

REIVINDICACIONES

1. Un comprimido farmacéutico en capas que comprende una primera capa y una segunda capa, caracterizado en que:

(a) cada capa comprende un organismo probiótico o combinación de organismos probióticos, seleccionado del grupo que consiste en el género *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Bacteroides* y *Eubacterium*; en donde el organismo probiótico o combinación de organismos probióticos en cada capa es distinto;

y en donde las capas comparten un componente de formulación de excipiente idéntico o combinación de componentes de formulación de excipientes idénticos seleccionado de:

- (b) hidroxipropilmetilcelulosa
- (c) pectina
- (d) NaHCO_3
- (e) celulosa microcristalina.

2. El comprimido farmacéutico en capas de conformidad con la reivindicación 1, en donde el comprimido farmacéutico es una tableta de doble capa comprimida o una capleta de doble capa comprimida.

3. El comprimido farmacéutico en capas de conformidad con la reivindicación 1 ó 2, en donde el componente de formulación de excipiente idéntico o combinación de componentes de formulación de excipientes idénticos se comparten, por lo que para cada componente compartido, el porcentaje relativo (p/p) de ese componente compartido en la primera capa está dentro del 20% del porcentaje relativo (p/p) de ese componente compartido en la segunda capa.
4. El comprimido farmacéutico en capas de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde las cantidades relativas de pesos de la primera capa y la segunda capa varían desde 60%:40% a 70%:30%.
5. El comprimido farmacéutico en capas de conformidad con cualquier reivindicación precedente, en donde una o ambas capas incluyen 5-40% del componente (b); 5-40% del componente (c), y 1-40% del componente (d).
6. El comprimido farmacéutico en capas de conformidad con cualquier reivindicación precedente, en donde la formulación incluye carbonato de sodio, bicarbonato de sodio o fosfato de sodio.

7. El comprimido farmacéutico en capas de conformidad con cualquier reivindicación precedente, en donde la primera capa incluye un organismo probiótico o combinación de organismos probióticos originarios del género *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* o cualquier combinación de los mismos y la segunda capa incluye un organismo probiótico u organismos probióticos originarios del género *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, y *Eubacterium* o cualquier combinación de los mismos.
8. El comprimido farmacéutico en capas de conformidad con la reivindicación 1, en donde todos los organismos probióticos en la primera capa son diferentes de todos los organismos probióticos en la segunda capa.
9. Un método para la fabricación del comprimido farmacéutico en capas de conformidad con cualquier reivindicación precedente, que comprende:

incluir las formulaciones que comprenden distintos probióticos en cada una de por lo menos una primera capa y una segunda capa;

comprimir la primera capa y la segunda capa; y

formar una unidad cohesiva simple.

10.El método de conformidad con la reivindicación 9,
caracterizado porque además comprende:
pre-compresión de una de la primera capa y la segunda
capa.

Señor

Director de la Dirección de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Industria y Turismo

E. S. D.

Re.: Expediente No. **NC2016/0005775**

Solicitud de Patente de PCT entrada en fase nacional para: **“UN COMPRIMIDO FARMACÉUTICO EN CAPAS PARA SU LIBERACIÓN CONTROLADA QUE INCLUYE PROBIÓTICOS”**

Solicitante: **PROBI USA INC.**

RESPUESTA AL SEGUNDO EXAMEN DE FONDO

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, obrando en mi calidad de apoderada de la sociedad solicitante del asunto citado en la referencia, en atención a su oficio No. **14664** notificado el **7 de diciembre 2018**, atentamente me permito dar respuesta al mismo de la siguiente manera:

1. Título

*El examinador afirma que el objeto de la presente solicitud es proporcionar un comprimido farmacéutico de liberación controlada en dos capas, en donde una capa comprende el probiótico *Bifidobacterium lactis* y la otra capa comprende el probiótico *Lactobacillus fermentum*. Por lo tanto, el examinador alega que el título actual (“UN COMPRIMIDO FARMACÉUTICO EN CAPAS PARA SU LIBERACIÓN CONTROLADA QUE INCLUYE PROBIÓTICOS”) no es claro debido a que es muy general.*

A este respecto se desea enfatizar en que la presente invención está relacionada con una nueva e inventiva tecnología de dosificación de plataforma en donde el comprimido farmacéutico en capas de la invención tiene una primera y una segunda capa, en donde cada capa comprende un organismo probiótico distinta o combinación distinta de organismos probióticos.

