490
Glicina	4,480
L-Histidina HCl	3,040
L-Isoleucina	5,110
L-Leucina	9,180
L-Lisina HCl	7,390
L-prolina	7,210
L-serina	5,900
Taurina	0,188
L-Treonina	4,540
L-Triptófano	1,680
L-Tirosina	7,510
L-Valina	6,360
L-Carnitina	0,116
L-Metionina ¹	2,115
<i>Suma</i>	99,899
Polivinilpirrolidon a	1, 050
Saborizante Caramelo	0,986
Comprizuker	50,000
Dióxido de silicona	2,500
Dibehenato de glicerilo	2,500

¹ 2,115 g de *L-Metionina granulada* corresponden a 2,050 g de Metionina

Ejemplo 5 - Ensayo de Sabor de Formulación en Biscocho

Los Productos 4, 5 y 6 informados en el Ejemplo 4 se ensayaron para olor y sabor en 6 adultos sanos. Los resultados se informan como valores promedio.

Tabla 5

	Saborizante de Producto 4	Saborizante de Producto 5	Saborizante de Producto 6
Olor	4,6	3,8	4,8
Sabor:	4,4	3,8	3,6
Persistencia (mal sabor en boca)	2,6	3,2	3,2

Leyenda:

-Olor-Sabor-Vista: 0= malo 5=bueno

-Persistencia (mal sabor en boca): 0= baja persistencia
5=larga persistencia

-Dispersabilidad: 0= malo 5=bueno

Ejemplo 6 - Preparación de formulaciones de liberación modificada

Preparación para mezcla

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

Preparación del granulado sin saborizante

Transferir la mezcla a la mezcladora Diosna, mezclando durante 1 minuto con una velocidad de la cuchilla de 250 rpm. Humedecer la mezcla con una solución alcohólica de EC (contenido del 15%). Luego de un minuto y 30 segundos, agregar la solución y granular durante tres minutos con una velocidad de cuchilla de 250 rpm y una velocidad de la cortadora de 500 rpm. Descargar el granulado y hacerlo pasar a través de un tamiz con un ancho de 0,63 mm. Secar en un horno estático durante aproximadamente cuatro horas a 45°C. Descargar y hacerlo pasar a través de un

tamiz con un ancho de 0,8 mm.

También es posible procesar 4-5 aminoácidos a la vez para obtener granulados, y mezclar todos los aminoácidos granulados entre sí para hacer el producto final. Algunos ejemplos de potenciales formulaciones se dan en la Tabla 1 del Ejemplo 1.

Ejemplo 7 - Formulación de liberación modificada

Se preparó la siguiente fórmula para determinar la cantidad de hidroxipropil-metilcelulosa (HPMC) y etilcelulosa (EC) que es necesaria para modificar la liberación de triptofano en una prueba de disolución.

Tabla 6. Composición del Producto

Componente	g
L-Isoleucina	14
L-Lisina HCl	20
L-Treonina	12
L-Triptofano	4
Manitol	10
HPMC (Methocel 4KM)	5
Solución de EC al 15% en EtOH	19,5 ¹

¹correspondiente a 3 g de EC

Preparación para mezcla

Pesar y tamizar los aminoácidos por separado, manitol y HPMC y mezclar durante 20 minutos con la máquina mezcladora en un recipiente apropiado.

Preparación del granulado sin saborizante

Transferir la mezcla a la mezcladora Diosna, mezclando durante 1 minuto con una velocidad de cuchilla de 250 rpm. Humedecer la mezcla con una solución alcohólica de EC (etilcelulosa) (contenido del 15%). Luego de un minuto y 30

segundos agregar la solución y granular durante tres minutos con una velocidad de cuchilla de 250 rpm y una velocidad de la cortadora de 500 rpm. Descargar el granulado y hacerlo pasar a través de un tamiz con un ancho de 0,63 mm. Secar en un horno estático durante aproximadamente cuatro horas a 45°C. Descargar y hacerlo pasar a través de un tamiz con un ancho de 0,8 mm.

Se evaluó la formulación en las condiciones de disolución que se informan más adelante para determinar la velocidad de liberación de triptofano desde la formulación (pH 1,2 durante 2 horas, aumentando a pH 6,8 luego de 2 horas) con el canasto a 50 y 100 rpm contra una simple mezcla de AA sin recubrir. En la Figura 3 se dan los resultados de la prueba de disolución. El análisis se llevó a cabo por HPLC.

Condiciones de la prueba de disolución

Aparato: de paletas

Temperatura: 37°C ± 5°C

Medio: Ácido clorhídrico 0,1 N

ajuste de pH solución 0,2 M de fosfato trisódico dodecahidratado. Volumen medio: 450ml HCl 0,1N. Luego de 120 minutos llevar el medio de disolución a pH 6,8 ± 0,05 (de acuerdo con la Farmacopea europea 2.9.3 Formas de dosificación sólidas de liberación retardada Método A [2.9.3 *Delayed-release solid dosage forms Method A*])).

Velocidad: 50 rpm o 100 rpm

Tiempos de muestreo: 5 y 15 minutos para la formulación sin recubrir

5, 15, 30, 60, 120,125, 135, 150, 180 minutos para la formulación recubierta (luego de 120 minutos el pH del medio se cambió a pH 6,8)

Concentración en el recipiente: aproximadamente 90µg/ml
(una fracción del polvo de la formulación de liberación retardada queda como sobrenadante durante la prueba de disolución)

Ejemplo 8 - Formulación de liberación modificada sin manitol

Se preparó la siguiente formulación de acuerdo con los procedimientos que se dan en el Ejemplo 7 y se sometió a pruebas de disolución en las condiciones que se informan más adelante. La velocidad de liberación de triptofano desde la formulación se muestra en la Figura 4. El análisis se llevó a cabo por HPLC.

