

## **COMPOSICIONES PARA TERAPIA Y SALUD QUE CONTIENEN AMINOÁCIDOS CON SABOR AMARGO**

### **Solicitudes relacionadas**

La presente solicitud reivindica la prioridad del número de serie de EE.UU. 62/687,715 presentada el 20 de junio de 2018, cuyo contenido se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

### **Antecedentes**

Las mezclas de sólidos, por ejemplo, aminoácidos, tienen muchos usos en las industrias alimentaria y farmacéutica.

Hoy en día se ha descubierto que las mezclas de aminoácidos y moléculas relacionadas pueden tratar varias patologías reequilibrando el estado metabólico de los pacientes para abordar necesidades médicas graves no cubiertas. Estos moduladores metabólicos endógenos tratan la etiología multifactorial de enfermedades graves reprogramando el metabolismo con trastorno de una manera sin precedentes, coordinada y multifactorial.

Por ejemplo, en un estudio de atrofia muscular de cuatro semanas, una composición de diez aminoácidos, incluidos aminoácidos de cadena ramificada, algunos aminoácidos esenciales, glutamina, arginina y N-acetilcisteína (NAC), demostró efectos sólidos en la atenuación de la atrofia muscular durante una semana de inmovilización de la extremidad (véase la Solicitud de Patente de Estados Unidos de N.º de Serie 15/847,343, presentada el 19 de diciembre de 2017, titulada COMPOSICIONES Y MÉTODOS DE AMINOÁCIDOS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES Y TRASTORNOS MUSCULARES). Esta composición única también demostró una mejor salud y fuerza muscular, incluso con un breve período de recuperación después de la inmovilización, y una inflamación sistémica con un impacto favorable al aumentar simultáneamente las citocinas antiinflamatorias mientras se suprimen los mediadores proinflamatorios.

Otra composición, que comprende los aminoácidos de cadena ramificada, arginina, glutamina y NAC, produjo mejoras clínicamente significativas en el perfil metabólico general de los pacientes, incluida la disminución de la esteatosis hepática al impactar simultáneamente en múltiples impulsores de la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) en un estudio de pacientes con diabetes tipo 2 y NAFLD (véase la Solicitud de Patente de Estados Unidos de N.º de serie 15/847,289, presentada el 19 de diciembre de 2017, titulada COMPOSICIONES DE AMINOÁCIDO Y MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES HEPÁTICAS). La administración de la composición también aumentó los marcadores de sensibilidad a la insulina, redujo la lipotoxicidad, redujo el nivel de marcadores de inflamación y apoptosis y suprimió los marcadores fibrogénicos.

Muchos aminoácidos, incluyendo la histidina, leucina, isoleucina, fenilalanina, arginina y triptófano, tienen un sabor amargo desagradable. La lecitina es un excipiente que se ha utilizado para enmascarar el sabor amargo, así como para proporcionar propiedades humectantes, pero la lecitina en dosis altas tiene efectos fisiológicos no deseados. Por consiguiente, existe una necesidad en la técnica de composiciones que comprendan aminoácidos de sabor amargo, y particularmente composiciones

farmacéuticas que contengan aminoácidos de sabor amargo, para tener características de sabor aceptables, preferentemente sin usar lecitina.

### **Sumario**

En el presente documento se proporciona una formulación de excipiente que proporciona enmascaramiento del sabor amargo de composiciones que comprenden al menos tres entidades de aminoácido (en el presente documento un Resto Activo), al menos una de las cuales tiene características de sabor amargo. En un aspecto, las composiciones cumplen con un estándar farmacéuticamente aceptado y son preparaciones mezcladas en seco de grado farmacéutico (PGDBP).

En un aspecto, la invención se dirige a una composición de al menos tres entidades de aminoácido y una formulación de excipiente, cuya composición es adecuada para administración oral, en la que la composición tiene un sabor aceptable y en la que la formulación de excipiente tiene menos de once (11) ingredientes.

En algunas realizaciones, la invención se dirige a una composición que comprende al menos tres entidades de aminoácido y una formulación de excipiente, cuya composición es adecuada para la administración oral, en donde al menos una entidad de aminoácido tiene un sabor amargo y la composición tiene un sabor aceptable, en donde la formulación del excipiente tiene menos de once (11) ingredientes, y en donde: el aminoácido de sabor amargo es arginina, la composición comprende un edulcorante de inicio rápido, por ejemplo, acesulfamo, a un nivel inferior al 1% (p/p) (opcionalmente, que no comprende un edulcorante de inicio rápido, por ejemplo, acesulfamo), o el excipiente comprende un edulcorante, por ejemplo, sucralosa, a un nivel inferior al 3.9% (p/p) (opcionalmente, al menos al 0.05%). En algunas realizaciones, la invención se dirige a una composición que comprende al menos tres entidades de aminoácido y una formulación de excipiente, cuya composición es adecuada para la administración oral, en donde al menos una entidad de aminoácido tiene un sabor amargo y la composición tiene un sabor aceptable, en donde la formulación del excipiente tiene menos de once (11) ingredientes, y en donde: el aminoácido de sabor amargo es arginina, la composición comprende un edulcorante de inicio rápido, por ejemplo, acesulfamo, a un nivel inferior al 1% (p/p) (opcionalmente, que no comprende un edulcorante de inicio rápido, por ejemplo, acesulfamo), y el excipiente comprende un edulcorante, por ejemplo, sucralosa, a un nivel inferior al 3.9% (p/p) (opcionalmente, al menos al 0.05%).

Normalmente, en dicha composición, al menos una entidad de aminoácido tiene un sabor amargo. Las entidades de aminoácido de sabor amargo ilustrativas incluyen histidina, leucina, isoleucina, valina, arginina, triptófano y fenilalanina. Por tanto, en una composición de la invención, una entidad de aminoácido de sabor amargo puede ser histidina, leucina, isoleucina, valina, arginina, triptófano o fenilalanina. Algunas composiciones contendrán más de una entidad de aminoácido de sabor amargo. Por ejemplo, una composición puede comprender los siguientes grupos de aminoácidos, algunos de los cuales tienen un sabor amargo: (i) leucina, isoleucina, valina, lisina, histidina, treonina y L-ornitina-L-aspartato; (ii) leucina, isoleucina, valina, acetilcisteína (NAC) y acetil-L-carnitina (ALCAR); (iii) leucina, isoleucina, valina, arginina, glutamina, NAC, histidina, lisina, fenilalanina y treonina; y (iv) leucina, isoleucina, valina, arginina y NAC.

Los Restos Activos ilustrativos incluyen un Resto Activo útil para tratar la atrofia muscular y otras enfermedades y trastornos del músculo y que contiene leucina, isoleucina, valina, arginina, N-acetilcisteína (NAC), histidina, lisina, fenilalanina y treonina, de las cuales leucina, isoleucina, valina, arginina, histidina y fenilalanina tienen un sabor amargo. Otro Resto Activo útil para el tratamiento de enfermedades y trastornos hepáticos contiene leucina, isoleucina, valina, arginina y N-acetilcisteína (NAC), de las cuales todas, excepto la NAC, tienen un sabor amargo. En el presente documento se ejemplifican dos Restos Activos adicionales: uno para el tratamiento de la cirrosis y que contiene leucina, isoleucina, valina, lisina, histidina, treonina y L-ornitina-L-aspartato, de las cuales leucina, isoleucina, valina e histidina tienen un sabor amargo; y uno para el tratamiento de una lesión cerebral traumática y que contiene leucina, isoleucina, valina, N-acetilcisteína (NAC) y acetil-L-carnitina (ALCAR), de las cuales la leucina, isoleucina y valina tienen un sabor amargo.

Una ventaja de las formulaciones de excipientes de la presente invención es que omiten ingredientes que se consideran útiles o ventajosos para composiciones que comprenden una entidad de aminoácido de sabor amargo. Por tanto, una composición puede estar libre de lecitina. Como alternativa, una composición puede estar libre de un agente que enmascara el sabor amargo. Una composición puede estar libre de un edulcorante de inicio rápido, como el acesulfamo de potasio (acesulfamo K).

La formulación de excipiente de la invención puede comprender un edulcorante, por ejemplo, sucralosa. Puede comprender un agente espesante, por ejemplo, goma xantana. Puede comprender un agente modificador del pH y, más particularmente, un agente modificador del pH ácido, tal como ácido cítrico. Puede comprender un único agente aromatizante, más particularmente un agente aromatizante cítrico, por ejemplo, un sabor de naranja, tal como naranja natural y con otros sabores naturales (WONF). Puede comprender un agente aromatizante con aroma, por ejemplo, de natillas de vainilla. Y la composición de la invención puede comprender un agente de color (colorante), por ejemplo, un agente colorante naranja tal como FD&C Amarillo N.º 6. Tal como se ejemplifica en el presente documento, todos los ingredientes excipientes anteriores se pueden encontrar juntos, por ejemplo, la formulación del excipiente comprende un edulcorante, un agente espesante, un agente modificador del pH, un agente aromatizante único, un agente aromatizante con aroma y un agente colorante. Como alternativa, la formulación del excipiente consiste en un edulcorante, un agente espesante, un agente modificador del pH, un agente aromatizante único, un agente aromatizante con aroma y un agente colorante, es decir, la formulación del excipiente tiene sólo seis (6) ingredientes. En cada caso, el edulcorante puede ser sucralosa, el agente espesante puede ser goma xantana, el agente modificador del pH puede ser un ácido, por ejemplo, ácido cítrico, el agente aromatizante puede ser un aromatizante cítrico como naranja, por ejemplo, naranja natural y WONF, el agente aromatizante con aroma puede ser de natillas de vainilla y el agente colorante puede ser naranja, por ejemplo, FD&C Amarillo N.º 6. Cada una de las formulaciones de excipientes anteriores puede estar libre de una, dos o las tres de lecitina, un agente enmascarador del sabor amargo o un edulcorante de inicio rápido, por ejemplo, acesulfamo K. Como alternativa, cada una de las formulaciones de excipientes anteriores puede contener una o dos de lecitina

(aunque preferentemente no lecitina), un agente enmascarador del sabor amargo o un edulcorante de inicio rápido, por ejemplo, acesulfamo K.

En un ejemplo específico, la formulación del excipiente comprende sucralosa, goma xantana, un ácido para modificar el pH, por ejemplo, ácido cítrico, un único agente aromatizante cítrico, por ejemplo, naranja, un agente aromatizante con aroma de natillas de vainilla y un agente colorante de naranja, por ejemplo, FD&C Amarillo N.º 6. Más en particular, la formulación del excipiente consiste en sucralosa, goma xantana, un ácido para modificar el pH, por ejemplo, ácido cítrico, un único agente aromatizante cítrico, por ejemplo, naranja, un agente aromatizante con aroma de natillas de vainilla y un agente colorante de naranja, por ejemplo, FD&C Amarillo N.º 6. Cada una de las formulaciones de excipientes anteriores puede estar libre de una, dos o las tres de lecitina, un agente enmascarador del sabor amargo o un edulcorante de inicio rápido, por ejemplo, acesulfamo K.

El excipiente puede ser menos de aproximadamente el 30 % de la composición en peso, más particularmente menos de aproximadamente el 25 % de la composición en peso, aún más particularmente menos de aproximadamente el 20 % de la composición en peso, y tal como se muestra en los ejemplos, menos de aproximadamente el 18 % de la composición en peso.

#### **Breve descripción de las figuras**

La Fig. 1 muestra la Tabla 17, que enumera los detalles de la formulación de muestras ilustrativas.

La Fig. 2 muestra la Tabla 18, que enumera las puntuaciones de intensidad para los atributos de muestras ilustrativas.

La Fig. 3 muestra la Tabla 19, que enumera las puntuaciones GdD a lo largo del tiempo para muestras ilustrativas.

La Fig. 4 muestra la Tabla 20, que enumera las puntuaciones GdD a lo largo del tiempo para muestras ilustrativas.

#### **Descripción detallada**

La presente invención se basa en el descubrimiento sin precedentes de que las composiciones que comprenden entidades de aminoácido son capaces de producir un efecto terapéutico significativo. La forma más conveniente de administrar estas composiciones es por vía oral, por lo que un importante descubrimiento coextensivo es una formulación de excipiente eficaz para enmascarar el sabor amargo de ciertos aminoácidos.