Con se indicó en respuestas anteriores, el arte previo no enseña ni sugiere un comprimido farmacéutico en capas que comprenda un organismo probiótico distinto o combinación distinta de organismos probióticos en cada capa. Por lo tanto, esto forma parte de la contribución significativa por parte de los inventores al arte previo.

Cabe mencionar que en la solicitud no se está enseñando que la selección de *Bifidobacterium lactis* y *Lactobacillus fermentum* sea preferida, ni tampoco que dicha selección de bacterias probióticas tenga alguna ventaja selectiva sobre otras posibles combinaciones de bacterias probióticas para las dos capas. Más bien, los ejemplos demuestran que las dos capas pueden producirse de una forma tal que dirijan su carga útil de probióticos a diferentes áreas del tracto gastrointestinal y, por lo tanto, esto puede usarse para administrar el probiótico “X” a un área y el probiótico “Y” a otra área del tracto gastrointestinal. Las bacterias probióticas *Bifidobacterium lactis* y *Lactobacillus fermentum* son meramente usadas en los ejemplos para representar cualquier especie bacteriana probiótica.

Es decir, los ejemplos no se relacionan con un efecto técnico específico de la selección de *Bifidobacterium lactis* y *Lactobacillus fermentum*, aparte del efecto técnico general de haber seleccionado distintas bacterias probióticas para cada capa.

Por lo tanto, la invención no se relaciona con, y no debe ser limitada, únicamente a ciertas especies de bacterias probióticas. De hacerlo así, la contribución de los inventores al arte previo por proveer una nueva e inventiva tecnología de dosificación de plataforma no estaría siendo conmensurable.

Por lo expuesto anteriormente, se considera que el título no requiere de ninguna modificación adicional y se solicita al Examinador, acepte el mismo.

2. Claridad y concisión de las Reivindicaciones

De acuerdo con lo establecido en el Artículo 34 de la Decisión 486 y en vista de las observaciones realizadas por el examinador, se presenta en esta oportunidad un nuevo pliego reivindicatorio conformado por **10 reivindicaciones**. Respecto a este nuevo pliego reivindicatorio, se solicita tener en cuenta lo siguiente:

2.1. Sobre el término “cohesivo” en las reivindicaciones previas 1 y 2.

El examinador afirma que el término “cohesivo” en dichas reivindicaciones no es claro. Indica que dicha palabra sugiere que el comprimido tiene comportamiento cohesivo más no que el término refiera a la cohesión de las capas del comprimido.

A fin de superar la objeción, se ha borrado dicho término en cada una de las reivindicaciones como se señala abajo. De manera que se solicita sea retirada dicha objeción.

Reivindicación 1:

1. Un comprimido farmacéutico en capas que comprende una primera capa y una segunda capa, caracterizado ~~porque~~ en que:
 - (a) cada capa comprende un organismo probiótico o combinación de organismos probióticos, ~~junto con un componente de formulación de excipiente o combinación de componentes de formulación de excipientes~~ seleccionado del grupo que consiste en el género *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Bacteroides* y *Eubacterium*; en donde el organismo probiótico o combinación de organismos probióticos en cada capa es distinto;
~~y donde la formulación se provee como un comprimido farmacéutico cohesivo.~~
y en donde las capas comparten un componente de formulación de excipiente idéntico o combinación de componentes de formulación de excipientes idénticos seleccionado de:
 - (b) hidroxipropilmetilcelulosa
 - (c) pectina
 - (d) NaHCO_3
 - (e) celulosa microcristalina.

Reivindicación 2:

El comprimido farmacéutico en capas de conformidad con la reivindicación 1, en donde el comprimido farmacéutico ~~cohesivo~~ es una tableta de doble capa comprimida o una capleta de doble capa comprimida.