Tabla 7. Composición del producto

Componente	g
L-Isoleucina	56
L-Lisina HCl	80
L-Treonina	48
L-Triptofano	16
HPMC (Methocel 4KM)	20
Solución de EC a 15% en EtOH	80

Condiciones de la prueba de disolución

Aparato: de paletas

Temperatura: 37°C ± 5°C

Medio: Ácido clorhídrico 0,1 N

Volumen medio: 27,20 N

Velocidad: 50rpm

Tiempos de muestreo 5', 15', 30', 60', 120', 180'

Concentración en el recipiente: aproximadamente 90µg/ml (una fracción del polvo de la formulación de liberación retardada

queda como sobrenadante durante la prueba de disolución)

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

Se preparó la siguiente formulación de acuerdo con los procedimientos que se dan en el Ejemplo 7 y se sometió a pruebas de disolución en las condiciones que se informan más adelante. La velocidad de liberación de triptofano desde la formulación se muestra en la Figura 5. El análisis se llevó a cabo por HPLC.

Tabla 8. Composición del producto

Componente	g
L-Isoleucina	56,0
L-lisina	80,0
L-Treonina	48,0
L-Triptofano	16,0
Etilcelulosa ¹	10,0
Total	27,20 N

¹correspondiente a 67 g de una solución de etilcelulosa al 15% en etanol

Preparación para mezcla

Pesar y tamizar los aminoácidos por separado y mezclar durante 20 minutos con la máquina mezcladora en un recipiente apropiado.

Preparación del granulado sin saborizante

Transferir la mezcla a la mezcladora Diosna, mezclando durante 1 minuto con una velocidad de cuchilla de 250 rpm. Humedecer la mezcla con una solución alcohólica de EC (etilcelulosa) (contenido del 15%). Luego de un minuto y 30 segundos agregar la solución y granular durante tres minutos con una velocidad de cuchilla de 500 rpm y una velocidad de la

cortadora de 1500 rpm. Descargar el granulado y hacerlo pasar a través de un tamiz con un ancho de 0,8 mm. Secar en un horno estático durante aproximadamente 5 horas y 30 minutos a 45°C. Descargar y hacerlo pasar a través de un tamiz con un ancho de 1,4 mm.

La formulación se evaluó en las condiciones de disolución que se informan más adelante para determinar la velocidad de liberación de triptofano desde la formulación (pH 1,2) con el canasto a 50 rpm. Los resultados de la prueba de disolución se dan en la Figura 5.

Condiciones de la prueba de disolución

Aparato: Canasto

Temperatura: 37°C ± 5°C

Medio: Ácido clorhídrico 0,1 N

Volumen medio: 27,20 N

Velocidad: 50rpm

Tiempos de muestreo 5', 15', 30', 60', 120', 180', 240', 300' y 360'

Concentración en el recipiente: aproximadamente 90 µg/ml (una fracción del polvo de la formulación de liberación retardada queda como sobrenadante durante la prueba de disolución)

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

Se preparó la siguiente formulación de acuerdo con los procedimientos que se describen más adelante.

Tabla 9. Composición del producto

Componente	Mezcla	Mezcla final (%)
------------	--------	------------------

	final (g)	
L-Isoleucina	3,20	4,18
L-Lisina HCl	4,63	6,05 ¹
L-Treonina	3,31	4,33
L-Triptofano	1,05	1,37
L-Leucina	5,75	7,52
L-Valina	4,00	5,23
L-Metionina	1,28	1,67
L-Cistina	1,27	1,66
L-glutamina	7,82	10,22
L-Histidina HCl	2,35	3,07 ²
L-alanina	3,76	4,91
L-Arginina	3,84	5,02
L-serina	3,69	4,82
Glicina	2,81	3,67
Prolina	4,52	5,91
Ácido L-aspártico	5,76	7,53
Taurina	0,16	0,21
L-Tirosina	4,70	6,14
L-Carnitina	0,10	0,13
Dibehenato de glicerilo	9,12	11,92
Alginato de sodio	0,02	0,03
Etilcelulosa	3,37	4,40
Total	76,51	100,00 ³

¹ correspondiente a 4,84 g de L-Lisina base

² correspondiente a 2,49 g de L-Histidina base

³ correspondiente a 98,21 g si L-Lisina y L-Histidina se consideran base

Equipo de elaboración que se utiliza para la preparación del producto

Equipo que se utiliza para la producción:

- Balanzas de diversos tipos
- Conjunto ProCepT Mipro 900ml
- Tamices
- Horno estático
- ProCepT de lecho fluido para recubrimiento de abajo

hacia arriba (boquilla para masa fundida) (o cualquier otro aparato apropiado para el recubrimiento del granulado con masa fundida en caliente)

Mezcla de aminoácidos

Mezclar todos los aminoácidos en un aparato apropiado

Preparación del granulado

Transferir la mezcla de aminoácidos al aparato ProCepT Mipro, agregar la solución de granulación compuesta de una solución de alginato de sodio al 2% en agua y granular. Luego de la granulación, tamizar el granulado; usar la fracción con $0,5 \text{ mm} < \text{PSD} < 1 \text{ mm}$ para el próximo paso.

Recubrir con Etilcelulosa (Recubrimiento con polímero)

Transferir la fracción tamizada del granulado al aparato de lecho fluido y recubrirla por aspersion con una solución de de etilcelulosa al 15% (peso en peso) en metanol. La cantidad total de polímero que se agrega debe ser igual a aproximadamente un 5,00% del peso del granulado.

Recubrimiento con dibehenato de glicerilo (Recubrimiento con masa fundida en caliente)

Transferir el granulado recubierto de etilcelulosa en el aparato de lecho fluido y recubrirlo por aspersion con dibehenato de glicerilo fundido. La cantidad total de polímero que se agrega debe ser igual a aproximadamente 15,00% en peso del granulado.

