

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 707 211**

51 Int. Cl.:

| | |
|-------------------|-----------|
| A61K 38/46 | (2006.01) |
| A61K 38/47 | (2006.01) |
| A61K 38/48 | (2006.01) |
| A23L 29/00 | (2006.01) |
| A23L 33/20 | (2006.01) |
| A61K 47/06 | (2006.01) |
| C12N 9/20 | (2006.01) |

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.03.2014 PCT/IB2014/059722**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14141121**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2014 E 14717867 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.10.2018 EP 2996712**

54 Título: **Proceso para la preparación de una composición que contiene enzimas digestivas y nutrientes adecuada para su administración enteral**

30 Prioridad:

15.03.2013 US 201361798027 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.04.2019

73 Titular/es:

**ALLERGAN PHARMACEUTICALS
INTERNATIONAL LIMITED (100.0%)
Clonshaugh Business & Technology Park
Dublin 17, D17 E400, IE**

72 Inventor/es:

**PIRONTI, VINCENZA;
RONDA, EMANUELA y
BOLTRI, LUIGI**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 707 211 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Proceso para la preparación de una composición que contiene enzimas digestivas y nutrientes adecuada para su administración enteral

5

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de una composición líquida estable y homogénea, que comprende un producto de enzima digestiva y nutrientes de una fórmula nutricional, que es adecuada para su administración enteral. El proceso comprende la preparación de una pre-suspensión de un producto de enzima digestiva y su adición a la fórmula nutricional. También se divulga en el presente documento un método para la administración eficiente y eficaz de una dosis terapéuticamente eficaz de la composición líquida estable y homogénea, que comprende un producto de enzima digestiva y nutrientes de una fórmula nutricional, por medio de un tubo enteral.

15

Antecedentes de la invención

La apropiada dosificación de los medicamentos en los pacientes es una preocupación importante en el campo médico. En los bebés, los niños pequeños y los pacientes geriátricos en particular, así como también en ocasiones en las poblaciones adultas, la administración de medicamentos y los métodos de dosificación a menudo presentan importantes problemas. Como es bien conocido en la materia, los medicamentos se proporcionan de muchas formas (por ejemplo, líquida, sólida y combinaciones de sólidos en líquidos) y son administrados a los pacientes de muchas formas (por ejemplo, por vía oral, a través de una inyección, por vía transdérmica). No obstante, todavía existe una necesidad de optimizar la dosificación de las formulaciones con suplementos de enzima pancreática para mejorar tanto su eficacia como el cumplimiento por parte del paciente durante su uso. Por lo tanto, para los pacientes que padecen afecciones en las que las enzimas pancreáticas se usan de forma rutinaria (tales como una insuficiencia pancreática exocrina, IPE) la cuestión es cómo conseguir que el suplemento de la enzima pancreática sea lo más eficaz a la dosis más baja y tenga un perfil de seguridad bien definido.

20

25

30

En los casos de insuficiencia pancreática exocrina (IPE), de los cuales la FDA estima que padecen más de 200.000 americanos, los pacientes son incapaces de digerir apropiadamente la comida debido a una ausencia de las enzimas digestivas elaboradas por su páncreas. Esa pérdida de enzimas digestivas da lugar a trastornos tales como una mala digestión y una mala absorción de los nutrientes, lo que da lugar a una malnutrición y a otras consecuentes afecciones fisiológicas no deseables asociadas a la misma. Estos trastornos son habituales para aquellos que padecen fibrosis quística (FQ) y otras afecciones que comprometen la insuficiente función exocrina del páncreas, tales como cáncer de páncreas, pancreatocistomía y pancreatitis. Esta malnutrición puede ser potencialmente mortal si se deja sin tratar, particularmente en el caso de bebés y de pacientes con FQ, y el trastorno da lugar a alteraciones en el crecimiento en niños, una respuesta inmunitaria comprometida y un acortamiento en la esperanza de vida.

35

40

Otras afecciones en las que las enzimas pancreáticas se usan de forma rutinaria son habitualmente afecciones que alteran la anatomía gastrointestinal (derivación gástrica, pancreatoduodenectomía, resección del intestino delgado, etc.) o que deterioran la función del intestino, lo que da como resultado una malabsorción (enfermedad celiaca, enfermedad de Crohn, diabetes, sobrecrecimiento bacteriano, etc.) u otras afecciones fisiológicas secundarias que alteran la absorción (tumores gastrointestinales, agentes farmacológicos [es decir, octreotida], etc.).

45

Las enzimas digestivas, tales como las enzimas lipasa pancreática y otros productos de enzimas pancreáticas (PEP), pueden ser administrados para remediar al menos parcialmente la IPE. La administración de suplementos de una enzima digestiva permite a los pacientes digerir más eficazmente su comida.

50

Las enzimas lipasas pancreáticas usadas para el tratamiento de la IPE son principalmente una combinación de tres clases de enzimas: lipasa, proteasa y amilasa, junto con sus diversos cofactores y coenzimas. Estas enzimas son producidas de forma natural en el páncreas y son importantes en la digestión de las grasas, de las proteínas y de los carbohidratos. Las enzimas pancreáticas normalmente se preparan a partir de las glándulas pancreáticas porcinas, aunque también pueden usarse otras fuentes, por ejemplo, las descritas en el documento U.S. 6.051.220, en el documento U.S. 2004/0057944, en el documento 2001/0046493 y en el documento WO2006044529. Las enzimas catalizan la hidrólisis de las grasas en glicerol y ácidos grasos, del almidón en dextrina y de los azúcares y las proteínas en aminoácidos y otras sustancias derivadas.

55

60

Las enzimas pancreáticas muestran su actividad óptima en unas condiciones neutras y ligeramente alcalinas. En las condiciones gástricas, las enzimas pancreáticas pueden ser inactivadas con la resultante pérdida de su actividad biológica; las lipasas pancreáticas, que son clave en el tratamiento de la malabsorción, son especialmente sensibles a la inactivación gástrica. Por lo tanto, normalmente se monitoriza la actividad de lipasa para determinar la estabilidad de una composición enzimática que contiene lipasa.

65

Se ha desarrollado una composición que contiene enzimas digestivas, tales como enzimas lipasas pancreáticas,

- para su administración oral en forma de cápsulas (Zenpep®, Creon®, Cotazym®and Pancreaze®), de comprimidos (Viokace™, Viokasa®), de gránulos (Eurobiol®). Sin embargo, si un paciente es incapaz de ingerir las cápsulas, puede abrirse cada cápsula y espolvorear el contenido en una pequeña cantidad de un alimento, habitualmente un alimento ácido suave (tal como el puré de manzana disponible comercialmente) y administrarse por vía oral al paciente con una cuchara. Alternativamente, dichos medicamentos pueden ser administrados por vía oral a bebés y niños usando un dispositivo de jeringa que contiene el contenido suspendido en un medio dispuesto para su administración de ese modo.
- También se reconoce que para algunos pacientes, incluyendo pacientes pediátricos y adultos con IPE, se requiere la alimentación a través de tubos enterales, incluyendo tubos de alimentación enteral con una luz más pequeña, tales como los tubos para una alimentación gástrica y en el yeyuno. Por lo tanto, existe una clara necesidad de una administración enteral de enzimas digestivas, tales como las enzimas lipasas pancreáticas, a dichos pacientes que son incapaces de tomar por vía oral las enzimas digestivas. Cuando las enzimas digestivas están en forma de partículas, pueden ser añadidas a una fórmula nutricional para su administración, sin embargo, algunos problemas incluyen cómo asegurar que las enzimas digestivas efectivamente ejercen su actividad enzimática sobre los constituyentes susceptibles a la misma en la fórmula de nutrientes, y cómo obviar las potenciales obstrucciones de la alimentación enteral por parte de los particulados. El uso de formas de comprimidos de los productos de enzimas digestivas también es problemático por las mismas razones.
- El documento WO 2012042372 desvela métodos para la preparación de una fórmula nutricional predigerida para su administración a un paciente, incluyendo mediante una administración enteral. La referencia desvela cómo tratar mecánica o químicamente los productos de enzimas pancreáticas con un recubrimiento entérico con objeto de disolver el recubrimiento y liberar la enzima para que sea eficaz en la digestión de la fórmula nutricional. La mezcla es muy compleja en términos de ingredientes y por las reacciones enzimáticas que se producen durante la administración a los pacientes, y porque puede ser muy inestable y dar lugar a la separación de las fases lipídica y acuosa, y es probable que se produzca la precipitación de los componentes insolubles. Esta referencia no divulga cómo preparar una fórmula nutricional predigerida que sea lo suficientemente estable y homogénea como para ser adecuada para su administración enteral.
- La alimentación enteral puede proporcionarse a través de: la boca (tubo orogástrico u OG); la nariz (tubo nasogástrico o NG); el estómago (gastrostomía o GT); el intestino (yeyunostomía o JT); pueden usarse para administrar calorías y nutrientes durante el sueño por la noche o durante el día. Un tubo de alimentación nasogástrica, o "tubo NG", se hace pasar a través de la nariz, hacia abajo por el esófago y hasta el estómago. Los tubos de alimentación gástrica, o "tubo G," por otro lado, se insertan a través de una pequeña incisión en el abdomen directamente en el estómago y se están convirtiendo cada vez más en el tratamiento convencional de muchos pacientes, tales como pacientes con fibrosis quística que muestran una pérdida de peso crónica y requieren una nutrición enteral a largo plazo.
- Independientemente de la vía de entrada, también se usan unos tubos de alimentación más largos (OG o NG) para administrar nutrientes directamente en el duodeno o en el yeyuno, sin pasar por el estómago.
- La colocación de un tubo de alimentación está supeditada a diversas condiciones que incluyen el estado de salud global del paciente y la edad, la gravedad de la afección, la duración de la colocación, el tipo de tubo, el medio de colocación, la comodidad del paciente, la mitigación de las complicaciones, las potenciales infecciones, las consideraciones financieras, la disponibilidad, el acceso y el uso. Por lo tanto, hay disponibles diversos tubos con diversos tamaños para dichas aplicaciones.
- Los beneficios a corto plazo de la alimentación enteral incluyen una ganancia de peso inmediata y un aumento en la energía. Los beneficios a largo plazo incluyen un aumento en la grasa corporal, en la masa muscular magra, una mejora en la fuerza, un sistema inmunitario más fuerte, una menor pérdida de peso durante infecciones pulmonares, una mayor sensación de control sobre el peso del cuerpo y otros numerosos beneficios.
- Sin embargo, a pesar de los obvios beneficios ofrecidos por la nutrición enteral, la administración mediante una gastrostomía de medicamentos con formas de dosificación sólidas orales es complicada debido a los numerosos retos preparativos y administrativos, que pueden hacer que los principios activos farmacéuticos sean ineficaces. También es preceptivo tener una composición compleja estable y homogénea para asegurar una administración coherente y completa de las enzimas lipasas pancreáticas a través de la salida de la jeringa y a través de la luz del tubo G sin taponamientos ni adherencias.
- Ferrie et al. *Nutr. Clin. Pract.* 2011, 26 (3): 349-51 desvelan una técnica para la administración de una enzima pancreática a través de tubos de alimentación que implica la apertura de las cápsulas de pancreatina y la suspensión de las microesferas de la enzima en un fluido ácido espeso para la administración en el tubo de alimentación.
- El documento WO2012019186 desvela un proceso para la preparación de una fórmula nutricional predigerida que comprende enzimas digestivas y una composición nutricional líquida que comprende una mezcla de carbohidratos,

lípidos, proteínas y agua.