2.2. Sobre “el porcentaje relativo” en la reivindicación previa 3

El examinador afirma que la frase “por lo que el porcentaje relativo (p/p) de cada componente compartido en cada capa está dentro del 20% de cada otra capa”.

Dicha frase se ha modificado para que ahora se lea como:

“por lo que para cada componente compartido, el porcentaje relativo (p/p) de ese componente compartido en la primera capa está dentro del 20% del porcentaje relativo (p/p) de ese componente compartido en la segunda capa”.

De acuerdo con dichas palabras, cualquier experto técnico en la materia deberá entender claramente que, para cada componente compartido, la cantidad (p/p) en la primera capa puede ser hasta un 20% más alta, o hasta un 20% más baja, que la cantidad correspondiente en la segunda capa.

Reivindicación 3:

3. El comprimido farmacéutico en capas de conformidad con la reivindicación 1 ó 2, en donde el componente de formulación de excipiente idéntico o combinación de componentes de formulación de excipientes idénticos se comparten, por lo que, para cada componente compartido, el porcentaje relativo (p/p) de ese componente compartido en la primera capa está dentro del 20% del porcentaje relativo (p/p) de ese componente compartido en la segunda capa.

De acuerdo a dicha modificación, la reivindicación 3 es clara.

2.3. Sobre el término “y/o” descrito en la reivindicación previa 6.

El examinador afirma que el término “y/o” en dicha reivindicación (reivindicación enmendada actual 5) es impreciso.

La reivindicación se ha modificado para que ahora se pueda leer como:

Reivindicación previa 6 (reivindicación enmendada actual 5)

~~6.~~ 5. El comprimido farmacéutico en capas de conformidad con la ~~reivindicación 5~~ cualquier reivindicación precedente, en donde ~~la primera capa y/o la segunda capa~~ una o ambas capas incluyen 5-40% del componente (b) agente hidrofílico; 5-40% del componente (c) agente modificador de liberación, y 1-40% del componente (d) electrolito.

Con base en la modificación realizada, se considera que la reivindicación modificada es ahora precisa.

2.4. Sobre el término “ácido protector” en la reivindicación previa 7 (reivindicación enmendada actual 6).

El examinador afirma que la reivindicación previa 7 (reivindicación enmendada actual 6) no es clara porque sugiere que la formulación comprende una molécula protectora cuya naturaleza es ácida y, sin embargo, ninguna de las moléculas reclamadas es ácida.

Lo anterior se debe a un error de traducción. El término “ácido protector” se refiere a una molécula que protege del ácido, no un ácido que se protege a sí mismo y por ende, la traducción correcta de dicho término es “protector de ácido”. Sin embargo, dicho término objetado se ha eliminado de la actual reivindicación 6, la cual ahora simplemente refiere a una modalidad donde la formulación incluye carbonato de sodio, bicarbonato de sodio o fosfato de sodio.

Reivindicación previa 7 (reivindicación actual 6)

~~6.~~ 7. El comprimido farmacéutico en capas de conformidad con cualquier reivindicación precedente, en donde la formulación incluye ~~un ácido protector seleccionado entre~~ carbonato de sodio, bicarbonato de sodio o fosfato de sodio.

Aunque el término fue eliminado en las reivindicaciones, se reemplaza en la descripción el término “ácido protector” por “protectoras de ácido”[véase descripción modificada p.6, l.5] a fin de darle claridad a dicho párrafo.

2.5. Sobre el término “superóxido dismutasa (SodA)” en la reivindicación previa 14.

El examinador afirma que la reivindicación previa 14 no es clara y no está soportada en la descripción debido a la frase “en donde el probiótico comprende la superóxido dismutasa (SodA)”

Dicha reivindicación se ha eliminado para superar la objeción al respecto de ésta.

2.6. Sobre la definición por “géneros funcionales” en las reivindicaciones previas 1, 5, 6 y 8.

El examinador afirma que las reivindicaciones previas 1, 5, 6 y 8 (reivindicaciones actuales 1 y 5) no son concisas debido a la inclusión de términos funcionales (“probiótico”, “agente hidrofílico”, “ácido protector”, “modificador de liberación”, “electrolito”, “derivados de celulosa”, “polisacáridos” y “galactomananos”).