Prueba de disolución sobre el producto

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

Temperatura: 9,465 ± 0,5°C
 Volumen Medio: 115,5 ml
 Muestra: 2,0 g de mezcla de aminoácidos
 Prueba ponderal de disolución: 30-60-120-180 minutos

Cada punto de tiempo tiene su propio recipiente de disolución. A los 30-60-120-180 minutos se filtraron al vacío los medios de disolución a través de un papel de filtro. El polvo filtrado y el filtro se secaron durante ±4 horas en un horno al vacío a 50 °C hasta obtener un peso constante y se pesaron las muestras. La cantidad de aminoácidos que se liberó se calculó en base a la diferencia.

Resultados

Los resultados de las pruebas ponderales de disolución se informan en la Tabla 10b y en la Figura 7.

Tabla 10b

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

Condiciones analíticas:

HPLC: Agilent serie 1200:

Detector: Fluorímetro Agilent serie 1200

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

Los aminoácidos se analizan luego de la extracción (de diferentes maneras) y derivatización con FMOC (cloroformiato de

9-Fluorenilmetilo). **NOTA:** la carnitina se analiza por LC/MS.

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

Tabla 10c

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

En la Tabla 10d se dan las formulaciones cuantitativas y cualitativas de cuatro diferentes lotes de partículas de aminoácidos recubiertas de etilcelulosa.

Tabla 10d

Componente	APR Lote 1 (bkT037/72-1)	APR Lote 2 (bkT037/72-2)	APR Lote 3 (bkT037/72-3)	APR Lote 4 (bkT037/72-4)
PSD	0,5 mm < fracción < 1 mm	0,5 mm < fracción < 1 mm	1,0 mm < fracción < 1,6 mm	1,0 mm < fracción < 1,6 mm
Alanina	5,57	5,43	5,57	5,43
Arginina	5,70	5,55	5,70	5,55
Cistina	1,89	1,84	1,89	1,84

Glutamina	11,60	11,30	11,60	11,30
Glicina	4,16	4,05	4,16	4,05
Histidina HCl	3,48	3,39	3,48	3,39
Ácido Aspártico	8,55	8,32	8,55	8,32
Prolina	6,70	6,52	6,70	6,52
Serina	5,48	5,34	5,48	5,34
Taurina	0,23	0,23	0,23	0,23
Tirosina	6,98	6,79	6,98	6,79
Carnitina	0,15	0,14	0,15	0,14
Isoleucin a	4,75	4,62	4,75	4,62
Lisina- HCl	6,86	6,68	6,86	6,68
Treonina	4,90	4,78	4,90	4,78
Triptofan o	1,56	1,52	1,56	1,52
Leucina	8,53	8,30	8,53	8,30
Valina	5,94	5,78	5,94	5,78
Metionina	1,90	1,85	1,90	1,85
Alginato de sodio	0,07	0,07	0,07	0,07
Etilcelul osa	5,00	7,50	5,00	7,50
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

* Todos los pesos que se informan son en base al peso de la base libre.

Método de elaboración (general)

Equipo de elaboración que se utiliza para la preparación del producto

- Balanzas de diversos tipos
- Conjunto ProCepT Mipro 900ml
- Tamices
- Horno estático
- ProCepT recubrimiento por lecho fluido de abajo hacia arriba (boquilla para masa fundida) (o cualquier otro aparato

apropiado para el recubrimiento del granulado con masa fundida en caliente)

Mezcla de aminoácidos

Mezclar todos los aminoácidos en un aparato apropiado.

Preparación del granulado

Transferir la mezcla de aminoácidos al aparato ProCepT Mipro. Agregar la solución de granulación compuesta de una solución de alginato de sodio al 2% en agua y granular. Luego de la granulación, tamizar el granulado; usar la fracción con 0,5 mm < PSD < 1 mm y 0,5 mm < PSD < 1,5 mm para el próximo paso.

Recubrir con Etilcelulosa (Recubrimiento con polímero)

Transferir la fracción tamizada del granulado al aparato de lecho fluido y recubrirla por aspersion con una solución en etanol al 15% (peso en peso) de etilcelulosa. La cantidad total de polímero que se agrega debe ser igual a aproximadamente 5,00% y 7,50% en peso del granulado.

Prueba de disolución sobre el producto

Condiciones de disolución:

Medio de disolución:	pH del medio 1,2 ± 0,1 (Ácido clorhídrico 0,1N)
Aparato:	Aparato de paletas (Aparato 2. USP <711> modificado); 50 rpm
Tiempo	30 - 60 - 120 - 180 -240 minutos
Temperatura:	9,465 ± 0,5°C
Volumen Medio:	115,5 ml
Muestra:	2,0 g de mezcla de aminoácidos

Prueba ponderal de disolución: Tiempos de muestreo: 30-60-120-180 minutos

Cada punto de tiempo tiene su propio recipiente de disolución.

A los 30-60-120-180 minutos se filtraron al vacío los medios de disolución a través de un papel de filtro. El polvo filtrado y el filtro se secaron durante ± 4 horas en un horno al vacío a 50 °C hasta obtener un peso constante y se pesaron las muestras. La cantidad de aminoácidos que se liberó se calculó en base a la diferencia.

Resultados

Los resultados de las pruebas ponderales de disolución se dan en la Tabla 10e y en la figura 9.