El documento WO0170047 desvela una composición nutricional de una fórmula para bebés que comprende proteína hidrolizada y un método de producción de la composición.

5 En vista de lo dicho anteriormente, existe una necesidad de un proceso rápido, práctico, barato, simple y eficaz para la preparación de una composición nutricional de enzimas digestivas que pueda ser aplicado por personas diferentes y con diferentes equipos; más particularmente, de composiciones que sean estables y homogéneas durante un periodo de tiempo adecuado, que serían susceptibles de una administración enteral sin ninguna separación de fases ni susceptibilidad de obstrucción de un tubo de alimentación.

Sumario de la invención

15 La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de una composición líquida estable y homogénea, que comprende un producto de enzima digestiva y nutrientes a partir de una fórmula nutricional específica, que es adecuada para su administración enteral, según se define en las reivindicaciones. El proceso comprende la preparación de una suspensión previa de un producto de enzima digestiva y su adición a la fórmula nutricional. La divulgación también proporciona un método para la administración eficiente y eficaz de una dosis terapéuticamente eficaz de la composición líquida estable y homogénea, que comprende un producto de enzima digestiva y nutrientes de una fórmula nutricional, por medio de un tubo enteral.

Descripción detallada de la invención

25 La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de una composición líquida estable y homogénea que comprende un producto de enzima digestiva y nutrientes de una fórmula nutricional, comprendiendo dicho proceso la preparación de una suspensión de producto de enzima digestiva en solución acuosa, seguido de la mezcla de dicha suspensión con una fórmula nutricional líquida que contiene nutrientes en una cantidad específica, según se define en las reivindicaciones. Esta composición líquida conserva las actividades enzimáticas (lipasa, amilasa, proteasa) durante al menos aproximadamente 8 horas desde su preparación.

30 La preparación de una suspensión de enzimas digestivas comprende las etapas de: a.1) reducir el tamaño de las enzimas digestivas mediante un medio tal como una molienda, una pulverización o una trituración; a.2) añadir una solución acuosa; y a.3) mezclar la solución acuosa y las enzimas digestivas para formar la suspensión, según se define en las reivindicaciones. La suspensión de enzima digestiva obtenida se mantiene durante un corto periodo de tiempo antes de ser añadida a una fórmula nutricional líquida que tiene una cantidad específica de nutrientes.

35 El producto de enzima digestiva usado según la invención puede estar en cualquier forma de dosificación adecuada, incluyendo comprimidos, cápsulas, gránulos o sobrecillos. El producto de enzimas digestivas útil según la invención es preferentemente una enzima lipasa pancreática no gastrorresistente. Un producto no gastrorresistente es un producto que no está destinado a resistir el jugo gástrico. Un producto no gastrorresistente puede no estar recubierto o estar recubierto. Si el producto está recubierto, el recubrimiento se disuelve en el jugo gástrico. El recubrimiento es preferentemente un polímero soluble en agua independiente del pH. El recubrimiento también puede ser un polímero soluble en agua dependiente del pH, pero en este caso está presente en una cantidad tan pequeña y/o si no está presente homogéneamente en el producto, que deja así el producto fácil y directamente expuesto al entorno gástrico, y por lo tanto no se observa una gastrorresistencia.

40 Los términos no recubierto o recubierto identifican la ausencia o la presencia, respectivamente, de una capa polimérica alrededor del producto. Algunos ejemplos de polímeros solubles en agua independientes del pH son: hidroxipropilmetil celulosa, hidroxipropil celulosa, metil celulosa, polivinilpirrolidona o alcohol polivinílico. Algunos ejemplos de polímeros solubles en agua dependientes del pH son: acetato ftalato de celulosa, ftalato de hidroxipropil metil celulosa, acetato succinato de hidroxipropilmetil celulosa, goma laca, copolímeros de metacrilato de metilo y copolímeros del ácido metacrílico / metacrilato de metilo, copolímero del ácido metacrílico - acrilato de etilo (1:1) (tales como Eudragit® L30D55). El producto de la enzima lipasa pancreática para su uso según la invención preferentemente no está recubierto.

55 El producto de enzima digestiva útil para la presente invención puede ser un producto o una forma de dosificación de la enzima lipasa pancreática de liberación inmediata.

60 Algunos ejemplos de dichos productos de enzima lipasa pancreática incluyen Viokace™ (comercializado en Estados Unidos), Viokasa® (comercializado en Canadá), Eurobio® 12.500 unidades de la Ph. Eur. de lipasa (comercializado en Francia) y Cotazym® (comercializado en Canadá).

65 El término "enzima digestiva" usado en el presente documento representa una enzima del tracto alimentario que descompone los componentes de la comida de forma que puedan ser captados o absorbidos por el organismo. Algunos ejemplos no limitantes de enzimas digestivas incluyen las enzimas lipasas pancreáticas (denominadas también enzimas lipasas pancreáticas o pancreatina), lipasa, co-lipasa, tripsina, quimotripsina, quimotripsina B,

pancreatopeptidasa, carboxipeptidasa A, carboxipeptidasa B, glicerol éster hidrolasa, fosfolipasa, esteroles éster hidrolasa, elastasa, cininogenasa, ribonucleasa, desoxirribonucleasa, α -amilasa, papaína, quimopapaína, glutenasa, bromelaína, ficina, β -amilasa, celulosa, β -galactosidasa, lactasa, sucrasa, isomaltasa y mezclas de las mismas.

- 5 Las enzimas digestivas incluyen polvo, gránulos, comprimidos, esferas, minicomprimidos, microcomprimidos, micropartículas, microesferas, microcápsulas, micropellas, así como cualquier partícula que tenga un diámetro de hasta y aproximadamente 5 mm; la partícula puede tener cualquier tamaño o forma.

- 10 El término "enzima pancreática", según se usa en el presente documento, se refiere a uno cualquiera de los tipos de enzimas presentes en la secreción pancreática, tales como amilasa, lipasa, proteasa, o mezclas de las mismas, o cualquier extracto de origen pancreático que tenga actividad enzimática, tal como la pancreatina.

- 15 Los términos "enzimas lipasas pancreáticas" o "enzimas lipasas pancreáticas" o "pancreatina" representan una mezcla de diversos tipos de enzimas, incluyendo las enzimas amilasa, lipasa y proteasa. La enzima lipasa pancreática está disponible en el mercado, por ejemplo, en Nordmark Arzneimittel GmbH o en Scientific Protein Laboratories LLC.

- 20 El término "lipasa" representa una enzima que cataliza la hidrólisis de los lípidos en glicerol y ácidos grasos simples. Algunos ejemplos de lipasas adecuadas para la presente invención incluyen, pero no se limitan a, una lipasa animal (por ejemplo, la lipasa porcina), una lipasa bacteriana (por ejemplo, la lipasa de *Pseudomonas* y/o la lipasa de *Burkholderia*), una lipasa fúngica, una lipasa vegetal, una lipasa recombinante (por ejemplo, producida a través de la tecnología del ADN recombinante mediante una célula hospedadora adecuada, seleccionada entre una cualquiera de células hospedadoras en cultivo de bacterias, de levaduras, de hongos, de plantas, de insectos o de mamíferos, o lipasas recombinantes que incluyen una secuencia de aminoácidos que es homóloga o sustancialmente idéntica a la secuencia natural, las lipasas codificadas por un ácido nucleico que es homólogo o sustancialmente idéntico a un ácido nucleico que codifica la lipasa natural, etc.), una lipasa sintética, una lipasa modificada químicamente y mezclas de las mismas. El término "lípidos" incluye ampliamente moléculas naturales que incluyen grasas, ceras, esteroides, vitaminas liposolubles (tales como las vitaminas A, D, E y K), monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos, fosfolípidos, etc.

- 30 El término "amilasa" se refiere a las enzimas hidrolasas de glicósidos que descomponen el almidón, por ejemplo, α -amilasas, β -amilasas, γ -amilasas, α -glucosidasas ácidas, amilasas salivares tales como la ptialina, etc., algunas amilasas adecuadas para su uso en la presente invención incluyen, pero no se limitan a amilasas animales, amilasas bacterianas, amilasas fúngicas (por ejemplo, la amilasa de *Aspergillus*, por ejemplo, la amilasa de *Aspergillus oryzae*), amilasas vegetales, amilasas recombinantes (por ejemplo, producidas a través de la tecnología del ADN recombinante mediante una célula hospedadora adecuada, seleccionada entre una cualquiera de células hospedadoras en cultivo de bacterias, de levaduras, de hongos, de plantas, de insectos o de mamíferos, o amilasas recombinantes que incluyen una secuencia de aminoácidos que es homóloga o sustancialmente idéntica a la secuencia natural, las amilasas codificadas por un ácido nucleico que es homólogo o sustancialmente idéntico a un ácido nucleico que codifica la amilasa natural, etc.), amilasas modificadas químicamente y mezclas de las mismas.