Se ha modificado la reivindicación 1 para proporcionar definición adicional de sus componentes, incluyendo las características de las reivindicaciones previas 5, 8-11.

La presente reivindicación 1 ahora requiere que el componente de formulación de excipiente idéntico o combinación de componentes de formulación de excipientes idénticos se seleccione de hidroxipropilmetilcelulosa, pectina, NaHCO_3 o celulosa microcristalina, cada una de las cuales ha sido identificada por el examinador como soportado por los ejemplos en la descripción.

En consecuencia, los términos “agente hidrofílico”, “ácido protector”, “modificador de liberación”, “electrolito”, “derivados de celulosa”, “polisacáridos” y “galactomananos” han sido eliminados de las reivindicaciones.

El término “probiótico” ha sido modificado en todas las reivindicaciones como “organismo probiótico” con base en el documento WO 2016/003870 página 5, l. 10-13. También se ha introducido una lista discreta de dichos organismos probióticos en la reivindicación 1 actual, con base en el documento WO 2016/003870, p. 5, l. 13 y la reivindicación 4 del PCT. El término “organismo probiótico” es bien conocido por el experto, quien sería capaz de determinar si cualquier organismo dado dentro de la lista de géneros en la reivindicación 1 actual es un organismo probiótico.

Por lo tanto, la reivindicación enmendada (actual) 1 puede leerse de la siguiente manera:

1. Un comprimido farmacéutico en capas que comprende una primera capa y una segunda capa, caracterizado en que:

(a) cada capa comprende un organismo probiótico o combinación de organismos probióticos, seleccionado del grupo que consiste en el género *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Bacteroides* y *Eubacterium*; en donde el organismo probiótico o combinación de organismos probióticos en cada capa es distinto; y en donde las capas comparten un componente de formulación de excipiente idéntico o combinación de componentes de formulación de excipientes idénticos seleccionado de:

- (b) hidroxipropilmetilcelulosa
- (c) pectina
- (d) NaHCO_3
- (e) celulosa microcristalina.

En vista de las aclaraciones previamente presentadas, las modificaciones que se presentan en este nuevo pliego reivindicatorio son claras y no contienen términos imprecisos y/o poco claros.

3. Descripción

El examinador afirma que varios enunciados en la descripción no son claros.

A fin de superar la objeción, la descripción como sigue:

Descripción modificada p.11, l. 13-17:

~~“Los probióticos~~ Las formulaciones de la presente invención pueden también incluir ~~incluyen~~ enzimas probióticas producidas, o derivadas o aisladas de bacterias, y otros subproductos probióticos, incluyendo, por ejemplo, superóxido dismutasa (SodA)”.

Descripción modificada p.12, l. 4-7:

“Los componentes adicionales de las formulaciones de probióticos incluyen agentes hidrofílicos, tales como, por ejemplo, agentes de hinchamiento ~~hinchazón~~, agentes que aumentan ~~aumento de~~ la viscosidad, agentes potenciadores de la concentración de gel”.

Descripción modificada p.27, l. 9-10 (encabezado del ejemplo 1):

“Ejemplo 1: Formulación y preparación ~~cohesiva~~ de comprimidos de dos capas que comprenden *B. lactis* y *L. Fermentum*”

Insuficiencia de divulgación -SodA:

El examinador alega que la descripción no revela suficientemente la materia reivindicada en la reivindicación previa 14 (“...en donde el probiótico comprende la superóxido dismutasa (SodA)”) debido a que no se proporciona evidencia experimental relacionada.

La reivindicación previa 14 ha sido eliminada, por lo que solicitamos se retire dicha objeción.

Insuficiencia de divulgación -combinación de probióticos:

El examinador alega que la descripción carece de la divulgación suficiente porque no presenta un desarrollo experimental que demuestre como llegar a determinadas combinaciones reivindicadas.