Existen diversos métodos para determinar el sabor de un producto o preparación. Las pruebas organolépticas se pueden aplicar a cualquier sabor, por ejemplo, dulce, ácido, especiado (picante) y amargo. En un ejemplo, un panel de degustación humano evalúa el sabor o el gusto de una sustancia. Pruebas más precisas y menos subjetivas para la mayoría de propiedades, desde químicas hasta electrónicas. Por ejemplo, el sabor amargo se puede probar con dispositivos como la lengua electrónica Alpha MOS ASTREE, que es más repetible que un panel sensorial y se usa a menudo para probar el nivel de sabor amargo de los fármacos.

La presente invención proporciona, al menos en parte, preparaciones mezcladas en seco de una pluralidad de entidades de aminoácido, al menos tres entidades de aminoácido. En realizaciones adicionales, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, comprende al menos cuatro entidades de aminoácido diferentes.

La estrategia de la composición del excipiente aborda los requisitos de humectación, estabilización/espesamiento, color, enmascaramiento del sabor y olor. Una formulación inicial, que contiene once (11) componentes diferentes, proporcionó un sabor consistente de "crema de naranja". Ahora se ha descubierto que se requieren menos excipientes para las composiciones de Restos Activos de aminoácidos que tienen actividad fisiológica. En particular, se descubrió que era posible reducir el número de componentes excipientes para evitar la redundancia; evitar excipientes que tengan actividad metabólica en dosis elevadas (por ejemplo, lecitina) aunque tengan otras funciones importantes, por ejemplo humectantes; eliminar excipientes que interfieran con las pruebas analíticas, por ejemplo, porque reducen la vida útil de la columna de HPLC.

Además, las nuevas formulaciones de excipientes todavía proporcionan un sabor estandarizado, tal como el sabor de crema de naranja ejemplificado. A pesar de la reducción en el número de componentes en la formulación del excipiente, la formulación se puede modificar dependiendo de la población de pacientes diana (por ejemplo, se puede crear un perfil de color/sabor diferente para los niños).

La PGDBP es capaz de tratar o mejorar uno o más de: función muscular disminuida debido al envejecimiento, lesión, atrofia, infección o enfermedad; atrofia muscular; sarcopenia, por ejemplo, sarcopenia cirrótica; deterioro muscular; desgaste muscular; caquexia; miopatía inducida por fármacos; distrofia muscular; miopenia; lesión cerebral traumática (TBI); encefalopatía traumática crónica; disminución de la señalización neuronal; aumento de la inflamación del tejido cerebral; aumento de la respuesta microglial a señales proinflamatorias; disminución del flujo iónico; disminución de la función mitocondrial; anaplerosis del ciclo de TCA; aumento de la disfunción sináptica; disminución del metabolismo de las grasas; apoptosis de hepatocitos; hinchamiento de hepatocitos; inflamación del tejido adiposo; inflamación del tejido hepático; fibrosis; daño hepático; tolerancia a la glucosa; estrés oxidativo; enfermedad del hígado graso no alcohólica (NAFLD); NAFLD pediátrica; esteatosis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH); fibrosis; inmovilización; desnutrición; ayuno; envejecimiento; autofagia; síntesis de proteínas reducida; resistencia anabólica; integridad de la unión; resistencia a la insulina; disminución de la biogénesis mitocondrial; disminución de la miogénesis o del crecimiento de miotubos; enfermedad hepática en etapa terminal (ESLD); insuficiencia hepática; hiperamonemia; toxicidad por amoníaco; disminución de la síntesis de urea; pérdida muscular; ascitis; debilidad; encefalopatía hepática; coagulopatía; o un déficit energético.

### **Definiciones**

Los términos usados en las reivindicaciones y la memoria descriptiva se definen tal como se establece a continuación salvo que se especifique otra cosa.

Debe tenerse en cuenta que en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el" o "la" incluyen los referentes plurales salvo que el contexto indique claramente lo contrario.

Las expresiones "sabor amargo" o "tienen un sabor amargo" y similares significan que el compuesto o una composición tienen la propiedad organoléptica de activar los receptores del sabor amargo.

Las expresiones "un gusto aceptable" o "un sabor aceptable" significa que una composición es de sabor agradable para la mayoría de los seres humanos, es decir, sus propiedades organolépticas no son desagradable para la mayoría de los seres humanos. En una realización específica, tal gusto no interferirá de manera significativa ni desalentará el cumplimiento de la toma de la composición como terapia o suplemento.

Como se usa en este documento, la expresión "Resto Activo" significa una combinación que comprende tres o más entidades de aminoácido, típicamente entidades de aminoácido de grado farmacéutico, que, en conjunto, tienen la capacidad de tener un efecto fisiológico, y en una dosis eficaz pueden tener un efecto terapéutico. Por ejemplo, un Resto Activo puede reequilibrar una disfunción metabólica en un sujeto que padece una enfermedad o trastorno. Un Resto Activo puede contener otros ingredientes biológicamente activos. En algunos ejemplos, el Resto Activo comprende una combinación definida de entidades de aminoácido, por ejemplo, tal como se establece en detalle a continuación. En algunas realizaciones, el Resto Activo consiste en una combinación definida de entidades de aminoácido, por ejemplo, tal como se establece en detalle a continuación. Las entidades de aminoácido individuales están presentes en el Resto Activo en varias cantidades o proporciones, que se pueden describir como cantidad en peso (por ejemplo, en gramos), proporción en peso de restos de aminoácidos entre sí, cantidad en mol, cantidad en porcentaje en peso del Resto Activo, cantidad en porcentaje molar del Resto Activo, contribución calórica en porcentaje de contenido calórico al Resto Activo, etc. con respecto al peso del Resto Activo, es decir, el peso de todos los restos de aminoácidos y cualquier otro ingrediente biológicamente activo presente en el Resto Activo, o en proporciones.

La solicitud de patente de EE.UU. de N.º de serie 15/847,343, presentada el 19 de diciembre de 2017, titulada COMPOSICIONES DE AMINOÁCIDOS Y MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES Y TRASTORNOS MUSCULARES, la solicitud de patente de EE.UU. de N.º de serie 15/847,289, presentada el 19 de diciembre de 2017, titulada COMPOSICIONES DE AMINOÁCIDOS Y MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES HEPÁTICAS, y la solicitud de patente de EE.UU. de N.º de serie 62/614,214, presentada el 5 de enero de 2018, titulada COMPOSICIONES DE AMINOÁCIDOS Y MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES Y TRASTORNOS HEPÁTICOS ASOCIADOS CON HIPERAMONEMIA, cada una de las cuales se incorpora específicamente en el presente documento a modo de referencia en su totalidad, desvela composiciones de entidades de aminoácido, es decir, Restos Activos.

Tal como se usa en el presente documento, el término "entidad de aminoácido" se refiere a un aminoácido en uno o ambos de forma libre o sal, un resto de aminoácido de un péptido (por ejemplo, de

un dipéptido, oligopéptido o polipéptido), un derivado de un aminoácido, un precursor de un aminoácido o un metabolito de un aminoácido. En algunas realizaciones, una entidad de aminoácido puede ser parte de un péptido de no más de 20 aminoácidos de longitud. En algunas realizaciones, el derivado de una entidad de aminoácido comprende un éster de aminoácido (por ejemplo, un éster de alquilo, por ejemplo, un éster de etilo o un éster de metilo de una entidad de aminoácido) o un cetoácido.

**Tabla 1. Las entidades de aminoácido incluyen aminoácidos, precursores, metabolitos y derivados de las composiciones descritas en el presente documento.**

|            | <b>Aminoácidos<br/>ilustrativos<br/>Aminoácido</b> | <b>Precusores</b>                                        | <b>Metabolitos</b>                                                            | <b>Derivados</b>                               |
|------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| <b>L</b>   | L-Leucina                                          | Oxo-leucina                                              | HMB (butirato de beta-hidroxi-beta-metilo);<br>Oxo-Leucina;<br>Isovaleril-CoA | D-Leucina; N-Acetil-Leucina                    |
| <b>I</b>   | L-Isoleucina                                       | 2-Oxo-3-metil-valerato;<br>Treonina                      | 2-Oxo-3-metil-valerato;<br>Metilbutiril-CoA                                   | D-Isoleucina; N-Acetil-<br>isoleucina          |
| <b>V</b>   | L-Valina                                           | 2-Oxo-valerato                                           | Isobutiril-CoA; 3-HIB-<br>CoA; 3-HIB                                          | D-Valina; N-Acetil-Valina                      |
| <b>R</b>   | L-Arginina                                         | Argininosuccinato;<br>Citrulina; Aspartato;<br>Glutamato | Ornitina; Citrulina;<br>Agmatina;<br>Creatina                                 | D-Arginina; N-Acetil-<br>Arginina;             |
| <b>Q</b>   | L-Glutamina                                        | Glutamato                                                | Carbamoi-P;<br>Glutamato                                                      | D-Glutamina; N-Acetil-<br>Glutamina;           |
| <b>NAC</b> | N-Acetilcisteína                                   | Serina; Acetilserina;<br>Cistationina;                   | Glutati6n; Cistationina;<br>Homocisteína;<br>Metionina                        | D-Cisteína; L-Cisteína;<br>Cistina; Cisteamina |
| <b>H</b>   | L-Histidina                                        | Histidinol; Histidinal;<br>Ribosa-5-fosfato              | Carnosina; Histamina;<br>Urocanato                                            | D-Histidina; N-Acetil-<br>Histidina            |
| <b>K</b>   | L-Lisina                                           | Diaminopimelato;<br>Aspartato                            | Trimetilisina; Carnitina;<br>Sacaropina                                       | D-Lisina; N-Acetil-Lisina                      |
| <b>F</b>   | L-Fenilalanina                                     | Fenilpiruvato                                            | Tirosina                                                                      | D-Fenilalanina; N-Acetil-<br>Fenilalanina      |
| <b>T</b>   | L-Treonina                                         | Homoserina; O-<br>FosfoHomoserina                        | Oxobutirato                                                                   | D-Treonina; N-Acetil-<br>Treonina              |
| <b>S</b>   | L-Serina                                           | FosfoSerina, P-<br>hidroxipiruvato, L-                   | Glicina, Tript6fano,<br>Acetilserina,                                         |                                                |

|  |  |         |                                   |  |
|--|--|---------|-----------------------------------|--|
|  |  | Glicina | Cistationina,<br>Fosfatidilserina |  |
|--|--|---------|-----------------------------------|--|

Tal como se usa en el presente documento, el término "entidad de aminoácido XXX" se refiere a una entidad de aminoácido que, si es un aminoácido libre, comprende XXX o XXX libres en forma de sal; si es un péptido, se refiere a un péptido que comprende un resto XXX; si es un derivado, se refiere a un derivado de XXX; si es un precursor, se refiere a un precursor de XXX; y si es un metabolito, se refiere a un metabolito de XXX. Por ejemplo, cuando XXX es leucina (L), entonces la entidad de L-aminoácido se refiere a L libres o L en forma de sal, un péptido que comprende un resto L, un derivado de L, un precursor de L o un metabolito de L; en donde XXX es arginina (R), entonces la entidad de R-aminoácido se refiere a R libres o R en forma de sal, un péptido que comprende un resto R, un derivado de R, un precursor de R o un metabolito de R; en donde XXX es glutamina (Q), entonces la entidad de Q-aminoácido se refiere a Q libres o Q en forma de sal, un péptido que comprende un resto Q, un derivado de Q, un precursor de Q o un metabolito de Q; en donde XXX es N-acetilcisteína (NAC), la entidad de aminoácido NAC se refiere a NAC libre o NAC en forma de sal, un péptido que comprende un resto de NAC, un derivado de NAC, un precursor de NAC o un metabolito de NAC; en donde XXX es histidina (H), entonces la entidad H-aminoácido se refiere a H libres o H en forma de sal, un péptido que comprende un resto H, un derivado de H, un precursor de H o un metabolito de H; en donde XXX es lisina (K), la entidad de aminoácido K se refiere a K libres o K en forma de sal, un péptido que comprende un resto K, un derivado de K, un precursor de K o un metabolito de K; en donde XXX es fenilalanina (F), entonces la entidad de aminoácido F se refiere a F libres o F en forma de sal, un péptido que comprende un resto F, un derivado de F, un precursor de F o un metabolito de F; o donde XXX es treonina (T), entonces la entidad de aminoácido T se refiere a T libres o T en forma de sal, un péptido que comprende un resto T, un derivado de T, un precursor de T o un metabolito de T.