- 45 El término "proteasa" se refiere de forma general a las enzimas (por ejemplo, proteinasas, peptidasas o enzimas proteolíticas) que descomponen los enlaces peptídicos entre los aminoácidos de las proteínas, las proteasas se identifican generalmente según su tipo catalítico, por ejemplo, peptidasas del ácido aspártico, peptidasas de cisteína (tiol), metalopeptidasas, peptidasas de serina, peptidasas de treonina, proteasas alcalinas o semialcalinas, neutras y peptidasas con un mecanismo catalítico desconocido. Algunos ejemplos no limitantes de proteasas adecuadas para su uso en la presente invención incluyen proteasas de serina, proteasas de treonina, proteasas de cisteína, proteasas del ácido aspártico (por ejemplo, la plasmepsina), metaloproteasas y proteasas del ácido glutámico. Además, algunas proteasas adecuadas para su uso en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, proteasas animales, proteasas bacterianas, proteasas fúngicas (por ejemplo, una proteasa de *Aspergillus melleus*), proteasas vegetales, proteasas recombinantes (por ejemplo, producidas a través de la tecnología del ADN recombinante mediante una célula hospedadora adecuada, seleccionada entre una cualquiera de células hospedadoras en cultivo de bacterias, de levaduras, de hongos, de plantas, de insectos o de mamíferos, o proteasas recombinantes, que incluyen una secuencia de aminoácidos que es homóloga o sustancialmente idéntica a la secuencia natural, las proteasas codificadas por un ácido nucleico que es homólogo o sustancialmente idéntico a un ácido nucleico que codifica la proteasa natural, etc.), proteasas modificadas químicamente y mezclas de las mismas.

- 60 Las enzimas lipasas pancreáticas de la composición de la presente invención pueden incluir una o más lipasas (es decir, una lipasa, o dos o más lipasas), una o más amilasas (es decir, una amilasa, o dos o más amilasas), una o más proteasas (es decir, una proteasa, o dos o más proteasas), así como mezclas de estas enzimas en diferentes combinaciones y proporciones.

- 65 Las actividades de lipasa en las composiciones útiles para la presente invención pueden ser de entre aproximadamente 650 y aproximadamente 45.000 UI (método USP) (o 45.000 unidades USP), de entre aproximadamente 675 y aproximadamente 825 UI, de entre aproximadamente 2.500 y aproximadamente 28.000 UI, de entre aproximadamente 2.700 y aproximadamente 3.300 UI, de entre aproximadamente 4.500 y

aproximadamente 5.500 UI, de entre aproximadamente 8.000 y aproximadamente 11.000 UI, de entre aproximadamente 13.500 y aproximadamente 16.500 UI y de entre aproximadamente 18.000 y aproximadamente 22.000 UI, de entre aproximadamente 22.500 y aproximadamente 27.500 UI, de entre aproximadamente 36.000 y aproximadamente 44.000 UI y todos los intervalos y subintervalos entre los mismos. También, la actividad de lipasa puede variar entre aproximadamente 5.000 unidades de la Ph. Eur. de lipasa y aproximadamente 30.000 unidades de la Ph. Eur. de lipasa, pueden ser de aproximadamente 5.000, o de aproximadamente 10.000, o de aproximadamente 12.500, de aproximadamente 15.000 o de aproximadamente 20.000 o de aproximadamente 30.000, o de aproximadamente 40.000 unidades de la Ph. Eur. de lipasa.

Las actividades de amilasa en las composiciones pueden ser de entre aproximadamente 1.600 y aproximadamente 6.575 UI (USP) (o 6.575 unidades USP), de entre aproximadamente 6.000 y aproximadamente 225.000 UI, por ejemplo, de entre aproximadamente 6.400 y aproximadamente 26.300 UI, de entre aproximadamente 10.700 y aproximadamente 43.800 UI, de entre aproximadamente 21.500 y aproximadamente 87.500 UI, de entre aproximadamente 32.100 y aproximadamente 131.300 UI, de entre aproximadamente 42.900 y aproximadamente 175.000 UI, de entre aproximadamente 53.600 y aproximadamente 218.700 UI y todos los intervalos y subintervalos entre los mismos.

Las actividades de proteasa en las composiciones pueden ser de entre aproximadamente 1.250 y aproximadamente 3.850 UI (USP) (o 3.850 unidades USP), de entre aproximadamente 5.000 y aproximadamente 130.000 UI, por ejemplo, de entre aproximadamente 5.000 y aproximadamente 15.400 UI, de entre aproximadamente 8.400 y aproximadamente 25.700 UI, de entre aproximadamente 16.800 y aproximadamente 51.300 UI, de entre aproximadamente 25.000 y aproximadamente 77.000 UI, de entre aproximadamente 33.500 y aproximadamente 102.800 UI, de entre aproximadamente 41.800 UI y aproximadamente 128.300 UI y todos los intervalos y subintervalos entre los mismos.

La actividad de lipasa puede variar entre aproximadamente 675 y aproximadamente 825 UI (o 825 unidades USP), la actividad de amilasa entre aproximadamente 1.600 y aproximadamente 6.575 UI y la actividad de proteasa entre aproximadamente 1.250 y aproximadamente 3.850 UI (USP). O la actividad de lipasa puede variar entre aproximadamente 2.700 y aproximadamente 3.300 UI, la actividad de amilasa entre aproximadamente 6.400 y aproximadamente 26.300 UI y la actividad de proteasa entre aproximadamente 5.000 y aproximadamente 15.400 UI (USP) (o 15.400 unidades USP). O la actividad de lipasa puede variar entre aproximadamente 4.500 y aproximadamente 5.500 UI, la actividad de amilasa entre aproximadamente 10.700 y aproximadamente 43.800 UI y la actividad de proteasa entre aproximadamente 8.400 y aproximadamente 25.700 UI (USP) (o 25.700 unidades USP). O la actividad de lipasa puede variar entre aproximadamente 9.000 y aproximadamente 11.000 UI, la actividad de amilasa entre aproximadamente 21.500 y aproximadamente 87.500 UI y la actividad de proteasa entre aproximadamente 16.800 y aproximadamente 51.300 UI (USP) (o 51.300 unidades USP). O la actividad de lipasa entre aproximadamente 13.500 y aproximadamente 16.500 UI, la actividad de amilasa entre aproximadamente 32.100 y aproximadamente 131.300 UI y la actividad de proteasa entre aproximadamente 25.000 y aproximadamente 77.000 UI (USP) (o 77.000 unidades USP). La actividad de lipasa puede variar entre aproximadamente 18.000 y aproximadamente 22.000 UI, la actividad de amilasa entre aproximadamente 42.900 y aproximadamente 175.000 UI y la actividad de proteasa entre aproximadamente 33.500 y aproximadamente 102.600 UI (USP) (o 102.500 unidades USP). La actividad de lipasa puede variar entre aproximadamente 22.000 y aproximadamente 27.500 UI, la actividad de amilasa entre aproximadamente 53.600 y aproximadamente 218.700 UI y la actividad de proteasa entre aproximadamente 41.800 UI y aproximadamente 128.300 UI (USP) (o 128.300 unidades USP).

En una realización de la presente invención, también pueden usarse en el presente proceso unidades individuales que contienen una fracción de las actividades de amilasa recogidas anteriormente. En el proceso de la invención se usa una cantidad eficaz de enzimas lipasas pancreáticas para la preparación de la suspensión; dicha cantidad eficaz de enzimas puede ser de un total de aproximadamente 3.000, de aproximadamente 4.200, de aproximadamente 5.000, de aproximadamente 6.000, de aproximadamente 8.000, de aproximadamente 10.000, de aproximadamente 10.440, de aproximadamente 10.500, de aproximadamente 15.000, de aproximadamente 16.000, de aproximadamente 16.800, de 16.800, de aproximadamente 20.000, de aproximadamente 20.880, de aproximadamente 21.000, de aproximadamente 24.000 o de 25.000 unidades de lipasa USP o múltiplos de las mismas, o de aproximadamente 5.000, o de aproximadamente 12.500, o de aproximadamente 30.000 unidades de la Ph. Eur. de lipasa o múltiplos de las mismas.

En la invención, la preparación de la suspensión de enzima digestiva comprende las etapas de: a.1) reducir el tamaño de las enzimas digestivas (preferentemente no gastroresistentes) mediante un medio tal como una molienda, una pulverización o una trituración; a.2) añadir una solución acuosa; y a.3) mezclar para formar la suspensión, según se define en las reivindicaciones. La suspensión obtenida se mantiene durante un corto periodo de tiempo antes de que sea añadida a la fórmula nutricional líquida que tiene una cantidad específica de nutrientes; este periodo de tiempo debería ser mayor de cinco minutos, más preferentemente mayor de 10 minutos; preferentemente está comprendido entre aproximadamente 15 y aproximadamente 30 minutos; preferentemente se mantiene durante aproximadamente 15 minutos.

En la primera etapa a.1) las partículas de las enzimas lipasas pancreáticas se muelen para obtener un polvo fino; no debería producirse ninguna pérdida de dosis durante esta etapa, que puede llevarse a cabo bien con un proceso manual (usando: con mortero de cerámica y su mano; una taza de café y una cuchara metálica) o con un dispositivo de molienda de píldoras. Los dispositivos de molienda pueden ser de tipo tornillo (S), tales como GIMA® (S), Genius® (S), Apex Ultra Pills Crusher® (S). Se prefiere usar el dispositivo de molienda de píldoras debido a la reproductibilidad tanto en términos de tamaño de las partículas como de recuperación de la dosis.

Después, las enzimas lipasas pancreáticas pulverizadas se añaden a un pequeño volumen de un vehículo de administración adecuado, que después de la mezcla, permite la formación de una suspensión homogénea. El vehículo de administración es una solución acuosa, que es 1) agua purificada o desionizada, que es comparable al agua estéril para una administración no parenteral, excepto porque no cumple con los requisitos de esterilidad; 2) agua estéril; 3) solución fisiológica (NaCl al 0,9 %); o 4) agua del grifo. Se prefiere el agua purificada o estéril o la solución fisiológica (o solución salina) debido a que son los diluyentes preferidos para la mayor parte de los productos farmacéuticos.