En particular, el examinador apunta a las siguientes frases en las reclamaciones anteriores:

- (i) *“...caracterizado porque cada capa comprende un probiótico distinto o combinación distinta de probióticos...” (Reivindicación previa 1).*
- (ii) *“...en donde la primera capa incluye un probiótico o probióticos originarios del género *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* o cualquier combinación de los mismos” (Reivindicación previa 12).*
- (iii) *“...en donde la formulación incluye un ácido protector seleccionado entre carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, fosfato de sodio, y cualquier combinación de los mismos” (Reivindicación previa 7); y*
- (iv) *“...en donde el agente hidrofílico se selecciona entre almidones, derivados de celulosa, polisacáridos, galactomananos, y cualquier combinación de los mismos” (Reivindicación previa 8).*

La reivindicación previa 8 y la frase “y cualquier combinación de los mismos” de la reivindicación 7 han sido eliminadas. Dichas modificaciones debieran superar las objeciones descritas en los puntos (iii) y (iv) señalados arriba.

4. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determinó con base en la fecha de prioridad: 1 de julio de 2014 y no se encontraron documentos que anticipen el objeto de esta solicitud.

Aspecto clave de la presente invención: La principal característica distintiva entre la presente solicitud y la técnica anterior citada es que la presente solicitud es la primera en divulgar el concepto inventivo de un comprimido farmacéutico en capas en la que cada capa comprende un organismo probiótico distinto o una combinación de organismos probióticos.

Las reivindicaciones y la descripción de la presente solicitud proporcionan detalles suficientes para la persona experta en la materia sobre cómo poner en práctica la invención. El experto en la materia no requiere de datos experimentales específicos sobre cómo usar una combinación de más de uno de cualquier tipo de componentes, antes de poder poner en práctica la invención.

Tomando como ejemplo los puntos (i) y (ii) anteriores, las reivindicaciones previas 1 y 12 reclamaban modalidades que incluyen una combinación de probióticos. El experto en la materia podría seguir fácilmente las enseñanzas de la presente invención combinando bacterias probióticas sin que se le proporcionen datos específicos sobre cómo hacerlo.

Además, el efecto técnico de lograr el suministro de diferentes probióticos a diferentes regiones del tracto gastrointestinal no es un requisito de cada modalidad de la invención. Por ejemplo, la descripción indica que “Los inventores han desarrollado por primera vez formulaciones de dosificación oral de protección de ácido y cohesivas que comprenden distintos probióticos en las diferentes capas, en donde cada capa tiene la misma o una velocidad de liberación diferente”. Por lo tanto, no es necesario proporcionar datos que muestren que tal efecto técnico aún se obtendría con cualquier combinación dada de probióticos.

5. Conclusión

Teniendo en cuenta las modificaciones incluidas en esta oportunidad y los argumentos que se presentan, es posible establecer que las reivindicaciones del nuevo pliego reivindicatorio, así como el de la solicitud divisional cumplen con los requerimientos de la Decisión 486.

6. Anexos

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por diez (10) reivindicaciones.
- Nueva descripción

Señor Director,



Margarita Castellanos Abondano

C.C. No. **39.779.654** de Bogotá

T.P.A. No. **70.819** del C.S.J.

Calle 94A No. 7A-09 - Bogotá, D.C.

Teléfono: 7560770

Bogotá, D.C.

MCA/lt

P4542

RESPUESTA AL 2DO EXAMEN DE FONDO

REFERENCIA CRUZADA A LA SOLICITUD RELACIONADA

CAMPO DE LA INVENCION

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

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

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

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

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

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

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

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

gastrointestinal superior y el tracto gastrointestinal inferior.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

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

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

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

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

manera, en las modalidades preferidas de la presente invención, ciertos componentes de la formulación se comparten a través de las diversas formulaciones de capa.

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

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

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

Las formulaciones de la presente invención se pueden formar en comprimidos estratificados o Capletas (marca registrada), o formas de dosificación similares, a través de

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

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

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

La Figura 2 muestra los efectos de los agentes hidrofílicos en la liberación controlada de microorganismos benéficos viables en el intestino delgado a partir de una formulación de la técnica anterior que podría ser recién adaptada y usarse para formar un lado de una forma de dosificación de dos capas.