Tabla 10e

Lote	Tiempo (min)	% AA liberado
APR Lote 1 bkT037/72-1)	0	0
	30	59
	60	73
	120	86
	180	90
APR Lote 2 (bkT037/72-2)	0	0
	30	59
	60	70
	120	82
	180	90
APR Lote 3 (bkT037/72-3)	0	0
	30	57
	60	70
	120	82
	180	88
APR Lote 4 (bkT037/72-4)	0	0
	30	44
	60	59
	120	62

	180	81
--	-----	----

Los análisis de la liberación de aminoácidos aislados se llevaron a cabo solo en los prototipos APR Lote 2 y APR Lote 4

Condiciones analíticas:

HPLC: Agilent serie 1200:

Detector: Fluorímetro Agilent serie 1200

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

Los aminoácidos se analizan luego de la extracción (de diferentes maneras) y derivatización con FMOC (cloroformiato de 9-Fluorenilmetilo). **NOTA:** La carnitina se analiza por LC/MS.

Resultados (Aminoácidos aislados)

Los resultados de las pruebas de disolución para APR Lote 2 (bkT037/72-2) se dan en la Tabla 10f y en la Figura 10.

Tabla 10f

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

Metionina	0	69,7	77,8	87,6	94,1	97,8
-----------	---	------	------	------	------	------

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

Tabla 10g

	Tiempo (min)					
<i>Aminoácido</i>	<i>0</i>	<i>30</i>	<i>60</i>	<i>120</i>	<i>180</i>	<i>240</i>
Alanina	0	63,2	79,2	92,3	98,5	97,1
Arginina	0	89,9	98,7	103,4	106,5	107,7
Glutamina	0	35,6	48,8	67,1	76,5	79,5
Glicina	0	73,6	86,9	94,6	98,8	97,8
Histidina	0	74,2	81,8	103,6	106,5	94,9
Ácido Aspártico	0	42,3	54,7	68,9	80,2	86,1
Prolina	0	92,5	100,6	105,4	108,0	106,7
Serina	0	78,1	91,4	95,9	100,4	99,1
Taurina	0	60,0	68,7	74,3	83,9	82,2
Tirosina	0	3,2	6,5	5,8	9,4	11,1
Carnitina	0	114,3	121,4	107,1	108,6	125,0
Isoleucina	0	15,6	28,8	47,0	63,4	73,2
Lisina	0	88,8	97,8	101,5	104,3	103,6
Treonina	0	60,0	78,0	96,2	104,2	105,2
Triptofano	0	65,7	77,6	86,2	91,4	91,4
Leucina	0	18,4	31,6	49,4	66,0	74,9
Valina	0	42,9	60,0	77,9	90,1	94,1
Metionina	0	43,2	61,6	67,6	88,1	85,4

Ejemplo 12 - Elaboración y Pruebas de disolución de Formulaciones de liberación modificada usando etilcelulosa y dibehenato de glicerilo como agentes de recubrimiento

La Tabla 11a informa la composición cualitativa y cuantitativa de 4 formulaciones separadas de aminoácidos recubiertas de etilcelulosa y dibehenato de glicerilo como agentes modificadores de la velocidad de liberación.

Tabla 11a

Componente	APR Lote 5 (bkT037/73-5)	APR Lote 6 (bkT037/73-6)	APR Lote 7 (bkT037/73-7)	APR Lote 8 (bkT037/73-8)
PSD	0,5 mm < fracción < 1	0,5 mm < fracción < 1	1,0 mm < fracción < 1	1,0 mm < fracción < 1

	mm	mm	1,6 mm	1,6 mm
Alanina	5,00	4,87	5,00	4,87
Arginina	5,12	4,98	5,12	4,98
Cistina	1,69	1,65	1,69	1,65
Glutamina	10,41	10,13	10,41	10,13
Glicina	3,73	3,63	3,73	3,63
Histidina HCl	3,12	3,04	3,12	3,04
Ácido Aspártico	7,67	7,46	7,67	7,46
Prolina	6,01	5,85	6,01	5,85
Serina	4,92	4,79	4,92	4,79
Taurina	0,21	0,20	0,21	0,20
Tirosina	6,26	6,09	6,26	6,09
Carnitina	0,13	0,13	0,13	0,13
Isoleucin a	4,26	4,15	4,26	4,15
Lisina- HCl	6,16	6,00	6,16	6,00
Treonina	4,40	4,28	4,40	4,28
Triptofan o	1,40	1,36	1,40	1,36
Leucina	7,65	7,45	7,65	7,45
Valina	5,32	5,18	5,32	5,18
Metionina	1,70	1,65	1,70	1,65
Alginato de sodio	0,06	0,06	0,06	0,06
Etilcelul osa	4,49	6,71	4,49	6,71
Dibehenat o de glicerilo	10,0	10,00	10,00	10,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

* Los pesos se dan en base al peso de la base libre.

Método de elaboración (general)

Equipo de elaboración usado en la preparación del producto

- Balanzas de distintos tipos
- Conjunto ProCepT Mipro 900 ml
- Tamices
- Horno estático

- ProCepT de lecho fluido para recubrimiento de abajo hacia arriba (boquilla para masa fundida) (o cualquier otro aparato apropiado para el recubrimiento por fusión en caliente del granulado)

Mezcla de aminoácidos

Mezclar todos los aminoácidos en un aparato apropiado

Preparación del granulado

Transferir la mezcla de aminoácidos al aparato ProCepT Mipro. Agregar la solución de granulación compuesta por una solución de alginato de sodio-agua al 2% y granular. Después de la granulación, tamizar el granulado; usar la fracción que tiene un $0,5 \text{ mm} < \text{PSD} < 1 \text{ mm}$ o $0,5 \text{ mm} < \text{PSD} < 1,6 \text{ mm}$ para el paso siguiente.

Recubrimiento con etilcelulosa (recubrimiento polimérico)

Transferir la fracción tamizada del granulado al aparato de lecho fluido y recubrir por aspersion con una solución de etilcelulosa en metanol al 15% (p/p). La cantidad total de polímero agregado debería ser igual a entre un 5,00% y un 7,50% aproximadamente del peso del granulado.