Para obtener una suspensión homogénea de enzimas digestivas es importante aplicar un pequeño volumen de solución (etapa a.2) con objeto de preparar una suspensión concentrada con una elevada densidad; el volumen es menor de 10 ml. Preferiblemente, las enzimas digestivas deberían estar suspendidas en un pequeño volumen de solución acuosa según la correspondiente dosis. De hecho, para una dosis de aproximadamente 9.190 o de aproximadamente 10.400 unidades USP de lipasa, se aplica preferentemente un volumen de 2,5 ml; para una forma de dosificación que tiene múltiples unidades USP, se aplica el correspondiente múltiplo del volumen. Como un ejemplo, un comprimido de las enzimas lipasas pancreáticas con 10.440 unidades USP de lipasa (tal como Viokace™) se suspende en 2,5 ml (½ cucharilla) de agua purificada; una dosis de enzimas lipasas pancreáticas con 12.500 unidades de la Ph. Eur. de lipasa (tal como Eurobiol®, 12.500 unidades de la Ph. Eur. de lipasa se corresponden con 9.191 unidades USP; el factor de conversión aplicado desde las unidades de la Ph. Eur. de lipasa a las unidades USP de lipasa es: 1 unidad de la Ph. Eur. = 1,36 unidades USP) se suspende en 2,5 ml (½ cucharilla) de agua purificada; una dosis de enzimas lipasas pancreáticas con 20.880 unidades USP de lipasa (tal como Viokace™) se suspende en 5 ml (1 cucharilla) de agua purificada. La estabilidad de las enzimas debería mantenerse, y para conseguir esto debería prepararse una suspensión muy concentrada, el factor de dilución es un aspecto crítico para la estabilidad debido a que está directamente relacionado con la degradación de la actividad enzimática.

Para obtener una suspensión homogénea es importante mezclar y conservar después la mezcla durante un corto periodo de tiempo a la temperatura ambiente antes de que sea añadida a una fórmula nutricional líquida; este periodo de tiempo debería ser mayor de cinco minutos, más preferentemente mayor de 10 minutos; preferentemente está comprendido entre aproximadamente 15 minutos y aproximadamente 30 minutos. Aproximadamente 15 minutos es particularmente adecuado para la preparación de una suspensión exenta de partículas o de fragmentos intactos de un tamaño apreciable, independientemente del tipo de molienda o del tipo de dispositivo de molienda de píldoras elegido. Esta duración del tiempo asegura no sólo la preparación de una suspensión homogénea, sino también el mantenimiento de la actividad de lipasa. De hecho, es importante tener siempre una recuperación completa de la dosis independientemente de la dosis usada de las enzimas lipasas pancreáticas. La suspensión puede agitarse suavemente con una cuchara o una espátula durante unos pocos segundos antes de añadirla a la fórmula nutricional.

La enzima lipasa pancreática pulverizada suspendida en el disolvente acuoso se añade a continuación a la fórmula nutricional líquida que comprende una cantidad específica de nutrientes, que son una mezcla de carbohidratos, lípidos, proteínas y agua, y después se agita durante un periodo de tiempo adecuado, tal como durante aproximadamente 15 segundos, antes de dispensar la composición al paciente desde la bolsa de alimentación a través de un tubo enteral. La adición de la suspensión a la fórmula nutricional se lleva a cabo preferentemente directamente en la bolsa de alimentación (o de dispensación) que ya contiene la fórmula nutricional.

El proceso de la invención permite la conservación de la dosis proporcionada, permitiendo así la completa administración del producto de enzima digestiva; de hecho, no se produce ninguna pérdida de actividad enzimática: tampoco hay ninguna degradación ni eliminación mecánica de las enzimas activas durante la preparación de la composición líquida.

La presente divulgación también se refiere a una composición líquida de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes (Pan + NF) que es una dispersión estable y homogénea de enzimas lipasas pancreáticas en la fórmula nutricional que tiene una cantidad específica de nutrientes. Esta composición líquida permanece estable con respecto a la actividad enzimática (la actividad de lipasa, de proteasa y de amilasa). De hecho, esta mezcla conserva la actividad de lipasa, que se calcula como el porcentaje de la proporción de la actividad de lipasa en la composición en un momento dado (t) con respecto a la actividad de lipasa en la fórmula nutricional en el momento cero, que es la actividad medida inmediatamente después de la adición de las enzimas a la fórmula nutricional. Después de aproximadamente 8 horas, la actividad de lipasa está por encima de aproximadamente el 90 % o de aproximadamente el 100 %, la actividad de proteasa está por encima de aproximadamente el 90 % o de aproximadamente el 100 %, y la actividad de amilasa por encima de aproximadamente el 85 %, o de

aproximadamente el 100 %, a la temperatura ambiente. La recuperación de la actividad enzimática en la composición de enzimas digestivas-nutrientes es la proporción entre la actividad enzimática en un momento dado (t) y la calculada en la mezcla inmediatamente después de la adición, esto es, en el momento cero. Además, para al menos el mismo periodo de tiempo de al menos aproximadamente 8-10 horas, no se observa separación de fases (tal como la separación entre los componentes lipídicos y acuosos, la precipitación de las proteínas) en la composición. Por lo tanto, la composición de la divulgación permite la administración constante y homogénea de una dosis de nutrientes.

Esta composición de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes se usa para el tratamiento nutricional de una función gastrointestinal insuficiente en pacientes pediátricos y adultos, y es adecuada para ser administrada a través de una infusión continua usando una bomba de alimentación y un tubo G sin una notablemente evidente separación de fases durante el periodo de administración.

La fórmula nutricional usada en la presente invención puede ser una fórmula nutricional para adultos/niños o para bebés que comprende una cantidad específica de nutrientes, que son una mezcla de carbohidratos, lípidos, proteínas; componentes poliméricos que pueden estar en una forma hidrolizada. La fórmula nutricional puede comprender adicionalmente otros ingredientes tales como oligoelementos y fibras.

La fórmula útil según la invención es una fórmula nutricional que tiene una cantidad específica de nutrientes. El contenido total de nutriente graso y proteico y de carbohidrato es de entre 10 y 35 g/100 ml; más particularmente de entre aproximadamente 12 y aproximadamente 32. Cuando la fórmula nutricional es una fórmula nutricional para adultos/niños, el contenido total de grasa y proteína y carbohidrato es de entre aproximadamente 20 y aproximadamente 32 g/100 ml; y cuando la fórmula nutricional es una fórmula nutricional para bebés, el contenido total de grasa y proteína y el contenido total de carbohidrato es de entre aproximadamente 12 y aproximadamente 14 g/100 ml.

Otra realización útil según la invención es una fórmula nutricional que tiene un contenido total de nutriente graso y proteico de entre 4,5 y 11,5 g/100 ml; más particularmente de entre aproximadamente 4,9 y aproximadamente 11,3. Cuando la fórmula nutricional es una fórmula nutricional para adultos/niños, el contenido total de grasa y el contenido de proteína es de entre aproximadamente 6,8 y aproximadamente 11,3 g/100 ml; y cuando la fórmula nutricional es una fórmula nutricional para bebés, el contenido total de grasa y el contenido de proteína es de entre aproximadamente 4,9 y aproximadamente 5,3 g/100 ml.

Otra realización útil según la invención es una fórmula nutricional que tiene un contenido total de nutriente graso de entre 3,0 y 7,0 g/100 ml; más particularmente, de entre aproximadamente 3,3 y aproximadamente 6,8. Cuando la fórmula nutricional es una fórmula nutricional para adultos/niños, el contenido total de grasa es de entre aproximadamente 3,8 y aproximadamente 6,8 g/100 ml; y cuando la fórmula nutricional es una fórmula nutricional para bebés, el contenido total de grasa es de entre aproximadamente 3,3 y aproximadamente 3,7 g/100 ml.

Otra realización útil según la invención es una fórmula nutricional que tiene un contenido total de nutriente proteico de entre 1,3 y 6,3 g/100 ml; más particularmente, de entre aproximadamente 1,4 y aproximadamente 6,2. Cuando la fórmula nutricional es una fórmula nutricional para adultos/niños, el contenido total de proteína es de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 6,2 g/100 ml; y cuando la fórmula nutricional es una fórmula nutricional para bebés, el contenido total de proteína es de entre aproximadamente 1,4 y aproximadamente 1,6 g/100 ml.

Las fórmulas enterales líquidas usadas habitualmente incluyen fórmulas poliméricas u otras especializadas. Las fórmulas poliméricas que incluyen fórmulas comerciales basadas en leche o exentas de lactosa están disponibles en el mercado y generalmente proporcionan una dieta completa y equilibrada. Algunas fórmulas especializadas incluyen proteína hidrolizada o en ocasiones fórmulas de aminoácidos, que se usan para pacientes que tienen dificultades en la digestión de proteínas complejas.

Algunas fórmulas enterales líquidas comerciales para adultos/niños adecuadas para la presente invención se usan como tales, pero no se limitan a, Peptamen® Junior 1, Peptamen® Junior 1.5, Ensure® Plus, Fortimel® y también pueden usarse otros productos similares. Unos ejemplos de fórmulas para bebés comerciales son Humana® 1, Neolatte® 1 y Neolatte® 2.

El producto de enzima digestiva usado en la presente invención es una cantidad terapéuticamente eficaz. Las enzimas lipasas pancreáticas deberían ser dosificadas en la fórmula nutricional líquida; la dosis puede ser adaptada para los pacientes individuales basándose en la edad, los síntomas clínicos. En el proceso según la invención se recomienda una dosis aproximadamente de entre aproximadamente 1.000 y aproximadamente 5.000, preferentemente de entre aproximadamente 1.000 y aproximadamente 4.500 unidades USP de lipasa por g de grasa en la fórmula nutricional como dosis de partida cuando se mezcla con una fórmula nutricional líquida.