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

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

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

La Figura 6 muestra la liberación controlada de microorganismos benéficos específicos para el tracto

intestinal inferior durante una duración prolongada de 12 horas a partir de una formulación de la técnica anterior que podría ser recién adaptada y usarse para formar un lado de una forma de dosificación de dos capas.

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

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

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

La Figura 10 muestra los efectos de los agentes electrolíticos fisiológicamente aceptables en la estabilidad de una formulación de la técnica anterior que podría ser recién adaptada y usarse para formar un lado de una forma de dosificación de dos capas.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

1. Componentes de formulación

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

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

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

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

Tales componentes incluyen, por ejemplo, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio y fosfato de sodio.

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

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

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

Las presentes formulaciones pueden usar las características de hinchamiento de pH específico o degradación de la enzima de sitio específico para personalizar la liberación controlada de los probióticos. Por ejemplo, puede usarse uno o más de los siguientes

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

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

forma de dosificación. El mantenimiento de un pH interno estable contribuye a la estabilidad de los probióticos.

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

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

TRISTAR 149). Los agentes colorantes pueden incluir, por ejemplo, cúrcuma (por ejemplo, NO. 03255 TURMERIC CG 90).

2. Procesos para preparar las formulaciones

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

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

excede 5%. Las formas de dosificación final de acuerdo con la presente invención tienen un contenido de agua que no excede 0.275 Aw.

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

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

(25 grados Celsius/60% de humedad relativa) para CFU viable después de, por ejemplo, 1 día y después nuevamente de 120 días.

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

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

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

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

10 3. Formulaciones

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

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

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

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

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

forma de dosificación final. Por ejemplo, las formas de dosificación diseñadas principalmente para proporcionar distintos probióticos de las formas de dosificación en capas separadas, es óptimo para las capas equilibrar el lado 5 primario y las capas del segundo lado de un comprimido de dos capas con el mismo porcentaje relativo de todos los ingredientes. Los inventores también han determinado que es particularmente importante para los componentes de las formulaciones, tales como HPMC, pectina, MCC y pre-mezcla en 10 polvo de probiótico, que esté presente en cantidades relativamente similares en cada lado para promover mejor la cohesión de la unidad. La cohesión de la forma de dosificación es importante no sólo para la aceptación de almacenamiento del producto, sino la estabilidad y la 15 funcionalidad de las formas de dosificación. Esto se debe a que las formas de dosificación separadas, rotas y divididas son más difíciles de manejar, y resultan físicamente en tamaños de masa de dosificación más pequeños y una mayor cantidad de área superficial que se exponen al oxígeno 20 (estabilidad) y/o agentes de disolución gastrointestinales que pueden resultar en la disolución prematura y la liberación ineficiente o inefectiva de la carga de probiótico.

En varias formulaciones de comprimidos de doble capa de 25 la presente invención, HPMC, pectina, MCC y la premezcla de

polvo de probiótico, son los componentes de entrada principales (p/p) en las formas de dosificación terminadas.

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

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

4. Liberación dirigida

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

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

Los cultivos difieren en su capacidad de resistir estos agentes digestivos, siendo algunos muy sensibles y siendo algunos más resistentes. En general, sin embargo, una pérdida

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

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

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

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

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

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

disolución. En otra modalidad, los comprimidos de dos capas de mezcla de *B. lactus* en el lado primario y *L. fermentum* en el lado secundario pueden evaluarse para la pérdida de manufacturación de compresión y liberación de conteo viable
5 diferencial con el tiempo en disolución.