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

Transferir el granulado recubierto con etilcelulosa en el aparato de lecho fluido y recubrirlo por aspersion con el dibehenato de glicerilo fundido. La cantidad total de polímero agregado debería ser igual a un 10,00% aproximadamente del peso del granulado.

Condiciones analíticas:

Prueba de disolución con el producto

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

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

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

Temperatura: $37 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Volumen del medio: 500 ml

Muestra: 2,0 g de mezcla de aminoácidos

Prueba ponderal de disolución: Tiempo de muestreo: 30-
60-120-180 minutos

A los 30-60-120-180 minutos se filtró el medio de disolución a través de filtro de papel bajo vacío. El polvo filtrado y el filtro se secaron durante ± 4 horas en un horno de vacío a 50 °C hasta alcanzar peso constante y luego se pesaron las muestras. La cantidad de aminoácidos que se liberó se calculó sobre la base de la diferencia.

Resultados

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

Tabla 11b

Lote	Tiempo (min)	% de aa liberados
Lote APR 5 (bkT037/73-5)	0	0
	30	40
	60	53
	120	67
		77

			180	
Lote	APR	6	0	
(bkT037/73-6)				0
			30	38
			60	50
			120	62
			180	69
Lote	APR	7	0	
(bkT037/73-7)				0
			30	26
			60	37
			120	55
			180	63
Lote	APR	8	0	
(bkT037/73-8)				0
			30	21
			60	29
			120	47
			180	56

Los análisis se efectuaron con los prototipos, Lote APR 5 y Lote APR 7

Condiciones analíticas:

- HPLC: Agilent serie 1200
- Detector: Fluorómetro Agilent serie 1200
- Columna cromatográfica: YMC-Triart C18 12 nm S (250 x 4,6 mm – 5 µm)

Los aminoácidos se analizan después de su derivatización con FMOC (cloroformiato de 9-fluorenilmetilo)

Nota: La carnitina se analiza mediante LC/MS.

Resultados (aminoácidos individuales)

Los resultados de la prueba de disolución de aminoácidos individuales para el Lote APR 5 (bkT037/73-5) se informan en la Tabla 11c y en la Figura 13.

Tabla 11c

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

Los resultados de la prueba de disolución de aminoácidos individuales para el Lote APR 7 (bkt037/72-7) se informan en la Tabla 11d y en la Figura 14.

Tabla 11d

	Tiempo (min)					
Aminoácido	0	30	60	120	180	240
Alanina	0	39,0	60,8	86,8	95,0	96,0
Arginina	0	60,2	74,8	92,6	106,1	98,8
Glutamina	0	27,0	37,4	69,5	81,9	84,1
Glicina	0	47,5	66,0	88,2	96,5	94,6
Histidina	0	44,5	58,3	79,1	79,1	75,6
Ácido aspártico	0	27,4	37,2	57,0	70,3	75,9
Prolina	0	67,1	79,0	95,8	90,5	98,7
Serina	0	51,4	67,7	87,2	94,3	93,3
Taurina	0	62,4	81,0	114,3	109,5	110,5
Tirosina	0	2,4	4,9	8,9	19,3	20,9
Carnitina	0	68,0	82,3	96,9	98,5	96,9
Isoleucina	0	5,8	15,0	39,7	61,3	69,7
Lisina	0	62,6	76,6	93,1	94,9	96,3
Treonina	0	31,6	54,3	84,1	94,8	98,2
Triptofano	0	45,7	63,2	82,1	86,4	90,7
Leucina	0	7,1	17,5	41,7	62,5	71,2
Valina	0	19,0	36,5	66,9	83,3	86,1
Metionina	0	31,9	48,0	77,6	75,9	88,2

En la Tabla 11e y en la Figura 15 se informa el total de aminoácidos liberados (Prueba ponderal de disolución) en varios puntos de tiempo de cada una de las cuatro formulaciones de prueba en comparación con una formulación de aminoácidos de liberación inmediata.

Tabla 11e

Lote	Tiempo (min)	% de aa liberados
Lote APR 2 (bkt037/72-2)	0	0
	30	59
	60	70
	120	82
	180	90
Lote APR 4 (bkt037/72-4)	0	0
	30	44
	60	59

	120	62
	180	81
Lote APR 5 (bkT037/73-5)	0	0
	30	40
	60	53
	120	67
	180	77
Lote APR 7 (bkT037/73-7)	0	0
	30	26
	60	37
	120	55
	180	63
Mezcla de AA (bkT037/71)	0	0
	30	100
	60	100
	120	100
	180	100

En las Tablas 11f-11j se informa la cantidad de aminoácidos individuales liberados de las cuatro formulaciones de prueba diferentes en puntos de tiempo distintos.

Tabla 11f

30 minutos					
Aminoácido	AA libres (bkT037/71)	Lote APR 2 (bkT037/72-2)	Lote APR 4 (bkT037/72-4)	Lote APR 5 (bkT037/73-5)	Lote APR 7 (bkT037/73-7)
Alanina	111,8	80,1	63,2	54,4	39,0
Arginina	110,1	113,7	89,9	84,6	60,2
Glutamina	85,9	53,2	35,6	38,5	27,0
Glicina	112,6	85,9	73,6	64,9	47,5
Histidina	102,7	84,0	74,2	39,3	44,5
Ácido aspártico	103,7	48,1	42,3	34,8	27,4