Las entidades de aminoácido opcionalmente no incluyen péptidos mayores de 20 aminoácidos, tales como polipéptidos y proteínas de origen natural, en su totalidad o modificada, por ejemplo, en forma hidrolizada. Los Restos Activos y las composiciones farmacéuticas no incluyen proteína del suero de la leche, caseína, lactoalbúmina y otras proteínas, por ejemplo, que se encuentran en suplementos nutricionales o preparaciones entéricas, ya sea en forma de proteína intacta o en forma hidrolizada. Las entidades de aminoácido incluyen metabolitos y derivados que son capaces de afectar a la funcionalidad biológica del L-aminoácido libre.

"Sobre" y "aproximadamente" significarán generalmente un grado aceptable de error para la cantidad medida dada la naturaleza o precisión de las mediciones. Los grados ilustrativos de error están dentro del 20 por ciento (%), típicamente dentro del 10 % y más típicamente dentro del 5 % de un valor o intervalo de valores dado.

Un "aminoácido" se refiere a un compuesto orgánico que tiene un grupo amino ( $-NH_2$ ), un grupo de ácido carboxílico ( $-C(=O)OH$ ) y una cadena lateral unida a través de un átomo de carbono central, e incluye aminoácidos esenciales y no esenciales, así como aminoácidos naturales y no naturales.

Los aminoácidos proteogénicos, que se muestran a continuación, se conocen por abreviaturas de tres y una letra además de sus nombres completos. Para un aminoácido dado, estas abreviaturas se usan indistintamente en el presente documento. Por ejemplo, Leu, L o leucina se refieren al aminoácido leucina; Ile, I o isoleucina se refieren todos al aminoácido isoleucina; Val, V o valina se refieren todos al aminoácido valina; Arg, R o arginina se refieren todos al aminoácido arginina; y Gln, Q o glutamina se refieren todos al aminoácido glutamina. Asimismo, el derivado de aminoácido no natural N-acetilcisteína puede denominarse indistintamente "NAC" o "N-acetilcisteína". Los aminoácidos pueden estar presentes como D-isómeros o L-isómeros. A menos que se indique lo contrario, los aminoácidos a los que se hace referencia en el presente documento son L-isómeros de aminoácidos.

**Tabla 2. Nombres y abreviaturas de aminoácidos**

| Aminoácido      | Tres letras | Una letra |
|-----------------|-------------|-----------|
| Alanina         | Ala         | A         |
| Arginina        | Arg         | R         |
| Asparagina      | Asn         | N         |
| Ácido aspártico | Asp         | D         |
| Cisteína        | Cys         | C         |
| Ácido glutámico | Glu         | E         |
| Glutamina       | Gln         | Q         |
| Glicina         | Gly         | G         |
| Histidina       | His         | H         |
| Isoleucina      | Ile         | I         |
| Leucina         | Leu         | L         |
| Lisina          | Lys         | K         |
| Metionina       | Met         | M         |
| Fenilalanina    | Phe         | F         |
| Prolina         | Pro         | P         |
| Serina          | Ser         | S         |
| Treonina        | Thr         | T         |
| Triptófano      | Trp         | W         |
| Tirosina        | Tyr         | Y         |
| Valina          | Val         | V         |

Un "aminoácido de cadena ramificada" es un aminoácido seleccionado de leucina, isoleucina y valina.

La expresión "cantidad eficaz", tal como se usa en el presente documento, significa una cantidad de un Resto Activo que es suficiente para modificar significativa y positivamente los síntomas y/o afecciones a tratar (por ejemplo, proporcionar una respuesta clínica positiva). La cantidad eficaz de un resto activo para su uso en una composición farmacéutica variará con la afección particular que se esté tratando, la gravedad de la afección, la duración del tratamiento, la naturaleza de la terapia concurrente,

el(los) principio(s) activo(s) que se emplee(n), el(los) excipiente(s) y/o vehículo(s) farmacéuticamente aceptables particulares utilizados, y factores similares con el conocimiento y la experiencia del médico tratante.

Una preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, descrita en el presente documento, se puede formular como una "composición farmacéutica". Una composición farmacéutica tal como se describe en el presente documento comprende al menos una entidad de aminoácido, por ejemplo, un Resto Activo, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se usa como un agente terapéutico o un alimento médico. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se usa como un nutraceutico o como un suplemento.

La expresión "grado farmacéutico" tal como se usa en el presente documento, se refiere a aminoácidos, materiales, excipientes, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del buen juicio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de los seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una proporción beneficio/riesgo razonable. En algunas realizaciones, grado farmacéutico significa que los aminoácidos, los materiales o los excipientes cumplen las especificaciones de una monografía, por ejemplo, una monografía de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), el Formulario Nacional (NF), la Farmacopea Británica (BP), la Farmacopea Europea (EP) o la Farmacopea Japonesa (JP) que detallan pruebas y criterios de aceptación. En algunas realizaciones, el significado del grado farmacéutico comprende que los aminoácidos, excipientes o materiales son al menos puros al 99 %.

Una preparación mezclada en seco, tal como se usa en el presente documento, significa una combinación de una pluralidad de entidades de aminoácido que sustancialmente carecen de agua. En algunas realizaciones, una preparación mezclada en seco es un polvo. En algunas realizaciones, una preparación mezclada en seco comprende menos de o igual al 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, o 1 % de agua en peso. En algunas realizaciones, una preparación mezclada en seco comprende al menos 4 entidades de aminoácido, por ejemplo, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20 entidades de aminoácido.

Una preparación mezclada en seco de grado farmacéutico (PGDBP, por sus siglas en inglés), tal como se usa en el presente documento, es una preparación mezclada en seco que cumple un estándar de referencia (por ejemplo, uno o más estándares de referencia) y comprende una pluralidad de entidades de aminoácido de grado farmacéutico. Una PGDBP se puede formular como una composición farmacéutica, por ejemplo, la PGDBP puede comprender además uno o más excipientes y/o componentes de administración oral. En algunas realizaciones, un estándar de referencia cumplido por una PGDBP es la uniformidad de la composición.

Un estándar de referencia, tal como se usa en el presente documento, significa: un estándar usado o establecido por:

(1) un fabricante de una combinación (por ejemplo, preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP), por ejemplo, un fabricante que tiene la aprobación de una agencia gubernamental para comercializar la PGDBP, o

(2) la industria farmacéutica o las agencias o entidades (por ejemplo, agencias o entidades gubernamentales o comerciales) que regulan la industria farmacéutica,

para asegurar que uno o más parámetros de calidad del producto están dentro de los límites aceptables para un medicamento, composición farmacéutica, tratamiento u otro agente terapéutico. Un parámetro de calidad del producto puede ser cualquier parámetro regulado por el fabricante, la industria farmacéutica o por las agencias o entidades, por ejemplo, agencias o entidades gubernamentales o comerciales, incluyendo pero sin limitación la composición; la uniformidad de la composición; la dosificación; la uniformidad de la dosificación; la presencia, ausencia y/o el nivel de contaminantes o impurezas; y el nivel de esterilidad (por ejemplo, la presencia, ausencia y/o el nivel de microbios). Las agencias reguladoras gubernamentales ilustrativas incluyen: Federal Drug Administration (FDA), European Medicines Agency (EMA), SwissMedic, China Food and Drug Administration (CFDA), o Japanese Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), Health Canada, and Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (MHRA). Un parámetro de calidad del producto también puede ser un parámetro especificado por una farmacopea o formulario nacional o regional, incluyendo la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), la Farmacopea Británica (BP), el Formulario Nacional (NF), la Farmacopea Europea (EP) o la Farmacopea Japonesa (JP).

La uniformidad de la composición, tal como se usa en el presente documento, es un estándar para la homogeneidad de un componente de una combinación, por ejemplo, una preparación mezclada en seco, por ejemplo, una PGDBP que comprende uniformidad de la mezcla, uniformidad de porción o ambos. En algunas realizaciones, una combinación cumple un estándar para la uniformidad de la composición, por ejemplo, uniformidad de la mezcla, si la cantidad de un componente (por ejemplo, una entidad de aminoácido de grado farmacéutico, excipiente o componente de administración oral) en un punto de muestreo en la combinación difiere de un valor de referencia en menos de una cantidad predeterminada. En algunas realizaciones, el valor de referencia es la cantidad del componente en un segundo punto de muestreo en la combinación. En algunas realizaciones, el valor de referencia es la cantidad del componente (por ejemplo, una entidad de aminoácido de grado farmacéutico, excipiente, o componente de administración oral) presente en la combinación (por ejemplo, una preparación mezclada en seco, por ejemplo, una PGDBP).

En algunas realizaciones, en donde una combinación (por ejemplo, una preparación mezclada en seco, por ejemplo, una PGDBP) se divide en porciones, las porciones de la combinación cumplen un estándar para la uniformidad de la composición, por ejemplo, uniformidad de porción, si la cantidad de un componente (por ejemplo, una entidad de aminoácido de grado farmacéutico, excipiente o componente de administración oral) en una porción difiere de un valor de referencia en menos de una cantidad predeterminada. En algunas realizaciones, el valor de referencia es la cantidad del componente en una segunda porción. En algunas realizaciones, el valor de referencia comprende la cantidad del componente en N porciones adicionales, en donde n es al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100. En algunas realizaciones, el valor de referencia es la cantidad del componente (por ejemplo, una entidad de aminoácido de grado farmacéutico, excipiente, o componente de administración oral) presente

en la combinación (por ejemplo, una preparación mezclada en seco, por ejemplo, una PGDBP). Las cantidades pueden ser absolutas (por ejemplo, masa o peso) o relativas (por ejemplo, porcentaje de componentes totales). En algunas realizaciones, la cantidad predeterminada puede ser el 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o el 1 %, por ejemplo, del valor de referencia. En algunas realizaciones, la cantidad predeterminada es el 10 % (por ejemplo, la cantidad del componente difiere del valor de referencia en menos del 10 %).

Una composición, formulación o producto es "terapéutico" si proporciona un efecto clínico beneficioso, es decir, un efecto terapéutico, cuando se administra a un sujeto, por ejemplo, un paciente. Un efecto clínico beneficioso, es decir, un efecto terapéutico, puede comprender disminuir la progresión de una enfermedad o afección y/o aliviar uno o más síntomas de la enfermedad o afección. Un efecto clínico beneficioso, es decir, un efecto terapéutico, puede comprender disminuir o aliviar los efectos secundarios asociados con otra terapia.

Una "dosis unitaria" o "dosificación unitaria" tal como se usa en el presente documento significa una cantidad o dosis de medicamento preparada en un sobre o envase individual por conveniencia, seguridad o control. Una "dosis unitaria" o "dosificación unitaria" comprende el producto del fármaco o productos del fármaco en la forma en la que se comercializan para su uso, con una mezcla específica de los principios activos y los componentes inactivos (excipientes) en una configuración particular (tal como una cápsula dura) y distribuidos en una dosis particular.

Un "saquito tubular", tal como se usa en el presente documento, significa un envase flexible desechable o de un solo uso que comprende una dosis unitaria de PGDBP. En algunas realizaciones, el envase es plástico, papel o resina polimérica termoplástica, por ejemplo, plástico rasgable, papel o resina polimérica termoplástica. En algunas realizaciones, un saquito tubular comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 50 o 60 g de PGDBP.

Porcionar, tal como se usa en el presente documento, significa dividir todo o parte de la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, en porciones para la administración a un paciente o sujeto. Las porciones creadas por porcionamiento se pueden proporcionar en sacos, viales u otros recipientes, por ejemplo, saquitos tubulares. En una realización, las porciones creadas por porcionamiento son cantidades de dosificación unitaria, por ejemplo, una dosificación unitaria o una fracción de una dosificación unitaria (por ejemplo, un saquito tubular puede comprender la mitad de una dosis unitaria, de tal manera que dos saquitos tubulares se usarían juntos para proporcionar una única dosis unitaria). En algunas realizaciones, solo las PGDBP (por ejemplo, que cumple un estándar de referencia) se separan en porciones mediante porcionamiento. En algunas realizaciones, las porciones generadas por porcionamiento también cumplen un estándar de referencia.

Tal como se usa en el presente documento, los términos "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refieren en una realización a mejorar, por ejemplo, una función muscular reducida (por ejemplo, en relación con un sujeto sano), una enfermedad muscular o un trastorno muscular (es decir, ralentizar o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o trastorno o al menos uno de sus síntomas clínicos). En otra realización, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a aliviar o mejorar al menos un parámetro

físico que incluye aquellos que pueden no ser discernibles por el paciente. En otra realización más, "tratar", "tratando" o "tratamiento" se refiere a modular un síntoma de función muscular reducida (por ejemplo, en relación con un sujeto sano), una enfermedad muscular o un trastorno muscular, ya sea físicamente (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico), o ambos. En otra realización más, "tratar", "tratando" o "tratar" se refiere a prevenir o retrasar la aparición o el desarrollo o la progresión de la función muscular reducida (por ejemplo, en relación con un sujeto sano), una enfermedad muscular o un trastorno muscular.