Durante la infusión se produce una modificación de los nutrientes debida a la actividad enzimática de las enzimas lipasas pancreáticas sobre los lípidos, las proteínas, los carbohidratos, y se forman nutrientes digeridos; esto asegura que se produce la digestión. A pesar de este cambio en los tipos y en las proporciones de los nutrientes y

de los productos digeridos, la composición de la invención sigue siendo homogénea y estable durante 8-10 horas.

Una realización particular de la invención es un proceso para la preparación de una composición líquida estable y homogénea que es adecuada para su administración enteral que comprende un producto no gastrorresistente de la enzima lipasa pancreática y los nutrientes de una fórmula nutricional, comprendiendo dicho proceso las siguientes etapas: a) preparar una suspensión de enzimas lipasas pancreáticas en una solución acuosa que comprende la etapa de: a.1) reducir el tamaño del producto de enzima digestiva, a.2) añadir una solución acuosa en una cantidad de aproximadamente 2,5 ml para un producto de enzima digestiva que tiene aproximadamente 10.400 unidades USP de lipasa, o añadir una correspondiente cantidad múltiplo de solución para un producto que tiene múltiples unidades USP de lipasa; a.3) mezclar para formar la suspensión; y a.4) mantenerla durante un periodo de tiempo mayor de aproximadamente 5 minutos (preferentemente de entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 30 minutos; preferentemente de aproximadamente 15 minutos); y b) mezclar la suspensión con una fórmula nutricional líquida para formar la composición líquida estable y homogénea; en la que la fórmula nutricional tiene un contenido total de grasa y en proteína y un contenido total de carbohidrato de entre 10 y 35 g/100 ml, incluso más preferentemente de entre aproximadamente 20 y aproximadamente 32 g/100 ml; y en la que dicha composición permanece estable (no se produce separación de fases) durante al menos ocho horas desde su preparación, y las enzimas tienen una actividad de lipasa por encima de aproximadamente el 90 % después de aproximadamente 8 horas de almacenamiento aproximadamente a la temperatura ambiente, calculado como el porcentaje de las unidades de actividad de lipasa añadidas a la fórmula nutricional líquida.

Otra realización en particular de la invención es un proceso para la preparación de una composición líquida estable y homogénea que es adecuada para su administración enteral que comprende un producto no gastrorresistente de la enzima lipasa pancreática y nutrientes de una fórmula nutricional, comprendiendo dicho proceso las siguientes etapas: a) preparar una suspensión de enzimas lipasas pancreáticas en una solución acuosa que comprende la etapa de: a.1) reducir el tamaño del producto de enzima digestiva; a.2) añadir una solución acuosa en una cantidad de aproximadamente 2,5 ml para un producto de enzima digestiva que tiene aproximadamente 10.400 unidades USP de lipasa, o añadir un correspondiente múltiplo de una cantidad de una solución de un producto que tiene múltiples unidades USP de lipasa; a.3) mezclar para formar la suspensión; y a.4) mantenerla durante un periodo de tiempo mayor de aproximadamente 5 minutos (preferentemente de entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 30 minutos; preferentemente de aproximadamente 15 minutos); y b) mezclar la suspensión con una fórmula nutricional líquida para formar la composición líquida estable y homogénea; en la que la fórmula nutricional tiene un contenido total de nutriente graso y proteico de entre 4,5 y 11,5 g/100 ml, incluso más preferentemente de entre aproximadamente 6,8 y aproximadamente 11,3 g/100 ml; y en la que dicha composición líquida permanece estable (no se produce separación de fases) durante al menos ocho horas desde su preparación y las enzimas tienen una actividad de lipasa por encima de aproximadamente el 90 % después de aproximadamente 8 horas de almacenamiento aproximadamente a la temperatura ambiente, calculado como el porcentaje de las unidades de actividad de lipasa añadidas a la fórmula nutricional líquida.

Otra realización en particular de la invención es un proceso para la preparación de una composición líquida estable y homogénea que es adecuada para su administración enteral que comprende un producto no gastrorresistente de la enzima lipasa pancreática y nutrientes de una fórmula nutricional, comprendiendo dicho proceso las siguientes etapas: a) preparar una suspensión de enzimas lipasas pancreáticas en una solución acuosa que comprende la etapa de: a.1) reducir el tamaño del producto de enzima digestiva; a.2) añadir una solución acuosa en una cantidad de aproximadamente 2,5 ml para un producto de enzima digestiva que tiene aproximadamente 10.400 unidades USP de lipasa, o añadir un correspondiente múltiplo de una cantidad de una solución de un producto que tiene múltiples unidades USP de lipasa; a.3) mezclar para formar la suspensión; y a.4) mantenerla durante un periodo de tiempo mayor de 5 minutos (preferentemente de entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 30 minutos; preferentemente de aproximadamente 15 minutos); y b) mezclar la suspensión con una fórmula nutricional líquida para formar la composición líquida estable y homogénea; en la que la fórmula nutricional tiene un contenido total de nutriente graso de entre 3,0 y 7,0 g/100 ml, incluso más preferentemente de entre aproximadamente 3,8 y aproximadamente 6,8 g/100 ml; y en la que dicha composición líquida permanece estable (no se produce separación de fases) durante al menos ocho horas desde su preparación y las enzimas tienen una actividad de lipasa por encima de aproximadamente el 90 % después de aproximadamente 8 horas de almacenamiento aproximadamente a la temperatura ambiente, calculado como el porcentaje de las unidades de actividad de lipasa añadidas a la fórmula nutricional líquida.

Otra realización en particular de la invención es un proceso para la preparación de una composición líquida estable y homogénea que es adecuada para su administración enteral que comprende un producto no gastrorresistente de la enzima lipasa pancreática y nutrientes de una fórmula nutricional, comprendiendo dicho proceso las siguientes etapas: a) preparar una suspensión de enzimas lipasas pancreáticas en una solución acuosa que comprende la etapa de: a.1) reducir el tamaño del producto de enzima digestiva; a.2) añadir una solución acuosa en una cantidad de aproximadamente 2,5 ml para un producto de enzima digestiva que tiene aproximadamente 10.400 unidades USP de lipasa, o añadir un correspondiente múltiplo de una cantidad de una solución de un producto que tiene múltiples unidades USP de lipasa; a.3) mezclar para formar la suspensión; y a.4) mantenerla durante un periodo de tiempo mayor de 5 minutos (preferentemente de entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 30 minutos; preferentemente de aproximadamente 15 minutos); y b) mezclar la suspensión con una fórmula nutricional líquida

para formar la composición líquida estable y homogénea; en la que la fórmula nutricional tiene un contenido total de nutriente proteico de entre 1,3 y 6,3 g/100 ml, incluso más preferentemente de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 6,2 g/100 ml; y en la que dicha composición líquida permanece estable (no se produce separación de fases) durante al menos ocho horas desde su preparación y las enzimas tienen una actividad de lipasa por encima de aproximadamente el 90 % después de aproximadamente 8 horas de almacenamiento aproximadamente a la temperatura ambiente, calculado como el porcentaje de las unidades de actividad de lipasa añadidas a la fórmula nutricional líquida.

La composición de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes es adecuada para su administración a bebés, a niños, a adultos, a pacientes ancianos o a otros pacientes que padecen IPE, lo que permite que la medicación sea dispensada cuidadosamente y con una dosis controlada.

La presente divulgación también incluye un método de administración a pacientes pediátricos o adultos de la composición de las enzimas digestivas (enzimas lipasas pancreáticas) y nutrientes de la presente divulgación. Comprende las siguientes etapas: a) reducir el tamaño de las enzimas digestivas mediante un medio tal como una molienda, una pulverización o una trituración; b) añadir un pequeño volumen de una solución acuosa; c) mezclar para formar la suspensión y mantenerla durante más de 5 minutos; d) mezclar la suspensión con una fórmula nutricional líquida que tiene una cantidad específica de nutrientes para formar la composición de enzima digestiva - nutrientes tanto en la bolsa de alimentación como en otro recipiente; e) dispensar la composición desde la bolsa de alimentación al paciente a través de un tubo enteral; la composición de enzimas y nutrientes puede agitarse suavemente antes de su dispensación.

La presente divulgación describe un procedimiento fiable adecuado para la administración de una composición líquida de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes a través de tubos de gastrostomía o de tubos nasogástricos y para asegurar un suministro coherente de la dosis a través de la luz del tubo sin taponamientos, adherencias y conservando la permeabilidad del tubo. La administración se lleva a cabo a través de diferentes tubos enterales que se eligen según los pacientes, desde pacientes recién nacidos, hasta pediátricos, hasta adultos. Las exitosas pruebas de los tamaños de diámetro mostradas en el presente documento indican que el uso de cualquier tubo con un diámetro mayor del mismo tipo y fabricante es aceptable cuando se usa el procedimiento de administración descrito.

A partir de la anterior descripción y de la parte experimental, puede observarse que la presente invención proporciona numerosas ventajas importantes. La invención proporciona un proceso simple y rápido para la preparación de una mezcla de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes a partir de una fórmula nutricional específica; permanece homogénea durante al menos aproximadamente ocho horas; la actividad de lipasa se mantiene después de la adición de las enzimas lipasas pancreáticas suspendidas en la fórmula nutricional líquida; la lipasa permanece estable en la composición durante más de aproximadamente ocho horas y efectivamente se consigue la lipólisis.

EXPERIMENTAL

MATERIALES

- enzimas lipasas pancreáticas: patrón de referencia de enzimas lipasas pancreáticas USP lote 8 (ensayo de actividad de amilasa: 344 unidades USP/mg, ensayo de actividad de proteasa 358 unidades USP/mg), patrón de referencia de enzimas lipasas pancreáticas USP lote 3 (ensayo de actividad de lipasa: 93,3 unidades USP/mg).

- producto de enzima lipasa pancreática: Viokace™ (10.440 o 20.880 unidades USP de lipasa) producto comercializado en Estados Unidos; excipientes: croscarmelosa de sodio, dióxido de silicio coloidal, celulosa microcristalina, ácido esteárico, talco; Viokasa® (8.000 o 16.000 unidades USP de lipasa) producto comercializado en Canadá; excipientes: croscarmelosa de sodio, dióxido de silicio coloidal, celulosa microcristalina, ácido esteárico, talco; Eurobiol® 12.500 unidades de la Ph. Eur. de lipasa/dosis (20 gr) comercializado por Mayoly Spindler; excipientes: celulosa microcristalina, crospovidona, sílice anhidra coloidal, estearato de magnesio, recubrimiento: copolímero del ácido metacrílico – acrilato de etilo (1:1), citrato de trietilo, talco, emulsión de simeticona.