Prolina	109,9	104,1	92,5	87,7	67,1
Serina	108,1	91,2	78,1	70,1	51,4
Taurina	120,0	85,7	60,0	81,4	62,4
Tirosina	103,9	4,5	3,2	2,4	2,4
Carnitina	122,5	128,6	114,3	88,5	68,0
Isoleucina	103,6	28,8	15,6	11,2	5,8
Lisina	103,8	98,1	88,8	85,2	62,6
Treonina	97,7	77,4	60,0	47,5	31,6
Triptofano	100,0	82,2	65,7	68,8	45,7
Leucina	110,1	33,0	18,4	13,9	7,1
Valina	105,4	65,9	42,9	35,0	19,0
Metionina	107,0	69,7	43,2	47,4	31,9

Tabla 11g

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

Leucina	106,6	53,1	31,6	30,5	17,5
Valina	103,4	83,6	60,0	58,8	36,5
Metionina	104,5	77,8	61,6	73,5	48,0

Tabla 11h

	120 minutos			
Aminoácido	Lote APR 2 (bkt037/72-2)	Lote APR 4	(bkt037/72-4)	Lote APR 5
(bkt037/73-5)	Lote APR 7	(bkt037/73-7)	Alanina	100,0
92,3	102,2	86,8	Arginina	109,7
103,4	106,1	92,6	Glutamina	83,7
67,1	84,9	69,5	Glicina	95,6
94,6	96,8	88,2	Histidina	104,0
103,6	79,5	79,1	Ácido aspártico	71,8
68,9	65,1	57,0	Prolina	102,3
105,4	101,8	95,8	Serina	98,7
95,9	96,1	87,2	Taurina	90,0
74,3	112,4	114,3	Tirosina	12,4
5,8	12,0	8,9	Carnitina	108,6
107,1	109,2	96,9	Isoleucina	72,9
47,0	58,7	39,7	Lisina	102,8
101,5	100,2	93,1	Treonina	102,7
96,2	95,5	84,1	Triptofano	92,8
86,2	87,9	82,1	Leucina	76,9
49,4	60,8	41,7	Valina	94,1
77,9	86,3	66,9	Metionina	87,6
67,6	87,6	77,6		

Tabla 11i

	180 minutos			
	Lote APR 2 (bkt037/72-2)	Lote APR 4 (bkt037/72-4)	Lote APR 5 (bkt037/73-5)	Lote APR 7 (bkt037/73-7)
Alanina	102,0	98,5	102,0	95,0
Arginina	108,8	106,5	104,9	106,1
Glutamina	82,8	76,5	92,9	81,9
Glicina	96,3	98,8	95,7	96,5
Histidina	108,4	106,5	81,1	79,1
Ácido aspártico	84,0	80,2	76,0	70,3
Prolina	101,8	108,0	99,2	90,5
Serina	98,3	100,4	95,5	94,3
Taurina	82,2	83,9	126,2	109,5

Tirosina	23,0	9,4	21,2	19,3
Carnitina	121,4	108,6	111,5	98,5
Isoleucina	85,9	63,4	75,8	61,3
Lisina	102,2	104,3	98,2	94,9
Treonina	102,7	104,2	97,3	94,8
Triptofano	94,1	91,4	96,4	86,4
Leucina	89,8	66,0	79,1	62,5
Valina	98,6	90,1	91,7	83,3
Metionina	94,1	88,1	91,2	75,9

Tabla 11j

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

Ejemplo 13 - Composición final de aminoácidos

La composición cuantitativa de la mezcla de aminoácidos para fenilcetonuria se optimizó de acuerdo con las recomendaciones del nutricionista; los porcentajes de aminoácidos individuales se informan en la Tabla 12a.

Tabla 12^a

Aminoácido	% (con HCl)	Aminoácido	% (como
------------	-------------	------------	---------

			base)
L-alanina	2,9	L-alanina	2,9
L-arginina	3,9	L-arginina	3,9
L-cistina	2,0	L-cistina	2,0
L-glutamina	19,5	L-glutamina	19,5
Glicina	4,9	Glicina	4,9
L-histidina HCl	3,4	L-histidina	2,76
L-ácido aspártico	5,9	L-ácido aspártico	5,9
L-prolina	5,9	L-prolina	5,9
L-serina	3,3	L-serina	3,3
Taurina	0,3	Taurina	0,3
L-tirosina	9,8	L-tirosina	9,8
L-carnitina	0,1	L-carnitina	0,1
L-isoleucina	5,4	L-isoleucina	5,4
L-lisina HCl	8,5	L-lisina	6,80
L-treonina	4,9	L-treonina	4,9
L-triptofano	2,0	L-triptofano	2,0
L-leucina	11,2	L-leucina	11,2
L-valina	4,9	L-valina	4,9
L-metionina	1,4	L-metionina	1,4
Total	100	Total	98

Ejemplo 14 - Biodisponibilidad en cerdos in vivo

Se condujo un estudio de biodisponibilidad *in vivo* en cerdos con el fin definir un modelo anticipado de farmacocinética y metabolismo de las formulaciones de la presente invención en comparación con una mezcla de aminoácidos libres comparable, de proporciones y cantidades totales de aminoácidos similares, y una formulación disponible comercialmente de proteínas de la leche (caseína). Se evaluaron las siguientes formulaciones:

- APR-04 (bkT037/72-4)
- APR-07 (bkT037/73-7)
- Aminoácidos libres (bkT037/71)
- Caseína

Diseño del estudio in vivo

- Sujetos: 8 cerdos
- Diseño: 4 formulaciones en cruzamiento
- Ruta y método de administración: oral, mediante gavaje.

La dosis del producto se administró a cada animal mezclada con una pequeña cantidad de agua (300 ml) con el fin de asegurar una ingesta rápida (≤ 5 minutos). La cantidad total del producto se administró usando jeringas. Los animales se hicieron ayunar durante $13,5 \pm 0,5$ horas antes del tratamiento y el acceso a agua se suspendió una hora antes y una hora después del tratamiento.