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

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

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

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

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Formulación y preparación de comprimidos de dos capas que comprenden *B. lactis* y *L. Fermentum*

Tabla 1

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

5	Parte A	mg de entrada por lado	% de lado	Función
	Avicel CE-15	13.40	2%	Lubricante
	Cúrcuma #3255 (color)	1.68	0%	Color
	Dióxido de sílice	6.70	1%	Lubricante
		585.25	100%	
10 15 20 25	Parte B	mg de entrada por lado	% de lado	Función
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	49.50	17%	Activa
	Celulosa microcristalina	132.33	46%	Rellenador
	HPMC, Methocel, Dow K100m premium	33.00	12%	aglomerante/ polímero
	Pectina (150 slow set)	49.50	17%	modificador de liberación
	Carbonato de sodio anhidro grado alimenticio	5.28	2%	Sal
	Ácido esteárico (tristar 149)	5.28	2%	Lubricante
	Avicel CE-15	6.60	2%	Lubricante
	Dióxido de sílice	3.33	1%	Lubricante
		284.82	100%	Lubricante

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

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

25 La friabilidad es una prueba estándar USP para la

durabilidad del comprimido: se pesan diez (10) comprimidos, y luego se insertan en un vaso de dimensión estándar y velocidad de rotación y tiempo, después se pesan de nuevo. La pérdida se registra como un porcentaje. La pérdida de <1% es buena para la mayoría de los suplementos y excepcional para los probióticos.

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

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

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

Los conteos de probióticos se completaron en el material de capleta residual al final de la exposición levantando suavemente la capleta hidratada fuera de la cámara y

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

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

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

Tabla 2

30 Minutos, pH 2.5 a 37°C

50 RPM

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

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

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

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

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

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

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

5 Ejemplo 3: Evaluación de la liberación prolongada

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

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

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

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

15

Tabla 3

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

20

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

25

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

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

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

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

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

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

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

Ejemplo 4

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

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

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

15 Tabla 4

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

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

10 Ejemplo 5

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

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

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

Tabla 5

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

Ejemplo 6

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

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

Tabla 6

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

15

Ejemplo 7

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

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

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

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

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

Tabla 7

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

5

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

Ejemplo 8

10 Un lado de una forma de dosificación de dos capas en
 forma de comprimidos, aproximadamente 532 mg, que contiene un
 agente hidrofílico, un agente electrolítico, un agente
 modificador de la liberación, un relleno inerte y una pre-
 mezcla de probiótico se preparó como se muestra en la Tabla
 15 8. El agente hidrofílico empleado es HPMC o PEO. El agente
 electrolítico usado es NaHCO_3 . El agente modificador de la
 liberación empleado es pectina, y el relleno inerte
 empleado es MCC. El probiótico empleado en este ejemplo
 consiste de la pre-mezcla de Bifidobacterium de polvo
 20 liofilizado y almidón. El ácido esteárico se incluye como un
 agente de flujo, y la sílice se emplea como un agente de
 flujo y desecante. La cúrcuma se incluye como un colorante.

 Como se representa en la Figura 6, los resultados de
 este ejemplo demuestran la capacidad para la liberación
 25 controlada de los probióticos sobre una duración extendida.

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

Tabla 8

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

20

Ejemplo 9

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

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

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

Tabla 9

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

15 Ejemplo 10

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

20 mezcla de bacterias de ácido láctico de polvo liofilizado y

25

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

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

Tabla 10

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

Ejemplo 11

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

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

Tabla 11

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

	Fórmulas de dosificación (mg)	H1	H2
	HPMC, 15,000 mPa	0	50
	Pectina	50	50
	NaHCO ₃	50	50
5	MCC	100	100
	Ácido esteárico	8	8
	Sílice	8	8
	Cúrcuma	1	1
10	PESO TOTAL	342	342

Ejemplo 12

Un lado de una forma de dosificación de dos capas como un comprimido, aproximadamente 343 mg, que contiene un agente hidrofílico, un agente electrolítico, un agente modificador de la liberación, un rellenedor inerte y una pre-mezcla de probiótico se preparó como se muestra en la Tabla 12. El agente hidrofílico empleado es HPMC. El agente electrolítico usado es NaHCO₃. El agente modificador de la liberación empleado es pectina, y el rellenedor inerte empleado es MCC. La pre-mezcla probiótica empleada en este ejemplo consiste de la pre-mezcla de bacteria de ácido láctico de polvo liofilizado y almidón. El ácido esteárico se incluye como un agente de flujo, y la sílice se emplea como un agente de

flujo y desecante. La cúrcuma se incluye como un colorante.

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

Tabla 12

10

15

20

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

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