#### **Composiciones que comprenden entidades de aminoácido**

Se ha descubierto que las mezclas de aminoácidos y moléculas relacionadas (por ejemplo, combinaciones, por ejemplo, preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, de la presente divulgación) pueden tratar diversas patologías reequilibrando el estado metabólico de los pacientes para abordar necesidades médicas graves no cubiertas. Estos moduladores metabólicos endógenos tratan la etiología multifactorial de enfermedades graves reprogramando el metabolismo con trastorno de una manera sin precedentes, coordinada y multifactorial.

La composición de la invención tal como se describe en el presente documento (un Resto Activo) comprende entidades de aminoácido, por ejemplo, las entidades de aminoácido mostradas en la Tabla 1. La solicitud de patente de EE.UU. de N.º de serie 15/847,343, presentada el 19 de diciembre de 2017, titulada COMPOSICIONES DE AMINOÁCIDOS Y MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES Y TRASTORNOS MUSCULARES, la solicitud de patente de EE.UU. de N.º de serie 15/847,289, presentada el 19 de diciembre de 2017, titulada COMPOSICIONES DE AMINOÁCIDOS Y MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES HEPÁTICAS, y la solicitud de patente de EE.UU. de N.º de serie 62/614,214, presentada el 5 de enero de 2018, titulada COMPOSICIONES DE AMINOÁCIDOS Y MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES Y TRASTORNOS HEPÁTICOS ASOCIADOS CON HIPERAMONEMIA, cada una de las cuales se incorpora específicamente en el presente documento a modo de referencia en su totalidad, desvela composiciones de entidades de aminoácido, es decir, Restos Activos.

Por ejemplo, en un estudio de atrofia muscular de cuatro semanas, una composición de diez entidades de aminoácido, incluidos aminoácidos de cadena ramificada, algunos aminoácidos esenciales, glutamina, arginina y N-acetilcisteína (NAC), demostró fuertes efectos en la atenuación de la atrofia muscular durante una semana de inmovilización de la extremidad (solicitud de patente de EE.UU. N.º 15/847343). Esta composición única también demostró una mejor salud y fuerza muscular, incluso con un breve período de recuperación después de la inmovilización, y una inflamación sistémica con un impacto favorable al aumentar simultáneamente las citocinas antiinflamatorias mientras se suprimen los mediadores proinflamatorios. En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento se pueden usar para producir PGDBP que comprenden las entidades de aminoácido descritas en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 15/847343, que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, las PGDBP, una pluralidad de porciones de PGDBP

o las formas de dosificación descritas en el presente documento comprenden las mezclas de entidades de aminoácido descritas en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 15/847343.

Otra composición, que comprende los aminoácidos de cadena ramificada, arginina, glutamina y NAC, produjo mejoras clínicamente significativas en el perfil metabólico general de los pacientes, incluida la disminución de la esteatosis hepática al impactar simultáneamente en múltiples impulsores de la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) en un estudio de pacientes con diabetes tipo 2 y NAFLD (véase la Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 15/847289). La administración de la composición también aumentó los marcadores de sensibilidad a la insulina, redujo la lipotoxicidad, redujo el nivel de marcadores de inflamación y apoptosis y suprimió los marcadores fibrogénicos. En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento se pueden usar para producir PGDBP que comprenden las entidades de aminoácido descritas en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 15/847289, que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, las PGDBP, una pluralidad de porciones de PGDBP o las formas de dosificación descritas en el presente documento comprenden las mezclas de entidades de aminoácido descritas en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 15/847289.

La presente divulgación proporciona composiciones, por ejemplo, preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, que comprenden entidades de aminoácido. Estas composiciones se componen de entidades de aminoácido de grado farmacéutico que incluyen aminoácidos en una o ambas de forma libre o sal, restos de aminoácidos de un péptido (por ejemplo, de un dipéptido, oligopéptido o polipéptido), derivados de un aminoácido, precursores de un aminoácido o metabolitos de un aminoácido.

Una composición ilustrativa, incluye leucina, isoleucina, valina, arginina HCl, glutamina, N-acetilcisteína, histidina, lisina, fenilalanina y treonina como sus componentes de aminoácidos definidos en una proporción en peso de 2.0: 1.0: 1.0: 3.62: 2.66: 0.3: 0.16: 0.7: 0.16: 0.34 (Tabla 3). La **composición de aminoácidos** incluye leucina, isoleucina, valina, arginina, glutamina, N-acetilcisteína, histidina, lisina, fenilalanina y treonina como sus componentes de aminoácidos definidos en una proporción en peso de 2.0: 1.0: 1.0: 3.0: 2.66: 0.3: 0.16: 0.7: 0.16: 0.34.

Una preparación mezclada en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, valina, arginina HCl, glutamina, N-acetilcisteína, histidina, lisina, fenilalanina y treonina como sus componentes de aminoácidos definidos en una proporción en peso de 2.0: 1.0: 1.0: 3.62: 2.66: 0.3: 0.16: 0.7: 0.16: 0.34 (Tabla 3). La preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, valina, arginina, glutamina, N-acetilcisteína, histidina, lisina, fenilalanina y treonina como sus componentes de aminoácidos definidos en una proporción en peso de 2.0: 1.0: 1.0: 3.0: 2.66: 0.3: 0.16: 0.7: 0.16: 0.34.

**Tabla 3. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición.**

| Aminoácido | proporción en peso | g/sobre | g/dosis 1 | g totales de dosis diaria 1 | g/dosis 2 | g totales dosis diaria 2 |
|------------|--------------------|---------|-----------|-----------------------------|-----------|--------------------------|
| Leucina    | 2.0                | 1.0     | 1.0       | 3                           | 4         | 12                       |
| Isoleucina | 1.0                | 0.5     | 0.5       | 1.5                         | 2         | 6                        |

|    |                                      |      |              |              |              |               |               |
|----|--------------------------------------|------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
|    | Valina                               | 1.0  | 0.5          | 0.5          | 1.5          | 2             | 6             |
|    | Arginina HCl                         | 3.62 | 1.81         | 1.81         | 5.43         | 7.24          | 21.72         |
|    | Glutamina                            | 2.66 | 1.33         | 1.33         | 3.99         | 5.32          | 15.96         |
|    | N-acetilcisteína                     | 0.3  | 0.15         | 0.15         | 0.45         | 0.6           | 1.8           |
| 5  | Histidina                            | 0.16 | 0.08         | 0.08         | 0.24         | 0.32          | 0.96          |
|    | Lisina                               | 0.7  | 0.35         | 0.35         | 1.05         | 1.4           | 4.2           |
|    | Fenilalanina                         | 0.16 | 0.08         | 0.08         | 0.24         | 0.32          | 0.96          |
|    | Treonina                             | 0.34 | 0.17         | 0.17         | 0.51         | 0.68          | 2.04          |
| 10 | <u>Aminoácidos</u><br><u>totales</u> |      | <u>~ 6 g</u> | <u>~ 6 g</u> | <u>~18 g</u> | <u>~ 24 g</u> | <u>~ 72 g</u> |

Una composición de aminoácidos ilustrativa incluye leucina, isoleucina, valina, arginina HCl, glutamina y N-acetilcisteína como sus entidades de aminoácido en una proporción en peso de 1: 0.5: 0.5: 1.81: 2: 0.15 (Tabla 4). Una preparación de mezcla en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, valina, arginina, glutamina y N-acetilcisteína como sus entidades de aminoácido en una proporción en peso de 1: 0.5: 0.5: 1.5: 2: 0.15 (Tabla 5).

**Tabla 4. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición que incluyen arginina HCl.**

| Aminoácido                 | Proporción en peso | % en peso | g/sobre       | g dosis n.º 1 | g dosis n.º 2 |
|----------------------------|--------------------|-----------|---------------|---------------|---------------|
| Leucina                    | 1                  | 16.78     | 1.00 g        | 2 g           | 4 g           |
| Isoleucina                 | 0.5                | 8.39      | 0.50 g        | 1 g           | 2 g           |
| Valina                     | 0.5                | 8.39      | 0.50 g        | 1 g           | 2 g           |
| Arginina HCl               | 1.81               | 30.37     | 1.81 g        | 3.62 g        | 7.24 g        |
| Glutamina                  | 2                  | 33.56     | 2.00 g        | 4 g           | 8 g           |
| N-acetilcisteína           | 0.15               | 2.52      | 0.15 g        | 0.3 g         | 0.6 g         |
| <u>Aminoácidos totales</u> |                    |           | <u>5.96 g</u> | <u>~12 g</u>  | <u>~24 g</u>  |

**Tabla 5. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición que incluyen arginina.**

| Aminoácido                 | Proporción en peso | % en peso | g/sobre       | g dosis n.º 1 | g dosis n.º 2 |
|----------------------------|--------------------|-----------|---------------|---------------|---------------|
| Leucina                    | 1                  | 17.70     | 1.00 g        | 2             | 4             |
| Isoleucina                 | 0.5                | 8.85      | 0.50 g        | 1             | 2             |
| Valina                     | 0.5                | 8.85      | 0.50 g        | 1             | 2             |
| Arginina                   | 1.5                | 26.55     | 1.5 g         | 3             | 6             |
| Glutamina                  | 2                  | 35.4      | 2.00 g        | 4             | 8             |
| N-acetilcisteína           | 0.15               | 2.65      | 0.15 g        | 0.3           | 0.6           |
| <u>Aminoácidos totales</u> |                    |           | <u>5.65 g</u> | <u>11.3 g</u> | <u>22.6 g</u> |

Una preparación de mezcla en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, valina, arginina HCl, glutamina y N-acetilcisteína como sus entidades de aminoácido en una proporción

en peso de 1: 0.5: 0.5: 0.905: 2: 0.15 (Tabla 6). Una preparación de mezcla en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, valina, arginina, glutamina y N-acetilcisteína como sus entidades de aminoácido en una proporción en peso de 1: 0.5: 0.5: 0.75: 2: 0.15 (Tabla 7).

**Tabla 6. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición que incluyen arginina HCl.**

| Aminoácido                 | Proporción en peso | % en peso | g/sobre       | g dosis n.º 1 | g dosis n.º 2 |
|----------------------------|--------------------|-----------|---------------|---------------|---------------|
| Leucina                    | 1                  | 19.78     | 1.00 g        | 2 g           | 4 g           |
| Isoleucina                 | 0.5                | 9.89      | 0.50 g        | 1 g           | 2 g           |
| Valina                     | 0.5                | 9.89      | 0.50 g        | 1 g           | 2 g           |
| Arginina HCl               | 0.905              | 17.90     | 0.905 g       | 1.81 g        | 3.62 g        |
| Glutamina                  | 2                  | 39.56     | 2.00 g        | 4 g           | 8 g           |
| N-acetilcisteína           | 0.15               | 2.97      | 0.15 g        | 0.3 g         | 0.6 g         |
| <u>Aminoácidos totales</u> |                    |           | <u>5.06 g</u> | <u>~10 g</u>  | <u>~20 g</u>  |

**Tabla 7. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición que incluyen arginina.**

| Aminoácido                 | Proporción en peso | % en peso | g/sobre      | g dosis n.º 1 | g dosis n.º 2 |
|----------------------------|--------------------|-----------|--------------|---------------|---------------|
| Leucina                    | 1                  | 20.41     | 1.00 g       | 2             | 4             |
| Isoleucina                 | 0.5                | 10.20     | 0.50 g       | 1             | 2             |
| Valina                     | 0.5                | 10.20     | 0.50 g       | 1             | 2             |
| Arginina                   | 0.75               | 15.31     | 0.75 g       | 1.5           | 3             |
| Glutamina                  | 2                  | 40.82     | 2.00 g       | 4             | 8             |
| N-acetilcisteína           | 0.15               | 3.06      | 0.15 g       | 0.3           | 0.6           |
| <u>Aminoácidos totales</u> |                    |           | <u>4.9 g</u> | <u>9.8 g</u>  | <u>19.6 g</u> |

Una preparación de mezcla en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, valina, arginina HCl, glutamina y N-acetilcisteína como sus entidades de aminoácido en una proporción en peso de 1: 0.5: 0.25: 0.905: 1: 0.225 (Tabla 8). Una preparación de mezcla en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, valina, arginina, glutamina y N-acetilcisteína como sus entidades de aminoácido en una proporción en peso de 1: 0.5: 0.25: 0.75: 1: 0.225 (Tabla 9).