- *Dosis, frecuencia y duración de la administración:* La cantidad de producto administrada se basó en el peso corporal y era igual a 0,8 g de aminoácido/kg de peso corporal para cada producto de prueba. *Los productos se administraron mediante una sola administración por la mañana de cada día de tratamiento.*

- *Lavado:* 48-72 horas

- *Toma de muestras de sangre:* 0,75 h antes del tratamiento (T), 0,5 h antes del T, 0,25 h antes del T, 0,25 h después del T, 0,5 h después del T, 0,75 h después del T, 1 h después del T, 1,25 h después del T, 1,5 h después del T, 2 h después del T, 2,5 h después del T, 3 h después del T, 4 h después del T, 5 h después del T

- *Análisis:* Se midieron y analizaron las concentraciones en plasma de 14 aminoácidos (alanina, arginina, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina). Se excluyeron los aminoácidos metionina y ácido aspártico del análisis debido a

problemas de estabilidad. Se evaluaron los siguientes parámetros: Área bajo la curva de concentración/tiempo (AUC0-última), concentración pico ($C_{\text{máx}}$), tiempo hasta la concentración pico ($T_{\text{máx}}$) y $C_{\text{última}}$. Se comparó el comportamiento de las dos formulaciones APR con la formulación de aminoácidos libres y caseína.

Resultados:

La concentración en plasma de un aminoácido (AA) es el resultado de sus índices de aparición (Ra) y desaparición (Rd) del plasma. Los factores que controlan el Ra incluyen la ingesta de proteínas y la liberación tisular. Los factores que controlan el Rd incluyen la captación tisular y su pérdida del cuerpo a través de orina, sudor, etc. Las hormonas también ayudan a regular las concentraciones de AA en plasma, en particular la insulina y el glucagón que inducen, ambos, una hipoaminoacidemia (pero por razones bastante diferente), y el cortisol, que induce hiperaminoacidemia. Además, en los estados patológicos, las catecolaminas, las hormonas tiroideas y las citoquinas pueden modular los niveles de AA en plasma. La disponibilidad periférica de Aa después de la ingesta de proteínas está controlada por el hígado, con activación de la ureagénesis con una alimentación hiperproteica y represión de la misma con una dieta hipoproteica (Cynober 2002) . Todos estos factores pueden afectar la concentración de aminoácidos en plasma informada en la presente.

1) Concentraciones promedio de aminoácidos agrupados en

plasma

Las concentraciones promedio en plasma de los 14 aminoácidos en el tiempo, sobre la base de agrupaciones, se informan en la Figura 16 y en la Tabla 14a. Los valores basales no se restaron antes de efectuar los cálculos.

Tabla 14a

14 AA (DATOS PROCESAR) SIN	APR-04	APR-07	Aminoáci dos libres	Caseína
AUC 0-última	1184,1	1141,8	1200,7	1125,6
C _{máx}	339,0	341,9	419,2	324,8
C _{última}	190,8	168,7	163,5	172,9

Se pueden formular las siguientes observaciones:

- Las Formulaciones APR presentan un pico en plasma más bajo de aminoácidos agrupados (C_{máx}) en comparación con la formulación de aminoácidos libres.
- Si se considera la curva de los aminoácidos individuales, un ANOVA de mediciones repetidas aplicado a los datos transformados por Ln muestran una diferencia significativa ($p<0,05$) en la C_{máx} de APR-04 versus los aminoácidos libres para arginina, isoleucina, leucina, tirosina y valina.
- Si se considera la curva de los aminoácidos individuales, un ANOVA de mediciones repetidas aplicado a los datos transformados por Ln muestran una diferencia significativa ($p<0,05$) en la C_{máx} de APR-07 versus los aminoácidos libres para isoleucina, leucina, tirosina y valina.
- La diferencia en la C_{máx} es aún más evidente si se

consideran los datos BC, donde los valores basales de los aminoácidos se restan, como se muestra a continuación en la Tabla 14b, si bien la diferencia no es estadísticamente significativa para la media de todos los aminoácidos agrupados:

Tabla 14b

14 AA (DATOS BC)	APR-04	APR-07	Aminoácido s libres	Caseína
AUC 0- última	332,3	302,3	382,9	258,9
C _{máx}	168,6	172,5	251,5	147,3

- La mayor concentración pico inicial de aminoácidos en plasma (C_{máx}) observada para la formulación de aminoácidos libres disminuye rápidamente, como lo demuestra el parámetro “C_{última}”. La “C_{última}” es la concentración de aminoácidos en plasma en la última toma de muestras (5 h)
- Si se compara la curva de los aminoácidos individuales, en el grupo tratado con APR-04, la C_{última} es más alta (pero no estadísticamente significativa excepto por valina) versus el grupo de aminoácidos libres para alanina, arginina, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, prolina, serina, treonina, triptofano y valina (13 de 14 aminoácidos)
- Si se compara la curva de los aminoácidos individuales, en el grupo tratado con APR-04, la C_{última} es más alta (pero no estadísticamente significativa excepto por valina, isoleucina y leucina) versus el grupo de aminoácidos libres para arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, prolina, triptofano y valina (8 de 14 aminoácidos)

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

2) *Media de las concentraciones de aminoácidos esenciales analizadas (arginina, histidina, isoleucina, leucina, treonina, lisina, triptofano y valina).*

Las concentraciones promedio en plasma de los aminoácidos esenciales evaluadas, sobre la base de agrupaciones, se informan en la Figura 17 y en la Tabla 14c. Los aminoácidos agrupados para el análisis fueron arginina, histidina, isoleucina, leucina, treonina, lisina, triptofano y valina. Se eligió este subgrupo para el análisis porque estos aminoácidos no pueden ser sintetizados endógenamente. Como resultado de ello, sus concentraciones en plasma de las muestras tomadas de la vena yugular serían más representativas de la adsorción intestinal de las formulaciones evaluadas que para los aminoácidos no esenciales, cuya presencia en sangre podría deberse a su generación independiente por el organismo.