- fórmula enteral: Peptamen® Junior 1 Cal (Nestlé, envase de 250 ml, aroma artificial de vainilla), Peptamen® Junior 1.5 Cal (Nestlé, envase de 250 ml, sin aroma), Ensure® Plus (Abbott Italia envase de 200 ml, aroma artificial de fresa), Nutren® 2.0 (Nestlé, envase de 250 ml), TwoCal® HN (Abbott Nutrition, envase de 237 ml) y Fortimel® (Nutricia, envase de 200 ml).

- fórmula para bebés: Neolatte® (Unifarm, la fórmula es reconstituida según describe el fabricante), Neolatte® 2 (Unifarm, la fórmula es reconstituida según describe el fabricante), Humana® 1 (Unifarm, envase de 470 ml), y Nutramigen™ DHA & ARA (Enfamillo, envase de 946 ml).

El contenido de nutrientes (grasa + proteína + carbohidrato) de las fórmulas enterales y para bebés se muestra en la

Tabla 1.

Tabla 1

| Fórmula nutricional | Densidad calórica (cal/ml) | Contenido de grasa g/100 ml | Contenido de proteína g/100 ml | Contenido total de carbohidrato g/100 ml | Contenido total de grasa + proteína + carbohidrato g/100 ml |
|-----------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|---|--|
| FE1 Peptamen Jr® | 1 | 3,8 | 3,0 | 13,6 | 20,4 |
| FE2 Peptamen® Jr® 1.5 | 1,5 | 6,8 | 4,5 | 18,0 | 29,3 |
| FE3 Ensure® Plus | 1,5 | 4,9 | 6,2 | 20,2 | 31,3 |
| FE4 Nutren® 2.0 | 2 | 10,4 | 19,6 | 8 | 38 |
| FE5 Two Cal® HN | 2 | 9,0 | 8,4 | 21,8 | 39,2 |
| IF1 Neolatte® 1 | 0,68 | 3,7 | 1,4 | 7,7 | 12,8 |
| IF2 Neolatte® 2 | 0,68 | 3,3 | 1,6 | 8,2 | 13,1 |
| IF3 Humana® 1 | 0,68 | 3,7 | 1,6 | 6,9 | 12,2 |
| IF4 Nutramigen® | 0,68 | 2,1 | 1,1 | 4,1 | 7,3 |

5 MÉTODOS

Actividad lipolítica

La medición se lleva a cabo con un método basado en el procedimiento de ensayo farmacopeico de lipasa descrito en la monografía de la USP de las enzimas lipasas pancreáticas, que se basa en la valoración, por medio de un método del pH-stato, de los ácidos grasos libres formados a partir de la hidrólisis de los ácidos grasos esterificados en el sustrato usado (aceite de oliva). Se basa en el siguiente principio: la lipasa cataliza la hidrólisis de los triglicéridos que da lugar a la formación de ácidos grasos libres (AGL). La valoración de los AGL formados según el tiempo permite la determinación de la actividad enzimática de lipasa, que puede expresarse en unidades: 1 U = 1 µmol de AGL formado por minuto. La reacción se produce manteniendo un valor estacionario del pH a través de un sistema experimental que experimental permite la adición de NaOH (valorante) cuando el valor del pH cambia en comparación con un valor fijo (método del pH-stato). La cantidad de valorante añadido según el tiempo se corresponde con la cantidad de AGL formados por la acción de la lipasa sobre los triglicéridos. La pendiente de la curva {valorante añadido = f (volumen (mF)/tiempo (minutos))} proporciona la actividad enzimática de lipasa.

Las mediciones de la actividad proteolítica y amilolítica se llevan a cabo según el procedimiento farmacopeico descrito en la monografía de la USP de las enzimas lipasas pancreáticas.

Los *triglicéridos* se extraen con hexano:isopropanol (3:2) usando palmitato de colesterilo como patrón interno y se analizan mediante una HPLC; los picos son identificados mediante la comparación de todos los tiempos de retención con una solución patrón de trioleína.

Los *ácidos grasos* se extraen con hexano:isopropanol (3:2) usando alcohol estearílico como patrón interno y se analizan mediante una HPLC; los picos son identificados mediante la comparación de los tiempos de retención con los patrones de ácidos grasos, es decir, ácido linoleico, ácido palmítico, ácido oleico y ácido esteárico.

Análisis de las proteínas 1) el contenido total de proteína se cuantifica con un ensayo de Bradford; 2) el triptófano se analiza mediante una HPLC usando 5-metil triptófano como patrón interno.

Análisis de los carbohidratos 1) los azúcares de cadena corta se analizan mediante una HPLC usando xilitol como patrón interno; los picos son identificados mediante la comparación de todos los tiempos de retención con los patrones de azúcares, es decir, sacarosa, maltosa y glucosa. 2) las maltodextrinas se extraen en presencia de Carrez I y Carrez II y se analizan mediante una HPLC; los picos son identificados mediante la comparación de todos los tiempos de retención con los patrones de maltodextrinas, es decir, maltosa monohidratada, maltotriosa, maltotetrosa, maltopentosa, maltohexosa y maltoheptosa.

INSTRUMENTOS

El equipo convencional para la administración de la infusión (el mismo que el usado en el entorno clínico, o en casa, simula el procedimiento de alimentación habitual) comprende: la bolsa de alimentación (Kangaroo Joey™ Enteral Feeding Pump Sets), la bomba (Kangaroo™ ePump Enteral Feeding Pump) y el tubo G (Kimberly Clark MIC-KEY, longitud del estoma: 4,0 cm, diámetro externo: 12 Fr (12 Fr = 0,33 mm). Para la velocidad de infusión de alimentación de 10 ml/h, se establecen los siguientes parámetros: caudal: 10 ml/h, enjuagar con 30 ml de agua cada

4 cuatro horas. Para la velocidad de infusión de alimentación de 125 ml/h, se establecen los siguientes parámetros: caudal: 125 ml/h, enjuagar con 30 ml de agua cada 4 cuatro horas.

- 5 Molienda de las píldoras: a) proceso manual, usando: un mortero de cerámica y la mano; una taza de café y una cuchara metálica; b) dispositivo para moler píldoras, de tipo tornillo (S): GIMA (S), Genius (S), Apex Ultra Pills Crusher® (S).

Ejemplos

- 10 **Ejemplo 1.** Suspensión de un comprimido de enzimas lipasas pancreáticas en vehículos de administración

15 La prueba de solubilización directa de las enzimas lipasas pancreáticas (comprimido de Viokasa® con 8.000 y 16.000 unidades USP de lipasa) en una solución fisiológica, y la fórmula enteral FE3 (Ensure® Plus) y FE6 (Fortimel®) se lleva a cabo mediante: 1) mezclar en el vaso de precipitados (que simula una taza) con una espátula (que simula la cuchara de casa) o 2) agitar manualmente en una botella (para simular el envasado original de la fórmula enteral). En un pequeño volumen fijo de vehículo de administración, los comprimidos (véanse las correspondientes dosis en la Tabla 2) se agitan manualmente durante 2 minutos y se mantienen a la temperatura ambiente. El aspecto de los comprimidos se comprueba visualmente (véase la Tabla 2). El comprimido de la enzima lipasa pancreática proporciona, después de 30 minutos, una suspensión turbia cuando se usa una solución fisiológica, mientras que el comprimido permanece intacto en las fórmulas enterales FE3 y FE6; se necesitan 6 horas para obtener una suspensión de la FE3. Tanto la solución acuosa como las fórmulas enterales no son adecuadas ya que no permiten una rápida disgregación y solubilización directa de las enzimas lipasas pancreáticas; se observa una precipitación y una separación de fases; no puede prepararse una composición estable y homogénea.

25

Tabla 2

| Prueba | Vehículo de administración | Dosis (unidades USP/comp) | Vol. (ml) | Recipiente | Tiempo (min) | Aspecto visual de la mezcla |
|--------|----------------------------|---------------------------|-----------|----------------------|--------------|-----------------------------|
| 1 | FE3 | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 5 | Comprimido sin modificar |
| 2 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 5 | Comprimido sin modificar |
| 3 | FE6 | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 10 | Comprimido sin modificar |
| 4 | FE3 | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 20 | Comprimido sin modificar |
| 5 | FE6 | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 20 | Comprimido sin modificar |
| 6 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 20 | Suspensión turbia |
| 7 | FE3 | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 30 | Comprimido sin modificar |
| 8 | FE6 | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 30 | Comprimido sin modificar |
| 9 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 30 | Suspensión turbia |
| 10 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Frasco | 5 | Retracción del comprimido |
| 11 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Frasco | 10 | Retracción del comprimido |
| 12 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Frasco | 20 | Retracción del comprimido |
| 13 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Frasco | 30 | Retracción del comprimido |
| 14 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 10 | Retracción del comprimido |
| 15 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 20 | Retracción del comprimido |
| 16 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 30 | Suspensión |
| 17 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Frasco | 10 | Retracción del comprimido |
| 18 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Frasco | 20 | Retracción del comprimido |
| 19 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Frasco | 30 | Retracción del comprimido |
| 20 | FE3 | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 60 | Retracción del comprimido |
| 21 | FE3 | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 360 | Suspensión |
| 22 | Solución fisiológica | 16.000 | 50 | Vaso de precipitados | 30 | Suspensión |
| 23 | FE3 | 8.000 x 2 | 50 | Vaso de precipitados | 30 | Retracción del comprimido |
| 24 | Solución fisiológica | 8.000 x 2 | 50 | Vaso de precipitados | 30 | Retracción del comprimido |
| 25 | FE3 | 8.000 x 3 | 200 | Vaso de precipitados | 30 | Retracción del comprimido |
| 26 | FE3 | 16.000/2 | 50 | Vaso de precipitados | 30 | Retracción del comprimido |