**Tabla 8. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición que incluyen arginina HCl.**

| Aminoácido       | Proporción en peso | % en peso | g/sobre | g dosis n.º 1 | g dosis n.º 2 |
|------------------|--------------------|-----------|---------|---------------|---------------|
| Leucina          | 1                  | 25.77     | 1.00 g  | 2 g           | 4 g           |
| Isoleucina       | 0.5                | 12.89     | 0.50 g  | 1 g           | 2 g           |
| Valina           | 0.25               | 6.44      | 0.25 g  | 0.50 g        | 1 g           |
| Arginina HCl     | 0.905              | 23.32     | 0.905 g | 1.81 g        | 3.62 g        |
| Glutamina        | 1                  | 25.77     | 1.00 g  | 2 g           | 4 g           |
| N-acetilcisteína | 0.225              | 5.80      | 0.225 g | 0.45 g        | 0.9 g         |

|                            |  |  |               |               |                |
|----------------------------|--|--|---------------|---------------|----------------|
| <u>Aminoácidos totales</u> |  |  | <u>3.88 g</u> | <u>7.76 g</u> | <u>15.52 g</u> |
|----------------------------|--|--|---------------|---------------|----------------|

**Tabla 9. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición que incluyen arginina.**

| Aminoácido                 | Proporción en peso | % en peso | g/sobre        | g dosis n.º 1 | g dosis n.º 2 |
|----------------------------|--------------------|-----------|----------------|---------------|---------------|
| Leucina                    | 1                  | 26.85     | 1.00 g         | 2             | 4             |
| Isoleucina                 | 0.5                | 13.42     | 0.50 g         | 1             | 2             |
| Valina                     | 0.25               | 6.71      | 0.25 g         | 0.5           | 1             |
| Arginina                   | 0.75               | 20.13     | 0.75 g         | 1.5           | 3             |
| Glutamina                  | 1                  | 26.85     | 1.00 g         | 2             | 4             |
| N-acetilcisteína           | 0.225              | 6.04      | 0.225 g        | 0.45          | 0.9           |
| <u>Aminoácidos totales</u> |                    |           | <u>3.725 g</u> | <u>7.45 g</u> | <u>14.9 g</u> |

Una preparación de mezcla en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, valina, arginina HCl, glutamina, N-acetilcisteína y serina como sus entidades de aminoácido en una proporción en peso de 1: 0.5: 0.25: 0.905: 1: 0.225: 0.667 (Tabla 10). Una preparación de mezcla en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, valina, arginina, glutamina, N-acetilcisteína y serina como sus entidades de aminoácido en una proporción en peso de 1: 0.5: 0.25: 0.75: 1: 0.225: 1.5 (Tabla 11).

**Tabla 10. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición que incluyen arginina HCl.**

| Aminoácido                 | Proporción en peso | % en peso | g/sobre       | g dosis n.º 1  | g dosis n.º 2  |
|----------------------------|--------------------|-----------|---------------|----------------|----------------|
| Leucina                    | 1                  | 18.59     | 1.00 g        | 2 g            | 4 g            |
| Isoleucina                 | 0.5                | 9.29      | 0.50 g        | 1 g            | 2 g            |
| Valina                     | 0.25               | 4.65      | 0.25 g        | 0.50 g         | 1 g            |
| Arginina HCl               | 0.905              | 16.82     | 0.905 g       | 1.81 g         | 3.62 g         |
| Glutamina                  | 1                  | 18.59     | 1.00 g        | 2 g            | 4 g            |
| N-acetilcisteína           | 0.225              | 4.18      | 0.225 g       | 0.45 g         | 0.9 g          |
| Serina                     | 1.5                | 27.88     | 1.5           | 3              | 6              |
| <u>Aminoácidos totales</u> |                    |           | <u>5.38 g</u> | <u>10.76 g</u> | <u>21.52 g</u> |

**Tabla 11. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición que incluyen arginina.**

| Aminoácido       | Proporción en peso | % en peso | g/sobre | g dosis n.º 1 | g dosis n.º 2 |
|------------------|--------------------|-----------|---------|---------------|---------------|
| Leucina          | 1                  | 19.14     | 1.00 g  | 2             | 4             |
| Isoleucina       | 0.5                | 9.57      | 0.50 g  | 1             | 2             |
| Valina           | 0.25               | 4.78      | 0.25 g  | 0.5           | 1             |
| Arginina         | 0.75               | 14.35     | 0.75 g  | 1.5           | 3             |
| Glutamina        | 1                  | 19.14     | 1.00 g  | 2             | 4             |
| N-acetilcisteína | 0.225              | 4.31      | 0.225 g | 0.45          | 0.9           |

|                            |     |       |              |              |             |
|----------------------------|-----|-------|--------------|--------------|-------------|
| Serina                     | 1.5 | 28.71 | 1.5          | 3            | 6           |
| <u>Aminoácidos totales</u> |     |       | <u>5.225</u> | <u>10.45</u> | <u>20.9</u> |

Una preparación de mezcla en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, valina, arginina HCl, glutamina, N-acetilcisteína y serina como sus entidades de aminoácido en una proporción en peso de 1: 0.5: 0.25: 0.905: 1: 0.225: 0.667 (Tabla 12). Una preparación de mezcla en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, valina, arginina, glutamina, N-acetilcisteína y serina como sus entidades de aminoácido en una proporción en peso de 1: 0.5: 0.25: 0.75: 1: 0.225: 1.667 (Tabla 13).

**Tabla 12. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición que incluyen arginina HCl.**

| Aminoácido                 | Proporción en peso | % en peso | g/sobre       | g dosis n.º 1  | g dosis n.º 2  |
|----------------------------|--------------------|-----------|---------------|----------------|----------------|
| Leucina                    | 1                  | 18.02     | 1.00 g        | 2 g            | 4 g            |
| Isoleucina                 | 0.5                | 9.01      | 0.50 g        | 1 g            | 2 g            |
| Valina                     | 0.25               | 4.50      | 0.25 g        | 0.50 g         | 1 g            |
| Arginina HCl               | 0.905              | 16.31     | 0.905 g       | 1.81 g         | 3.62 g         |
| Glutamina                  | 1                  | 18.02     | 1.00 g        | 2 g            | 4 g            |
| N-acetilcisteína           | 0.225              | 4.05      | 0.225 g       | 0.45 g         | 0.9 g          |
| Serina                     | 1.667              | 30.09     | 1.67 g        | 3.33 g         | 6.67 g         |
| <u>Aminoácidos totales</u> |                    |           | <u>5.55 g</u> | <u>11.09 g</u> | <u>22.19 g</u> |

**Tabla 13. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición que incluyen arginina.**

| Aminoácido                 | Proporción en peso | % en peso | g/sobre        | g dosis n.º 1  | g dosis n.º 2  |
|----------------------------|--------------------|-----------|----------------|----------------|----------------|
| Leucina                    | 1                  | 18.54     | 1.00 g         | 2              | 4              |
| Isoleucina                 | 0.5                | 9.27      | 0.50 g         | 1              | 2              |
| Valina                     | 0.25               | 4.64      | 0.25 g         | 0.5            | 1              |
| Arginina                   | 0.75               | 13.91     | 0.75 g         | 1.5            | 3              |
| Glutamina                  | 1                  | 18.54     | 1.00 g         | 2              | 4              |
| N-acetilcisteína           | 0.225              | 4.17      | 0.225 g        | 0.45           | 0.9            |
| Serina                     | 1.667              | 30.92     | 1.67 g         | 3.33 g         | 6.67 g         |
| <u>Aminoácidos totales</u> |                    |           | <u>5.395 g</u> | <u>10.78 g</u> | <u>21.57 g</u> |

Una preparación de mezcla en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, arginina HCl, glutamina, serina, carnitina y N-acetilcisteína como sus entidades de aminoácido en una proporción en peso de 1: 0.5: 1.6124: 0.6667: 2.5: 0.3333: 0.4333 (Tabla 21).

**Tabla 21. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición.**

| Aminoácido | Proporción en peso | % en peso | g/sobre | g dosis n.º 1 | g dosis n.º 2 |
|------------|--------------------|-----------|---------|---------------|---------------|
| Leucina    | 1.0000             | 13.45     | 1.00 g  | 4.0000        | 6.0000        |
| Isoleucina | 0.5000             | 6.72      | 0.50 g  | 2.0000        | 3.0000        |

|                  |        |       |          |         |         |
|------------------|--------|-------|----------|---------|---------|
| Arginina         | 1.6124 | 21.68 | 1.6124 g | 6.4496  | 9.6744  |
| Glutamina        | 0.6667 | 8.97  | 0.6667 g | 2.6666  | 4.0000  |
| Serina           | 2.5000 | 33.62 | 2.50 g   | 10.0000 | 15.0000 |
| Carnitina        | 0.3333 | 4.48  | 0.3333 g | 1.3333  | 2.0000  |
| N-acetilcisteína | 0.4333 | 5.83  | 0.4333 g | 1.7333  | 2.6000  |

Una preparación de mezcla en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, isoleucina, valina, lisina, histidina, treonina y ornitina-aspartato como sus entidades de aminoácido en una proporción en peso de 0.8889: 0.4444: 0.8889: 0.4703: 0.3333: 0.3333: 1.6667 (Tabla 22).

**Tabla 22. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición.**

| Aminoácido         | Proporción en peso | % en peso | g/sobre  | g dosis n.º 1 | g dosis n.º 2 |
|--------------------|--------------------|-----------|----------|---------------|---------------|
| Leucina            | 0.8889             | 15.06     | 0.8889 g | 2.6667        | 8.0000        |
| Isoleucina         | 0.4444             | 7.53      | 0.4444 g | 1.3333        | 4.0000        |
| Valina             | 0.8889             | 15.06     | 0.8889 g | 2.6667        | 8.0000        |
| Lisina             | 0.4703             | 7.97      | 0.4703 g | 1.4108        | 4.2323        |
| Histidina          | 0.3333             | 5.65      | 0.3333 g | 1.0000        | 3.0000        |
| Treonina           | 0.3333             | 5.65      | 0.3333 g | 1.0000        | 3.0000        |
| Ornitina-Aspartato | 1.6667             | 28.23     | 1.6667 g | 5.0000        | 15.0000       |

Una preparación mezclada en seco ilustrativa, por ejemplo, PGDBP, incluye leucina, valina, arginina, glutamina, N-acetilcisteína, serina, carnitina, histidina, lisina y citrulina como sus entidades de aminoácido en una proporción en peso de 3.0: 1.0: 6.0: 5.0: 1.3: 2.5: 1.0: 1.0: 1.5: 4.0 (Tabla 23).

**Tabla 23. Componentes de aminoácidos ilustrativos de la composición.**

| Aminoácido       | Proporción en peso | % en peso | g/sobre | g dosis n.º 1 |
|------------------|--------------------|-----------|---------|---------------|
| Leucina          | 3.0                | 11.4      | 1.00    | 6.0           |
| Valina           | 1.0                | 3.8       | 0.33    | 2.0           |
| Arginina         | 6.0                | 22.8      | 2.00    | 12.0          |
| Glutamina        | 5.0                | 19.0      | 1.67    | 10.0          |
| N-acetilcisteína | 1.3                | 4.9       | 0.43    | 2.6           |
| Serina           | 2.5                | 9.5       | 0.83    | 5.0           |
| Carnitina        | 1.0                | 3.8       | 0.33    | 2.0           |
| Histidina        | 1.0                | 3.8       | 0.33    | 2.0           |
| Lisina           | 1.5                | 5.7       | 0.50    | 3.0           |
| Citrulina        | 4.0                | 15.2      | 1.33    | 8.0           |

### **Producción de preparaciones mezcladas en seco**

Los métodos desvelados en el presente documento se pueden usar para fabricar preparaciones mezcladas en seco (por ejemplo, PGDBP) de aminoácidos de grado farmacéutico. Los aminoácidos usados para hacer las preparaciones mezcladas en seco se pueden aglomerar y/o instantizar para ayudar en la dispersión y/o solubilización. En algunas realizaciones, los aminoácidos usados para hacer las preparaciones mezcladas en seco no están instantizados y/o están sustancialmente libres de lecitina.