Tabla 14c

AA ESENCIALES (DATOS SIN PROCESAR)	APR-04	APR-07	Aminoácidos libres	Caseína
AUC 0-última	1020,5	1029,0	1098,5	969,9
$C_{\text{máx}}$	277,0	292,9	409,0	299,1

T _{máx}	1,50	1,19	0,88	1,16
C _{última}	170,7	166,2	138,2	153,0

El análisis estadístico de los datos informados en la Tabla 14c (para AUC, C_{máx} y C_{última}: ANOVA de mediciones repetidas de una vía con análisis post hoc con ajuste de Bonferroni; para la T_{máx}: la prueba de Friedman seguido por la prueba de signos múltiples para una comparación apareada) se informa en la Tabla 14d.

Tabla 14d

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

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

Las concentraciones promedio en plasma de los aminoácidos de cadena ramificada evaluadas, sobre la base de agrupaciones, se informan en la Figura 18 y en la Tabla 14c. Los aminoácidos agrupados para el análisis fueron valina, isoleucina y leucina. Se eligió este subgrupo de aminoácidos esenciales para el análisis porque estos aminoácidos esenciales son únicos entre los aminoácidos por cuanto su primer paso catabólico no puede tener lugar en el hígado. Como consecuencia, escapan mayormente la primera pasada del metabolismo esplácnico (Brosnan et al).

Tabla 14e

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

El análisis estadístico de los datos informados en la Tabla 14e (para AUC, C_{máx} y C_{última}: ANOVA de mediciones repetidas de una vía con análisis post hoc con ajuste de Bonferroni; para la T_{máx}: la prueba de Friedman seguido por la prueba de signos múltiples para una comparación apareada) se informa en la Tabla 14f.

Tabla 14f

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

4) *Media de la concentración de LNAA totales (aminoácidos neutros grandes: fenilalanina, tirosina, triptofano, treonina, metionina, valina, isoleucina, leucina, histidina).*

Las concentraciones promedio en plasma de los aminoácidos neutros grandes evaluadas, sobre la base de agrupados, se informan en la Figura 19 y en la Tabla 14g. Los aminoácidos agrupados para el análisis fueron triptofano, treonina, valina, isoleucina, leucina, histidina. Se excluyó la tirosina debido al comportamiento anómalo que presenta en las pruebas de disolución e *in vivo*, y la metionina porque no era estable en las muestras.

Se excluyó la fenilalanina del análisis porque no estaba presente en las formulaciones evaluadas. Se eligió este subgrupo de aminoácidos esenciales para el análisis porque los LNAA comparten con la fenilalanina un sistema de transporte común para ingresar en el cerebro. Una gran concentración en plasma de los LNAA puede reducir la captación en el cerebro (Van Spronsen et al) y por lo tanto podría ofrecer ventajas clínicas. En particular, si el análisis del subgrupo muestra una $C_{\text{última}}$ incrementada para las formulaciones APR versus las formulaciones de aminoácidos libres, se puede considerar que el paciente puede tener alguna clase de “protección/tolerancia prolongada” a la fenilalanina.

Tabla 14g

LNAA (DATOS SIN PROCESAR)	APR-04	APR-07	Aminoáci dos libres	Caseína
AUC _{0-última}	925,0	921,8	1028.3	868.9
C _{máx}	244.3	240,0	383.9	256.6
T _{máx}	2.16	1,22	0.69	1.16
C _{última}	166.9	161,8	132,5	143,0

El análisis estadístico de los datos informados en la Tabla 14g (para AUC, C_{máx} y C_{última}: ANOVA de mediciones repetidas de una vía con análisis post hoc con ajuste de Bonferroni; para la T_{máx}: la prueba de Friedman seguido por la prueba de signos múltiples para una comparación apareada) se informa en la Tabla 14h.

Tabla 14h

DATOS SIN PROCESAR	AUC	C _{máx}	T _{máx}	C _{última}
AA libres versus APR-04	NS	<0,01	<0,01	0,031
AA libres versus APR-07	NS	<0,01	NS (0,070)	<0,01

En toda esta solicitud se hace referencia a diversas publicaciones. Las divulgaciones de estas publicaciones se incorporan en esta solicitud a modo de referencia a fin de describir más acabadamente el estado del arte al cual pertenece esta invención. Para los especialistas en el arte será evidente que es posible realizar diversas modificaciones y variaciones a la presente invención sin apartarse del espíritu o alcance de la misma. Otras formas de realización de la invención serán evidentes para los especialistas en el arte teniendo en cuenta la Descripción y la práctica de la invención divulgada en la presente. Se debe tener en cuenta que la Descripción y los ejemplos solamente se ofrecen a modo de ejemplo, siendo que el verdadero alcance y espíritu de la invención estarán indicados por las siguientes reivindicaciones.

REFERENCIAS CITADAS

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

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

BROSNAN JT. BROSNAN ME. Branched-chain amino acids:enzyme and substrate regulation. J Nutr. 2006 Jan;136(1 Suppl):207S-11S.

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

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

EMA 2010. Guideline on the investigation of bioequivalence CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1. London. 20 January 2010

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

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

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

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

Chapter 1:Nutrizione. pp. 1-47

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

Chapter 10:Metabolismo degli amminoacidi. pp. 584-639.

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

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

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

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

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

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

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

WHANG K.Y. AND EASTER R.A. Asian-Aus. J. Anim. Sci. 2000 Vol.13. No 6:811-816