Ejemplo 2. Molienda del comprimido

El comprimido de las enzimas lipasas pancreáticas (Viokace™) es pulverizado usando diferentes dispositivos de molienda para evaluar la reproducibilidad de la pulverización del comprimido, la recuperación de la dosis (sin pérdida), el aspecto visual y el tamaño de las mayores partículas identificadas. Diferentes dispositivos de molienda de píldoras proporcionan un polvo homogéneo con partículas de diferentes tamaños. Se realizan las siguientes pruebas: dispositivo de molienda de píldoras Genius: aproximadamente 2.000 micrones; dispositivo de molienda de píldoras Apex: aproximadamente 4.000 micrones; dispositivo de molienda de píldoras Gima: aproximadamente 5.000 micrones; mortero de cerámica y su mano: 200-500 micrones; la taza de café y la cuchara metálica proporcionan un polvo irregular con partículas groseras de aproximadamente 3.000 micrones. Los dispositivos de molienda de píldoras Genius, Apex y Gima pills proporcionan unos rendimientos reproducibles y una fácil recuperación completa de la dosis, dado que son un sistema cerrado. La taza de café y la cucharada metálica no proporcionan un polvo reproducible y puede producirse un procedimiento directo y una pérdida de dosis durante la ejecución del procedimiento de molienda, debido a los fragmentos de comprimido vertidos fuera de la taza. El mortero de cerámica y su mano proporcionan buenos resultados en términos del tamaño de partícula del comprimido de enzima lipasa pancreática pulverizada, pero se observa una elevada influencia del factor humano.

Ejemplo 3. Preparación de la suspensión de enzimas lipasas pancreáticas: vehículo de administración

Se preparan tres suspensiones, cada una con 3 comprimidos pulverizados de un comprimido de enzimas lipasas pancreáticas con 20.880 unidades USP de lipasa (Viokace™) en 10 ml de los siguientes medios: 1) agua purificada (desionizada); 2) solución fisiológica (NaCl al 0,9 %); 3) agua del grifo. Todos los medios probados suspendieron apropiadamente los comprimidos de las enzimas lipasas pancreáticas pulverizadas para generar una suspensión homogénea de las partículas.

Ejemplo 4. Preparación de la suspensión de enzimas lipasas pancreáticas: optimización de la administración

Se muelen 3 comprimidos de enzimas lipasas pancreáticas con 16.000 unidades USP de lipasa (Viokase®) con el dispositivo de molienda apropiado (véase el Ejemplo 2) y se suspenden en el volumen indicado en la tabla 3 de un medio acuoso apropiado (descrito en el Ejemplo 3 antes de la administración a través del tubo NG y del tubo G; en el peor de los casos, se usa el tubo G más problemático en términos de diámetro interno y longitud que tiene 12 Fr como diámetro externo (es decir, Mic Kimberly Clark Bolus). A partir de los resultados (notificados en la Tabla 3) resulta que, mediante la aplicación de un tiempo de suspensión de al menos 15 minutos, los diferentes tipos de dispositivos de molienda de píldoras no tienen ningún impacto sobre la administrabilidad del comprimido de enzimas lipasas pancreáticas pulverizadas suspendidas: no se observa ningún taponamiento.

Este procedimiento permite el mantenimiento de la actividad de lipasa: la actividad antes del paso del tubo G es de 19,7 U USP/mg, y la actividad después del paso del tubo G es de 19,8 U USP/mg; por lo tanto, se asegura una completa recuperación de la dosis.

El procedimiento también es adecuado con una amplia variedad de dosis administradas (desde 1 comprimido de enzimas lipasas pancreáticas con 8.000 hasta 3 comprimidos de enzimas lipasas pancreáticas con 16.000 unidades USP de lipasa). Cada comprimido de 8.000 U USP de lipasa se suspende en 2,5 ml (media cucharilla) de agua purificada y se mantiene durante al menos 15 minutos, se añade una cantidad adicional de agua hasta el volumen notificado en la Tabla 4. Resulta que la suspensión preparada es viable para una administración NG (Mic-Key) con tubos G y tubos NG con un tamaño muy pequeño, que tiene tubos de 5 Fr (tal como CORPARK) o de 8 Fr (tal como el del fabricante Tyco-Healthcare). Véase la Tabla 4.

Tabla 3

| # | Volumen (ml) | Herramienta de molienda | Tiempo de suspensión (min) | Agua | Inspección visual |
|---|--------------|-------------------------|----------------------------|-----------------|-------------------|
| 1 | 10 | Genius | 0,5 | Desionizada | Ok |
| 2 | 10 | Apex | 0,5 | Desionizada | Taponamiento |
| 3 | 10 | Gima | 5 | Desionizada | Taponamiento |
| 4 | 10 | Mortero y su mano | 5 | Desionizada | Ok |
| 5 | 10 | Mortero y su mano | 5 | Agua de grifo | Ok |
| 6 | 10 | Mortero y su mano | 5 | Solución salina | Ok |
| 7 | 10 | Apex | 30 | Desionizada | Ok |
| 8 | 10 | Gima | 30 | Desionizada | Ok |
| 9 | 10 | Apex | 15 | Desionizada | Ok |

| | | | | | |
|----|----|-------------------|----|-------------|----|
| 10 | 20 | Mortero y su mano | 30 | Desionizada | Ok |
| 11 | 20 | Apex | 15 | Desionizada | Ok |
| 12 | 20 | Mortero y su mano | 15 | Desionizada | Ok |

Tabla 4

| # | Tubo G | Tubo NG | Longitud del estoma (cm) | Diámetro externo (Fr) | Dosis | Nº de comprimidos | Vol. (ml) | Herramienta de molienda | Inspección visual |
|----------|---------------------|-----------------|--------------------------|-----------------------|--------|-------------------|-----------|-------------------------|-------------------|
| 1 | Mic-Key | | 0,8 | 12 | 16.000 | 3 | 20 | Apex | Ok |
| 2 | Mic-Key + Securelok | | 0,8 | 12 | 16.000 | 3 | 20 | Apex | Ok |
| 3 | | Tyco-Healthcare | | 8 | 16.000 | 3 | 20 | Silent Knight | Ok |
| 5 | | Tyco-Healthcare | | 8 | 8.000 | 4 | 20 | Apex | Ok |
| 6 | | Tyco-Healthcare | 107 | 8 | 8.000 | 4 | 10 | Apex | Ok |
| 7 | | Corpak | 56 | 5 | 8.000 | 4 | 10 | Apex | Ok |
| 8 | | Corpak | 56 | 5 | 8.000 | | 2,5 | Apex | Ok |
| 9 | | Corpak | 56 | 5 | 8.000 | | 5 | Apex | Ok |
| 10 | | Corpak | 56 | 5 | 16.000 | 1 | 5 | Apex | Ok |
| 11 | Mic-Key + Securelok | | 4 | 12 | 8.000 | 1 | 2,5 | Apex | Ok |
| 12 | Mic-Key + Securelok | | 4 | 12 | 16.000 | 1 | 5 | Apex | Ok |
| 13 | Mic-Key + Securelok | | 4 | 12 | 8.000 | 2 | 5 | Apex | Ok |
| 14 | Mic | | | 12 | 8.000 | 1 | 2,5 | Apex | Ok |
| 15 | Mic | | | 12 | 16.000 | 1 | 2,5 | Apex | Ok |
| 16 | Mic | | | 12 | 8.000 | 2 | 5 | Apex | Ok |
| 17 10 | | Corpak | 56 | 5 | 16.000 | 2 | 10 | Apex | Ok |
| 18 | Mic-Key + Securelok | | 4 | 12 | 16.000 | 2 | 10 | Apex | Ok |
| 19 | Mic | | | 12 | 16.000 | 2 | 10 | Apex | Ok |
| 20 | | Corpak | 56 | 5 | 16.000 | 3 | 15 | Apex | Ok |
| 21 | Mic-Key + Securelok | | 4 | 12 | 16.000 | 3 | 15 | Apex | Ok |
| 22 | | Corpak | 56 | 5 | 8.000 | 1 | 2,5 | Apex | Ok |

- 5 **Ejemplo 5.** Composición de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes (Pan + FE) para infusión (administración continua) – metodología de adición directa

El comprimido con 20.880 unidades USP de lipasa (Viokace™) se pulveriza usando un dispositivo de molienda de píldoras apropiado (según se muestra en el Ejemplo 2) y se añade directamente a la bolsa de alimentación que contiene la fórmula enteral Ensure® Plus. Se prepara una composición similar de Pan - FE con una fórmula enteral diferente: Peptamen Junior® 1.5. La metodología es muy simple de aplicar, independientemente del operario, y los comprimidos pulverizados se transfieren con facilidad a la bolsa de alimentación. Con esta metodología los fragmentos de las píldoras no se dispersan rápidamente y permanecieron en el fondo de la bolsa de alimentación; este sistema heterogéneo puede producir graves problemas en términos de seguridad (administración irregular de la dosis), una administración incompleta de la dosis y una administración no homogénea de los nutrientes digeridos.

- 15 **Ejemplo 6.** Composición de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes (Pan + FE) para infusión - metodología de adición en pre-suspensión

20 Con esta metodología, los comprimidos de enzimas lipasas pancreáticas (2 para la FE1, 4 para la FE2 y para la FE3) con 10.440 U USP de lipasa (Viokace™) se muelen con un dispositivo de molienda de píldoras, después se pre-suspenden en agua desionizada, se mantienen durante 15 minutos y después se añaden a un envase de una fórmula enteral en la bolsa de alimentación, se agita durante 15 segundos. Se prueban diferentes fórmulas

enterales: la FE3 (Ensure® Plus), la FE1 (Peptamen Junior®) y la FE2 (Peptamen Junior® 1.5). Esta metodología proporciona una dispersión homogénea de las enzimas lipasas pancreáticas en la fórmula enteral y por lo tanto, la composición preparada permite una administración constante de la dosis y homogénea de los nutrientes. Esta suspensión acuosa de enzimas lipasas pancreáticas está contenida en una bolsa para infusión, y se lleva a cabo la administración. La inspección visual de la mezcla de la bolsa se realiza de forma regular (cada hora) y no se observa separación de fases, se obtienen fotografías. Por lo tanto, es evidente que esta composición es adecuada para ser administrada a través de una infusión continua usando una bomba de alimentación y un tubo G hasta al menos 8 horas sin una notablemente evidente separación de fases.