Las preparaciones mezcladas en seco de la presente divulgación se pueden realizar usando aminoácidos y derivados de aminoácidos de las siguientes fuentes, o se pueden usar otras fuentes: por ejemplo, mezcla instantizada FUSI-BCAA™ (L-Leucina, L-Isoleucina y L-Valina en proporción en peso de 2:1:1), L-leucina instantizada FUSIL™, L-arginina HCl, L-glutamina y otros aminoácidos pueden obtenerse de Ajinomoto Co., Inc; la N-acetil-cisteína se puede obtener de Spectrum Chemical.

Para producir las preparaciones mezcladas en seco de la presente divulgación, se pueden usar las siguientes etapas generales: las entidades de aminoácido de grado farmacéutico individuales (y, opcionalmente, uno o más excipientes y/o componentes de administración oral) se pueden combinar en una combinación y someterlos a una o más condiciones de mezclado (por ejemplo, mezclado y combinado). En algunas realizaciones, las condiciones de mezclado continúan hasta que la combinación cumple uno o más estándares de referencia. En algunas realizaciones, la PGDBP resultante se divide en una pluralidad de porciones. En algunas realizaciones, al menos un porcentaje de las porciones de la pluralidad de porciones también cumple uno o más estándares de referencia, por ejemplo, los estándares de referencia que cumplen la PGDBP. En algunas realizaciones, al menos un porcentaje de las porciones de la pluralidad de porciones cumple uno o más estándares de referencia.

En algunas realizaciones, la combinación, por ejemplo, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, comprende una formulación de excipiente que comprende un número limitado de ingredientes de componentes de excipiente y/o administración oral. En algunas realizaciones, una combinación, por ejemplo, una preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, que comprende una formulación de excipiente que comprende un número limitado de componentes de excipiente y/o administración oral, presenta un sabor aceptable, por ejemplo, satisface un estándar de referencia para el gusto (por ejemplo, a pesar de utilizar un número limitado de excipientes y/o componentes de administración oral). En algunas realizaciones, la formulación de excipiente comprende menos de 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 o 5 componentes de excipiente y/o ingredientes de componentes de administración oral (y opcionalmente al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 componentes de excipiente y/o componentes de administración oral). En algunas realizaciones, la formulación de excipiente comprende menos de 11, 10, 9 u 8 componentes de excipiente y/o ingredientes de componentes de administración oral (y opcionalmente al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 componentes de excipiente y/o componentes de administración oral).

En algunas realizaciones, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, la PGDBP también es una preparación a gran escala. A gran escala, tal como se usa en el presente documento, describe una preparación que es mayor (por ejemplo, en peso, masa o volumen) que un valor de referencia. En algunas realizaciones, el valor de referencia es el tamaño de una preparación experimental típica (por ejemplo, no de fabricación). En algunas realizaciones, el valor de referencia es 10, 11, 12, 13, 14 o 15 kg. En algunas realizaciones, las preparaciones a gran escala comprenden al menos 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000 o 10000 kg. En algunas realizaciones, las preparaciones a gran escala comprenden no más de 10000, 5000, 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400 o 300 kg. En algunas

realizaciones, una preparación a gran escala comprende 100-500 kg, 100-400 kg, 100-300, 100-200 kg, 200-300 kg, 200-400 kg, 200-500 kg, 300-400 kg, 300-500 kg, 400-500 o 500-1000 kg.

### **Formulaciones**

Las preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, de la presente divulgación se pueden formular en una forma adecuada para uso oral. Por ejemplo, las PGDBP se pueden formular en forma seca como un polvo, por ejemplo, en un sobre, vial, saquito tubular o polvo o gránulos dispersables. En otras realizaciones, las PGDBP se pueden formular en forma líquida, por ejemplo, tal como una suspensión, emulsión, jarabe, paquete de gel o elixir acuoso u oleoso. En algunas realizaciones, la PGDBP formulada en forma seca se puede disolver en un disolvente apropiado para proporcionar la PGDBP formulada en forma líquida. En la misma realización, la PGDBP puede ir acompañada de instrucciones para añadir la PGDBP seca al líquido. Las preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, de la presente divulgación se pueden formular en una forma adecuada para la administración entérica (por ejemplo, mediante alimentación por sonda).

Las preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, de la presente divulgación se pueden formular como una composición dietética, por ejemplo, elegida de un alimento médico, un alimento funcional, un suplemento o un nutracéutico. La preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, puede ser para su uso como composición dietética, por ejemplo, elegida de un alimento médico, un alimento funcional, un suplemento o un nutracéutico. En algunas realizaciones, la composición dietética es para su uso en un método que comprende administrar la composición a un sujeto. En algunas realizaciones, la PGDBP puede ir acompañada de instrucciones para añadir la PGDBP seca o líquida a los alimentos para proporcionar una composición dietética, por ejemplo, elegida de un alimento médico, un alimento funcional, un suplemento o un nutracéutico.

En algunas realizaciones, las preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, formuladas de cualquier manera descrita en el presente documento se pueden proporcionar además como una dosis unitaria, por ejemplo, una dosis unitaria que comprende una cantidad eficaz de PGDBP para tratar una o más afecciones en un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano o un paciente humano). En algunas realizaciones, la dosis unitaria se utiliza en un método para tratar una afección o síntoma de una afección. En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento comprenden además identificar a un sujeto con una afección y/o administrar una dosis unitaria de una preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, por ejemplo, una PGDBP descrita en el presente documento.

En algunas realizaciones, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, cumple un estándar de esterilidad, por ejemplo, un estándar de referencia para esterilidad. En algunas realizaciones, el estándar de esterilidad es más estéril que el estándar de esterilidad para alimentos. En algunas realizaciones, el estándar de esterilidad es menos estéril que el estándar de esterilidad requerido para la administración parenteral.

En algunas realizaciones, una preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, cuando se disuelve en agua, tiene un pH menor o igual a 9, 8.8, 8.6, 8.4, 8.2, 8, 7.8, 7.6, 7.4, 7.2, 7, 6.8, 6.6, 6.4, 6.2, 6, 5.8, 5.6, 5.4, 5.2, 5, 4.8, 4.6, 4.4, 4.2, 4, 3.9, 3.8, 3.7, 3.6, 3.5, 3.4, 3.3, 3.2, 3.1 o 3 (por ejemplo,

menor o igual a 9 o 6) (y opcionalmente al menos 3, 3.5 o 5). En algunas realizaciones, disuelto en agua significa disolver una preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, por ejemplo, una cantidad de referencia (por ejemplo, un saquito tubular), en un volumen de referencia de agua (por ejemplo, al menos 15 ml de agua y hasta 150 ml de agua, por ejemplo, 15, 100 o 120 ml de agua).

## 5 **Componentes de formulación de excipientes**

Las combinaciones, por ejemplo, preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, de la presente divulgación pueden comprender uno o más componentes de administración oral. Los componentes de administración oral son componentes que mejoran o modifican un parámetro de una combinación que es importante para una administración oral eficaz (por ejemplo, una calidad de administración oral (por ejemplo, sabor, aroma, textura, sensación al paladar, color, etc.). Los ejemplos no limitantes de componentes de administración oral adecuados incluyen un saborizante, un agente que cubre el sabor amargo, aromatizantes, un edulcorante, un agente enmascarador de olores, un agente humectante, un agente estabilizante/espesante y un agente colorante.

En algunas realizaciones, el componente de administración oral comprende un aromatizante. Los aromatizantes se pueden elegir de aceites aromatizantes sintéticos y aromáticos aromatizantes; aceites naturales; extractos de plantas, hojas, flores y frutos; y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el aromatizante se selecciona de aceites de canela; aceite de gaulteria; aceites de menta; aceite de trébol; aceite de heno; aceite de anís; eucalipto; vainilla; aceite de cítricos como aceite de limón, aceite de naranja, aceite de uva y pomelo; y esencias de frutas que incluyen manzana, melocotón, pera, fresa, frambuesa, cereza, ciruela, piña y albaricoque.

En algunas realizaciones, el componente de administración oral comprende un edulcorante. Los ejemplos no limitantes de edulcorantes adecuados incluyen glucosa (jarabe de maíz), dextrosa, azúcar invertido, fructosa y mezclas de los mismos (cuando no se usa como un vehículo); sacarina y sus diversas sales tales como la sal de sodio; edulcorantes dipéptidos tales como aspartamo; compuestos de dihidrocalcona, glicirricina; Stevia rebaudiana (esteviósido); derivados de cloro de sacarosa tales como sucralosa; y alcoholes de azúcar tales como sorbitol, manitol, xilitol y similares. También se contemplan hidrolizados de almidón hidrogenado y el edulcorante sintético 3,6-dihidro-6-metil-1,2,3-oxatiazin-4-ona-2,2-dióxido, en particular, la sal de potasio (Acesulfamo-K) y sales de sodio y calcio de la misma.

En algunas realizaciones, el edulcorante es un edulcorante de inicio rápido, por ejemplo, acesulfamo. En algunas realizaciones, las combinaciones, por ejemplo, preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, comprenden un edulcorante de inicio rápido, por ejemplo, acesulfamo, a un nivel inferior al 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 5 o el 10 % (p/p), por ejemplo, inferior al 1 % (p/p) (y opcionalmente, al menos el 0.01, 0.1, 0.5, 1 o el 2 % (p/p)). En algunas realizaciones, las combinaciones, por ejemplo, las preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, no comprenden un edulcorante de inicio rápido, por ejemplo, acesulfamo. En algunas realizaciones, las combinaciones, por ejemplo, las preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, no comprenden acesulfamo.

En algunas realizaciones, el edulcorante es un edulcorante de inicio lento, por ejemplo, sucralosa. En algunas realizaciones, las combinaciones, por ejemplo, las preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, comprenden un edulcorante de inicio lento, por ejemplo, sucralosa, a un nivel inferior al 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.45, 0.5, 0.55, 0.6, 0.65, 0.7, 0.75, 0.8, 0.85, 0.9, 0.95, 1, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2, 2.2, 2.4, 2.6, 2.8, 3, 3.2, 3.4, 3.6, 3.8, o el 3.9 % (p/p) (opcionalmente, que comprende al menos el 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.45 o el 0.5 %). En algunas realizaciones, las combinaciones, por ejemplo, las preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, no comprenden un edulcorante de inicio lento, por ejemplo, sucralosa. En algunas realizaciones, las combinaciones, por ejemplo, las preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, comprenden un edulcorante de inicio lento, por ejemplo, sucralosa, a un nivel inferior al 3.9 % (p/p) (y opcionalmente, al menos el 0.05, 0.1, 0.5, 1 o el 2 % (p/p)).

En algunas realizaciones, el componente de administración oral comprende un agente colorante. Los ejemplos no limitantes de agente de color adecuados incluyen colores de alimentos, fármacos y cosméticos (FD&C), colores de fármacos y cosméticos (D&C) y colores de fármaco externo y cosméticos (Ext. D&C). Los agentes colorantes se pueden usar como tintes o sus correspondientes lacas.

En algunas realizaciones, el componente de administración oral comprende un agente modificador del sabor amargo. El agente modificador del sabor amargo puede reducir el sabor amargo o el sabor amargo percibido de la PGDBP. En algunas realizaciones, el agente modificador del sabor amargo es un agente que cubre el sabor amargo, por ejemplo, que aumenta un sabor no amargo de modo que el sabor percibido sea menos amargo. Los agentes que cubren el sabor amargo incluyen edulcorantes. Ejemplos de agentes modificadores del sabor amargo, por ejemplo, agentes que cubren el sabor amargo, incluyen fenchona, borneol o isoborneol, mentol y aspartamo.

Los componentes de administración oral particulares pueden incluir uno o más de ácido cítrico, lecitina (por ejemplo, Alcolec F100), edulcorantes (por ejemplo, sucralosa, sucralosa micronizada NF, Acesulfamo potasio (por ejemplo, Acesulfamo K o Ace-K)), un potenciador de la dispersión (por ejemplo, goma xantana (por ejemplo, Ticaxan Rapid-3)), aromatizantes (por ejemplo, natillas de vainilla n.º 4306, naranja natural WONF n.º 1326, lima 865.0032U y limón 862.2169U), un agente enmascarador del sabor amargo (por ejemplo, 936.2160U), y colorantes naturales o artificiales (por ejemplo, FD&C Amarillo 6). En algunas realizaciones, el componente de administración oral comprende lecitina. En otras realizaciones, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, no comprende lecitina.

**Tabla 14. Excipientes ilustrativos para efecto de crema de naranja**

| INGREDIENTE                   | GRADO | FUNCIÓN                        | INCLUYE           | RAZÓN FUNDAMENTAL                            |
|-------------------------------|-------|--------------------------------|-------------------|----------------------------------------------|
| Ácido cítrico, anhidro        | USP   | pH, Sabor                      | Ningún cambio     | f(volumen) ≤ 1.0 % p/v                       |
| Acesulfamo de potasio (Ace-K) | NF    | Edulcorante (aparición rápida) | Puede ser omitido | Edulcorante diana 1; Baja resolución de HPLC |
| Sucralosa, micronizada        | NF    | Edulcorante (aparición lenta)  | Ningún cambio     | Se necesita sin Ace-K, WHO ADI ≤ 15 mg/kg    |

|    |                                                              |             |                               |                   |                                                                                                                                                     |
|----|--------------------------------------------------------------|-------------|-------------------------------|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | Lecitina                                                     | FCC         | Agente humectante             | Puede ser omitido | Posible API a dosis más altas; reduce la vida útil de la columna de HPLC                                                                            |
| 5  | Goma xantana, prehidratada                                   | FCC         | Estabilizante/Espesante       | Ningún cambio     | $f(\text{volumen}) \leq 0.5\% \text{ p/v}$ ; $\geq 0.1\% \text{ p/v}$ requerido (suspensión)                                                        |
|    | Sabor de natillas de vainilla (artificial)                   | GRAS        | Aroma                         | Ningún cambio     | Enmascara el azufre; $f(\text{volumen}) \leq 0.1\% \text{ p/v}$                                                                                     |
| 10 | Sabor Naranja (Natural y con otros sabores naturales (WONF)) | GRAS        | 1 <sup>er</sup> sabor         | Ningún cambio     | El perfil de cítricos coincide con el pH bajo; $\leq 1.0\% \text{ p/v}$                                                                             |
| 15 | Sabor a lima (Natural y WONF)                                | GRAS        | 2 <sup>er</sup> sabor         | Puede ser omitido | perfil de 2º no requerido; se puede usar con o en lugar de naranja; $\leq 1.0\% \text{ p/v}$                                                        |
|    | Sabor a limón (Natural Artificial)                           | GRAS        | 2 <sup>er</sup> sabor         | Puede ser omitido | perfil de 2º no requerido; se puede usar con o en lugar de naranja; $\leq 1.0\% \text{ p/v}$                                                        |
| 20 | Modificador del sabor                                        | GRAS        | Enmascarador del sabor amargo | Puede ser omitido | Puede ser necesario en volúmenes de reconstitución bajos o si la composición incluye un aminoácido particularmente amargo (por ejemplo, triptófano) |
| 25 | FD&C Amarillo N.º 6                                          | Certificado | Aporta color naranja          | Ningún cambio     | Coincide con el perfil de sabor                                                                                                                     |

### **Propiedades organolépticas de la formulación del excipiente**

En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento comprenden además evaluar la calidad de la administración oral de la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP.

- 30 Las cualidades de administración oral incluyen, pero no se limitan a sabor, gusto, aroma, textura, sensación al paladar y color. Tal como se usa en el presente documento, el sabor como cualidad comprende el gusto y el aroma. En algunas realizaciones, el sabor como cualidad comprende además la textura y/o la sensación al paladar. El sabor es una característica compuesta que describe las sensaciones asociadas con una sustancia en la boca de un sujeto. En algunas realizaciones, los métodos
- 35 descritos en el presente documento comprenden además evaluar un sabor de la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP. En algunas realizaciones, se evalúa el sabor general de la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP. En algunas realizaciones, se evalúan aspectos particulares del sabor (por ejemplo, sabor amargo, sabor dulce, acidez, salinidad, sabor umami, sabor, notas metálicas o

quemaduras químicas). Tal como se usa en el presente documento, el gusto como una cualidad comprende las sensaciones asociadas con una sustancia tal como la experimenta puramente la lengua/cavidad oral, por ejemplo, en ausencia de contribución olfativa/retronasal al olfato. Tal como se usa en el presente documento, el aroma como una cualidad comprende las sensaciones asociadas con una sustancia tal como se experimenta a través del olfato, por ejemplo, incluyendo el olfato retronasal.

Tal como se usa en el presente documento, la textura como una cualidad comprende una propiedad de una sustancia (por ejemplo, combinación, por ejemplo, preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, por ejemplo, una formulación de una PGDBP descrita en el presente documento) que describe su granularidad y consistencia. Por ejemplo, una sustancia puede tener una textura desmenuzable, dura, viscosa, grumosa, etc. En algunas realizaciones, la textura se aplica típicamente a sólidos, por ejemplo, polvos o alimentos. Tal como se usa en el presente documento, la sensación al paladar como una cualidad comprende las sensaciones del tacto asociadas con una sustancia tal como las experimenta la boca.

En algunas realizaciones, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, se evalúa en forma seca, por ejemplo, como un polvo. En algunas realizaciones, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, se evalúa en forma líquida, por ejemplo, como una suspensión acuosa u oleosa, emulsión, jarabe, paquete de gel o elixir. En algunas realizaciones, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, se evalúa en forma de una composición dietética, por ejemplo, elegida de un alimento médico, un alimento funcional, un suplemento o un nutracéutico.

Los expertos en la técnica conocen muchos métodos para evaluar las cualidades de la administración oral y se pueden usar para evaluar las cualidades de la administración oral en los métodos descritos en el presente documento.

En algunas realizaciones, evaluar la calidad de la administración oral comprende evaluar el sabor, por ejemplo, el gusto y/o el aroma, de una preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP. En algunas realizaciones, evaluar el sabor comprende evaluar una, dos, tres, cuatro o todas del nivel de sabor amargo, sabor dulce, acidez, salinidad, sabor umami, sabor salado, notas metálicas o quemadura química de una preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP. El sabor amargo se puede evaluar mediante una prueba de preferencia animal, evaluación sensorial humana (por ejemplo, un grupo de catadores humanos que evalúan una serie de sustancias, por ejemplo, puntuándolas en relación con la PGDBP), mediante medición electrónica de la lengua, mediante métodos predictivos por simulación informática (utilizando un programa informático o bases de datos de búsqueda que, basándose en las características estructurales/químicas de los componentes de la PGDBP, predice el sabor amargo de la PGDBP), u otros métodos conocidos en la técnica.

En algunas realizaciones, el sabor de las combinaciones, por ejemplo, preparaciones mezcladas secas, por ejemplo, PGDBP, es menos amargo que el sabor de al menos una entidad de aminoácido de las combinaciones, por ejemplo, preparaciones mezcladas en seco, por ejemplo, PGDBP, (por ejemplo, una entidad de aminoácido que tiene un sabor amargo). Por ejemplo, el sabor de una combinación, por ejemplo, una preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, que comprende una entidad de

aminoácido de arginina puede ser menos amargo que el sabor de la entidad de aminoácido de arginina, por ejemplo, debido a la presencia de otros componentes en la combinación, por ejemplo, preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP.

Los excipientes, por ejemplo, los componentes de administración oral, pueden modificar las cualidades de administración oral de la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP. En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento comprenden además, en respuesta a una evaluación de la calidad de la administración oral, la adición o la adición adicional de un excipiente, por ejemplo, un componente de administración oral. En algunas realizaciones, el excipiente, por ejemplo, el componente de administración oral, añade o añade adicionalmente enmascaradores o disminuye el sabor amargo de la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP.

### **Forma de dosificación**

En algunas realizaciones, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, se formula en una dosis unitaria de entre aproximadamente 4 g y aproximadamente 80 g de aminoácidos totales (por ejemplo, por día). En algunas realizaciones, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, se formula en una dosis unitaria de aproximadamente 5 g a aproximadamente 15 g, de aproximadamente 10 g a aproximadamente 20 g, de aproximadamente 20 g a aproximadamente 40 g, o de aproximadamente 30 g a aproximadamente 50 g de aminoácidos totales. En algunas realizaciones, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, se formula en una dosis unitaria de aproximadamente 5 g a aproximadamente 15 g (por ejemplo, aproximadamente 6 g de aminoácidos totales. En una realización, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, se formula en una dosis unitaria que comprende aproximadamente 18 g de aminoácidos totales. En una realización, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, se formula en una dosis unitaria de aproximadamente 23 g de aminoácidos totales. En una realización, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, se formula en una dosis unitaria de aproximadamente 48 g de aminoácidos totales. En una realización, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, se formula en una dosis unitaria de aproximadamente 68 g de aminoácidos totales se administra por día. En una realización, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, se formula en una dosis unitaria de aproximadamente 72 g de aminoácidos totales. En algunas realizaciones, la preparación mezclada en seco, por ejemplo, PGDBP, se formula en una dosis unitaria de aproximadamente 15 g a aproximadamente 40 g (por ejemplo, aproximadamente 24 g de aminoácidos totales.

### **Procesamiento posterior**

Los métodos de la presente divulgación pueden comprender etapas de procesamiento posteriores, que incluyen dividir la PGDBP en porciones (por ejemplo, porcionamiento) y llenado-acabado (por ejemplo, formulación (por ejemplo, con excipientes), envasado y etiquetado) y distribución. En algunas realizaciones, una pluralidad de porciones de una PGDBP que han sido finalizadas mediante etapas de procesamiento posterior cumplen un estándar de referencia, por ejemplo, el mismo estándar de referencia que cumple la PGDBP. En las mismas realizaciones, al menos el 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 99 o el 100% de la pluralidad de porciones finalizadas cumplen el estándar de referencia. En algunas

realizaciones, la PGDBP producida por un método descrito en el presente documento es suficiente para que una pluralidad de porciones finalizadas cumplan con un estándar de referencia, por ejemplo, el mismo estándar de referencia que cumple la PGDBP. En las mismas realizaciones, al menos el 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 99 o el 100% de la pluralidad de porciones finalizadas cumplen el estándar de referencia.

### **Ejemplos**

#### **Ejemplo 1. composiciones**

Se han preparado dos composiciones orales diferentes que comprenden aminoácidos de sabor amargo. Cada composición se prepara como un polvo seco para envasar en un saquito tubular. Se pueden combinar múltiples saquitos tubulares para una sola dosis o dosis diaria, por ejemplo, tal como se ejemplifica a continuación, 3, 6 o 9 saquitos tubulares una, dos o tres veces al día. Para administrar la preparación, el contenido de los saquitos tubulares se disuelve o se suspende en agua. En los dos ejemplos siguientes, la suspensión/solución acuosa tenía un agradable sabor a crema de naranja cuando se probó informalmente por un panel de seis personas.

**Tabla 15. Resto Activo para el tratamiento de la cirrosis**

| <b>Ingrediente</b>                            | <b>Grado</b> | <b>Peso seco del saquito tubular (g)</b> | <b>Peso seco del saquito tubular (% en p/p)</b> | <b>Peso de dosis diaria baja (g)*</b> | <b>Peso de dosis diaria alta (g)**</b> |
|-----------------------------------------------|--------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|
| <b>L-Leucina</b>                              | USP          | 0.89                                     | 15.06                                           | 2.67                                  | 8.0                                    |
| <b>L-Isoleucina</b>                           | USP          | 0.44                                     | 7.53                                            | 1.33                                  | 4.0                                    |
| <b>L-Valina</b>                               | USP          | 0.89                                     | 15.06                                           | 2.67                                  | 8.0                                    |
| <b>L-Lisina acetato</b>                       | USP          | 0.47                                     | 7.97                                            | 1.41                                  | 4.2                                    |
| <b>L-Histidina</b>                            | USP          | 0.33                                     | 5.65                                            | 1.00                                  | 3.00                                   |
| <b>L-Treonina</b>                             | USP          | 0.33                                     | 5.65                                            | 1.00                                  | 3.00                                   |
| <b>L-Ornitina-L-Aspartato</b>                 | >98%         | 1.67                                     | 28.23                                           | 5.00                                  | 15.00                                  |
| <b>Ácido cítrico, anhidro</b>                 | USP          | 0.60                                     | 10.16                                           | 1.80                                  | 5.40                                   |
| <b>Sucralosa, micronizada</b>                 | NF           | 0.016                                    | 0.27                                            | 0.048                                 | 0.144                                  |
| <b>Goma xantana, prehidratada</b>             | FCC          | 0.08                                     | 1.36                                            | 0.24                                  | 0.72                                   |
| <b>Natillas de vainilla, sabor artificial</b> | GRAS         | 0.02                                     | 0.34                                            | 0.06                                  | 0.18                                   |
| <b>Sabor Naranja, WONF natural</b>            | GRAS         | 0.16                                     | 2.71                                            | 0.48                                  | 1.44                                   |
| <b>FD&amp;C Amarillo N.º</b>                  | Certificado  | 0.0016                                   | 0.03                                            | 0.0048                                | 0.0144                                 |

|                                      |      |       |       |         |
|--------------------------------------|------|-------|-------|---------|
| <b>Aminoácidos (excepto acetato)</b> | 4.89 | 82.8  | 14.67 | 44.00   |
| <b>Total</b>                         | 5.90 | 100.0 | 17.71 | 53.1307 |

\* Dosis diaria baja (14.7 g de aminoácidos) basada en 3 saquitos tubulares QD.

\*\* Dosis diaria alta (44.0 g de aminoácidos) basada en 3 saquitos tubulares TID.

**Tabla 16. Resto Activo para el tratamiento de una lesión cerebral traumática leve**

| <b>Ingrediente</b>                            | <b>Grado</b> | <b>Peso seco del saquito tubular (g)</b> | <b>Peso seco del saquito tubular (% en p/p)</b> | <b>Peso de la dosis diaria (g)*</b> |
|-----------------------------------------------|--------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>L-Leucina</b>                              | USP          | 1.67                                     | 24.17                                           | 10.00                               |
| <b>L-Isoleucina</b>                           | USP          | 1.67                                     | 24.17                                           | 10.00                               |
| <b>L-Valina</b>                               | USP          | 1.67                                     | 24.17                                           | 10.00                               |
| <b>Acetilcisteína (NAC)</b>                   | USP          | 0.50                                     | 7.25                                            | 3.00                                |
| <b>Acetil-L-Carnitina (ALCAR) HCl**</b>       | >98%         | 0.24                                     | 3.42                                            | 1.42                                |
| <b>Ácido cítrico, anhidro</b>                 | USP          | 0.60                                     | 8.70                                            | 3.60                                |
| <b>Sucralosa, micronizada</b>                 | NF           | 0.048                                    | 0.70                                            | 0.288                               |
| <b>Goma xantana, prehidratada</b>             | FCC          | 0.24                                     | 3.48                                            | 1.44                                |
| <b>Natillas de vainilla, sabor artificial</b> | GRAS         | 0.03                                     | 0.44                                            | 0.18                                |
| <b>Sabor Naranja, WONF natural</b>            | GRAS         | 0.24                                     | 3.48                                            | 1.44                                |
| <b>FD&amp;C Amarillo N.º 6</b>                | Certificado  | 0.0018                                   | 0.03                                            | 0.0108                              |
| <b>Aminoácidos (excluyendo HCl)</b>           |              | 5.70                                     | 82.7                                            | 34.20                               |
| <b>Total</b>                                  |              | 6.896                                    | 100.0                                           | 41.37                               |

\* Dosis diaria (32.4 g de aminoácidos excluyendo la sal de HCl) basada en tres saquitos tubulares BID.

\*\* La dosis diaria de ALCAR independiente del HCl es de 1.2 g.

### **Ejemplo 2: pruebas de estabilidad organoléptica**

#### **Sumario experimental**

Los resultados de las pruebas de estabilidad organoléptica mostraron que a temperatura ambiente, el placebo y las cuatro mezclas de aminoácidos permanecieron similares a los controles refrigerados y, por lo tanto, organolépticamente aceptables durante un año. Dadas las puntuaciones de bajo grado de diferencia (GdD) de los controles refrigerados al final del período de prueba de un año, el

placebo y las cuatro mezclas de aminoácidos probablemente serían aceptables durante varios meses más. Por lo tanto, el placebo y las mezclas de los cuatro aminoácidos, desde un punto de vista organoléptico, cuando se almacenan en condiciones ambientales se pueden utilizar en pruebas clínicas hasta un año y posiblemente más allá de la fecha de fabricación.

## 5 **Introducción**

Las formulaciones de aminoácidos se diseñaron para direccionar y tratar determinadas patologías. Sin embargo, el consumo de bebidas suplementadas con aminoácidos presenta desafíos como baja solubilidad y textura arenosa, sabor amargo y aromas repugnantes, sabores y regusto desagradables, etc. En general, estos defectos no solo pueden estar presentes inicialmente, sino que también tienden a aumentar significativamente con el tiempo, creando potencialmente muestras inaceptables, no aptas para el consumo humano. Por lo tanto, se realizó un estudio para monitorizar cualquier cambio organoléptico a lo largo del tiempo en el prototipo de placebo y cuatro mezclas de bebidas suplementadas con composición de aminoácidos diferentes.

## **Materiales y métodos**

A modo de resumen, el protocolo del estudio de estabilidad organoléptica consistió en almacenar las muestras, como saquitos tubulares individuales de uso único, en las siguientes condiciones:

- Condición de control (refrigerado), 4 °C
- Condición ambiental, 25 °C, 60 % de HA
- Condición acelerada, 40 °C, 75 % de HA

Los saquitos tubulares se sacaron de las cámaras de almacenamiento en diversos puntos de tiempo como se describe en la SOW y más abajo. El contenido en polvo de cada saquito tubular se reconstituyó luego con agua y se evaluó por hasta seis participantes del panel.

Se evaluaron las siguientes 5 muestras (véase la Tabla 17 adjunta)

1. Placebo - sabor, color y textura (excipientes) más maltodextrina
2. Mezcla 1 - Excipientes más FUSI-BCAA\*, Arg, Glu, Acetil-Cys
3. Mezcla 2 - Excipientes más FUSI-BCAA\*, Arg, Glu, Acetil-Cys, Trp
4. Mezcla 3 - Excipientes más FUSI-BCAA\*, Arg, Glu, Acetil-Cys, Leu
5. Mezcla 4 - Excipientes más FUSI-BCAA\*, Arg, Glu, Acetil-Cys, Lys-Acetato, Thr, His, Phe

\*FUSI-BCAA: Mezcla instantizada a 2:1:1 de Leu, Ile y Val, respectivamente

## 30 **Resultados y discusión de la prueba de intensidad**

Un sumario de los resultados de la prueba de intensidad en T = 0 y en T = 1 mes se puede ver en la Tabla 18 adjunta. Las puntuaciones de intensidad dentro de cada variable no parecieron cambiar significativamente desde el momento 0 hasta el mes 1 como se enumera en la Tabla 1; algunas puntuaciones aumentaron, otras disminuyeron y otras permanecieron igual, pero no hubo un patrón claro de cambio o deterioro de la intensidad. Por ejemplo, para la Mezcla 2, el Aroma de Naranja, el Aroma desagradable, el Sabor y la Textura de Naranja puntuaron prácticamente lo mismo, mientras que el Color y el Regusto aumentaron y el Sabor Inactivo disminuyó el tiempo de forma del momento 0 a 1 mes. Para cada variable, se probó el sabor de naranja mediante una prueba estadística de la t de dos muestras

pareadas. Los resultados de la prueba de la t mostraron que el sabor de naranja estadísticamente no fue significativamente diferente ( $P = 0.05$ , una vía) en el tiempo 0 frente a 1 mes. Los cálculos se muestran en la hoja de cálculo de prueba de intensidad mencionada anteriormente.

Se asumió que el producto en polvo no se degrada ni cambia significativamente con el tiempo bajo la condición de control refrigerado y, por lo tanto, las muestras extraídas de esta cámara en cada fecha de prueba representan muestras frescas o recién producidas. Como se demostró en este estudio de intensidad, durante 1 mes se validó esta hipótesis, logrando así el primer objetivo del presente estudio de confirmar la estabilidad de la condición de control.

### **Resultados y discusión de la prueba del gdd**

**Condiciones aceleradas:** En general, las puntuaciones de los atributos de GdD fueron coherentes con la puntuación general del GdD para cada variable. Las puntuaciones generales del GdD se enumeran en la Tabla 19, adjunta. Tal como se muestra en la Tabla 19, en general y como se esperaba, el Placebo y las cuatro mezclas obtuvieron puntuaciones cada vez más diferentes del control a lo largo del tiempo para la calificación general del GdD. La calificación general del GdD fue la percepción del participante en el panel de la diferencia general de las muestras teniendo en cuenta todos los atributos del GdD probados: color, aroma, sabor, sensación al paladar y regusto. Al final de los 3 meses, el Placebo, Mezcla 1 y 4 se calificaron con diferencias pequeñas a moderadas con respecto al control, mientras que se percibió que las Mezclas 2 y 3 tenían diferencias moderadas a grandes con respecto al control. Según la experiencia de los presente inventores, cuando las muestras obtuvieron una puntuación de 4 a 5, estaban en el límite de lo aceptable y de 5 o más probablemente eran inaceptables. Por lo tanto, el Placebo y las Mezclas 1 y 4 fueron aceptables después de 3 meses en condiciones aceleradas, mientras que las Mezclas 2 y 3 pueden considerarse inaceptables o cerca de ser inaceptables.

Cabe señalar que 1 de los 3 saquitos tubulares probados para la Mezcla 2 tuvo una puntuación de GdD general promedio de 6.4, mientras que los otros 2 saquitos tubulares obtuvieron una puntuación de 3.8. Se describió que el saquito tubular que obtuvo una puntuación de 6.4 tenía "olor a huevo podrido", "aroma pútrido", "sabor horrible" y "no apetecible" y muy "amargo". Véase a continuación una discusión sobre por qué este saquito tubular puede haber diferido de los otros dos.

El proceso de reacciones químicas y biológicas en los sistemas alimentarios depende de muchos factores que incluyen, entre otros, la cantidad de agua disponible para que tengan lugar las reacciones, la temperatura, el pH, la presencia de enzimas u otros catalizadores. Estas reacciones pueden ser deseables, como en la formación de sabores característicos del queso curado o indeseables como el caso de la leche agria o el pan duro. La prueba de GdD de condición acelerada utiliza temperatura y humedad elevadas para aumentar estas reacciones como una forma de predecir lo que sucederá en condiciones de almacenamiento más normales o ambientales. Generalmente se considera un factor de 4X la tasa de aceleración de estas reacciones.

Si se usa un factor de aumento de reacción a 4X, entonces los resultados de la prueba de condición acelerada sugieren que el Placebo y las Mezclas 1 y 4 solo tendrían pequeñas diferencias, mientras que las Mezclas 2 y 3 tendrían grandes diferencias con un control o una muestra recién hecha,

después de aproximadamente 1 año (3 meses multiplicado por el factor 4X). Las 4 mezclas contienen una mezcla de aminoácidos, que por su naturaleza, son compuestos bioactivos susceptibles de alteración o degradación por medios químicos y biológicos. El placebo, por otro lado, contiene principalmente maltodextrina, que es relativamente estable. Dado que los resultados muestran que las Mezclas 1 y 4 envejecieron de manera similar al Placebo, estas fórmulas también fueron relativamente estables. La mezcla 2, que contenía triptófano, formó sabores desagradables, como era de esperar. La mezcla 3 era similar a la mezcla 1 en composición y solo se diferenciaba por la adición de leucina, por lo que no está claro por qué esta mezcla se degradó. Se necesitaría más investigación/información para determinar la causa de esta diferencia.

Una parte de los datos inconsistentes fue, como se mencionó anteriormente, una de las tres muestras de la Mezcla 2 tuvo un GdD general significativamente más alto que las otras 2 muestras probadas al mismo tiempo. Aunque se necesitaría más investigación/información para determinar la causa exacta, este cambio extremo podría haberse debido a un saquito tubular con fugas o un sello deficiente del saquito tubular. Una fuga o un sellado deficiente permitiría la migración de la humedad al interior del saquito tubular, lo que a su vez aceleraría aún más las reacciones de degradación que provocan los aromas y sabores desagradables.

**Condiciones ambientales:** En general, las puntuaciones de los atributos de GdD fueron coherentes con la puntuación general del GdD en cada variable. Las puntuaciones generales del GdD se pueden ver a continuación en la Tabla 20, adjunta.

#### **Conclusiones/próximas etapas**

El placebo y las cuatro mezclas de aminoácidos, desde un punto de vista organoléptico, cambiaron con el tiempo, pero solo mínimamente y, por lo tanto, se pueden usar en pruebas clínicas hasta un año y probablemente más allá de la fecha de fabricación.