10 **Ejemplo 7.** Composición de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes (Pan + FE) para infusión - metodología de adición en pre-suspensión

Las enzimas lipasas pancreáticas pulverizadas se preparan con un dispositivo de molienda de píldoras partiendo de dos dosis de 12.500 unidades de la Ph. Eu. de lipasa (Eurobiol®) y después se pre-suspenden en agua desionizada (5,0 ml), se mantienen durante 15 minutos y después se añaden a un envase que la fórmula enteral vertido previamente en la bolsa de alimentación, se agita durante 15 segundos. Se prueban diferentes fórmulas enterales: la FE3, la FE1 (Peptamen Junior®) y la FE2 (Peptamen Junior® 1.5). Esta metodología proporciona una dispersión homogénea de las enzimas lipasas pancreáticas en la fórmula enteral y por lo tanto, permite una administración constante de la dosis y homogénea de los nutrientes. Esta composición de pan-FE es adecuada para ser administrada a través de una infusión continua usando una bomba de alimentación y un tubo G hasta 8-10 horas sin una notablemente evidente separación de fases. La inspección visual de la mezcla de la bolsa se realiza de forma regular (cada hora) y no se observa separación de fases, se obtienen fotografías.

25 **Ejemplo 8.** Composición de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes (Pan + FE) para infusión - metodología de adición en pre-suspensión

Se aplica la misma metodología y las mismas condiciones que en el Ejemplo 6 previo para preparar una suspensión partiendo de 4 comprimidos pulverizados de 10.440 unidades USP de lipasa, se mantienen durante 15 minutos y después se añaden a un envase de la fórmula enteral en el envase original, se agita durante 15 segundos y después se transfiere a la bolsa de alimentación. Se prueban las siguientes fórmulas para bebés: la FE4 (Nutren® 2.0) y la FE5 (TwoCal® HN): se observa una evidente separación de fases. Esta separación no se observa en la muestra de blanco (sin la adición de las enzimas lipasas pancreáticas) que también se prueba para una administración continua: se observa una estabilidad física de hasta 16 horas. La inspección visual de la mezcla de la bolsa se realiza de forma regular (cada hora) y no se observa separación de fases, se obtienen fotografías.

35 **Ejemplo 9.** Composición de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes (Pan + FE) para infusión - metodología de adición en pre-suspensión

Se aplica la misma metodología y las mismas condiciones que en el Ejemplo 8 previo mediante la preparación de una pre-suspensión de enzimas lipasas pancreáticas pulverizadas en una cantidad de dos dosis de 12.500 unidades de la Ph. Eur. de lipasa (Eurobiol®) en agua purificada (10 ml), se mantienen durante 15 minutos, después se añaden a un envase de las siguientes fórmulas enterales vertido previamente en una bolsa de alimentación, se agita durante 15 segundos: la FE4 (Nutren® 2.0) y la FE5 (TwoCal® HN). Se observa una evidente separación de fases. Esta separación no se observa en la muestra de blanco (sin la adición del comprimido de enzimas lipasas pancreáticas) que también se prueba para una administración continua: se observa una estabilidad física de hasta 16 horas. La inspección visual de la mezcla de la bolsa se realiza de forma regular (cada hora) y no se observa separación de fases, se obtienen fotografías.

50 **Ejemplo 10.** Composición de enzimas lipasas pancreáticas y fórmula para bebés (Pan + IF) para infusión - metodología de adición en pre-suspensión

Se aplica la misma metodología y las mismas condiciones que en el Ejemplo 6 previo mediante la adición de 2 comprimidos pulverizados de enzimas lipasas pancreáticas con 10.440 unidades USP de lipasa (Viokace™) a 5 ml de agua purificada, se mantiene durante 15 minutos y después se añade la suspensión a 250 ml de la fórmula para bebés vertida previamente en la bolsa de alimentación y se agita suavemente durante 15 segundos, y después se transfiere a la bolsa de alimentación. Se prueban las siguientes fórmulas para bebés: IF1 (Neolatte® 1), IF2 (Neolatte® 2), IF3 (Humana® 1), IF4 (Nutramigen®). Se observa una evidente separación de fases para IF4. Mientras que no se observa separación con IF1, IF2, IF3; se mantiene una dispersión homogénea estable de las enzimas lipasas pancreáticas en estas fórmulas para bebés durante hasta 8 horas; puede realizarse una administración constante de la dosis y homogénea de los nutrientes con IF1, IF2, IF3 y puede llevarse a cabo una infusión continua usando una bomba de alimentación y un tubo G. No se observa una separación de fases en la muestra de blanco (sin la adición del comprimido de enzimas lipasas pancreáticas) que también se prueba para una administración continua: se observa una estabilidad física de hasta 16 horas. La inspección visual de la mezcla de la bolsa se realiza de forma regular (cada hora) y no se observa separación de fases, se obtienen fotografías. Este resultado demuestra que el comprimido de enzimas lipasas pancreáticas puede usarse para la preparación de una composición de Pan + IF estable.

Ejemplo 11. Composición de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes (Pan + IF) para infusión - metodología de adición en pre-suspensión

5 Se aplica la misma metodología y las mismas condiciones que en el Ejemplo 10 previo mediante la adición de dos dosis de enzimas lipasas pancreáticas pulverizadas, cada una con 12.500 unidades de la Ph. Eur. de lipasa (Eurobiol) a 5,0 ml de agua purificada, formando la suspensión, manteniéndola durante 15 minutos y añadiéndola después a 250 ml de la fórmula para bebés ya vertida en la bolsa de alimentación, y se agita suavemente durante 15 segundos. Se prueban las siguientes enterales: IF1 (Neolatte® 1), IF2 (Neolatte® 2), IF3 (Humana® 1), IF4 (Nutramigen®). Aquí se encuentran los mismos resultados que los notificados en el Ejemplo 10: se observa una separación de fases para IF4, mientras que no se observa una separación de fases para IF1, IF2, IF3; se mantiene una dispersión homogénea estable de las enzimas lipasas pancreáticas en IF1, IF2, IF3 durante hasta 8 horas. La inspección visual de la mezcla de la bolsa se realiza de forma regular (cada hora) y no se observa separación de fases, se obtienen fotografías.

15

Ejemplo 12. Preparación de una suspensión de enzimas lipasas pancreáticas (Etapa 1)

Los comprimidos de las enzimas lipasas pancreáticas con 10.440 unidades USP de lipasa (Viokace™ 10.440 unidades USP) se muelen uno por uno para generar un polvo fino usando un dispositivo de molienda de píldoras (Apex Ultra Pills Crusher®). Los comprimidos de las enzimas lipasas pancreáticas en polvo se transfieren a un pequeño recipiente de vidrio. Se añade ½ cucharilla (2,5 ml) de agua por cada comprimido con una dosis 10.440 unidades USP de lipasa. En un experimento en paralelo se usan comprimidos de enzimas lipasas pancreáticas con 20.880 unidades USP de lipasa (Viokace™): se añade 1 cucharilla (5 ml) de agua por comprimido. La mezcla de agua/comprimidos de enzimas lipasas pancreáticas se agita con una cuchara o una espátula durante 30 segundos para crear una suspensión uniforme. La suspensión se deja reposar a la temperatura ambiente durante 15 minutos, con objeto de ayudar a la disolución. La suspensión se agita con una cuchara o una espátula durante unos pocos segundos antes de su administración. Esta suspensión preparada es estable (actividad de lipasa) durante al menos 30 minutos.

30 **Ejemplo 13.** Administración de la composición de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes mediante una infusión continua (Etapa 2)

Se añade la suspensión del Ejemplo 12 a la bolsa de alimentación que contiene la cantidad prescrita de la fórmula enteral/comprimido de enzimas lipasas pancreáticas, la bolsa se agita durante 15 segundos con objeto de homogeneizar la suspensión del comprimido de enzimas lipasas pancreáticas y la fórmula enteral. El recipiente se aclara con 10 ml de agua adicionales para recuperar cualquier residuo restante y se administra como se ha descrito anteriormente. La bomba de alimentación enteral se inserta en la bomba según las instrucciones del fabricante y se conecta al tubo G. Se enciende la bomba y se establece el caudal correcto. Se quita la pinza del tubo y la bomba se pone en funcionamiento. Se comprueba que el alimento se está moviendo y que no hay fugas en ninguno de los tubos conectores ni torsiones en el tubo. Cuando se ha completado la alimentación, se clampa el conjunto de alimentación y se desconecta (la bomba tiene una alarma para indicar si existe algún bloqueo y cuando se ha completado la alimentación). Se administra el agua de aclarado prescrita. El tubo de extensión se agrupa y se desconecta.

45 **Ejemplo 14.** Administración de la composición de enzimas lipasas pancreáticas y nutrientes (Pan + FE) mediante una infusión continua - eficiencia de la administración del fluido.

El volumen acumulado de la FE administrada en función del tiempo durante el periodo de alimentación con y sin el material de enzimas lipasas pancreáticas se calcula usando un cilindro graduado apropiado después de la administración del tubo G. La Pan-FE es administrada con el procedimiento de preparación descrito en los Ejemplos 12, 13, usando un equipo de infusión representativo (bomba de alimentación: Kangaroo™ ePump Enteral Feeding Pump; bolsa: Kangaroo Joey™ Enteral Feeding Pump Sets; tubo G: Kimberly Clark MIC-KEY 12 Fr 4,0 cm). Se usa un caudal de entre 10 ml/h y 125 ml/h (según se aplica para los pacientes pediátricos con una edad de 0-14) para simular la administración clínica habitual de la alimentación enteral. También se lleva a cabo la administración de un blanco (la FE sin la suspensión añadida de enzimas lipasas pancreáticas) usando el mismo equipo. Se registra el volumen administrado en los puntos temporales dados: 2, 4, 6 y 8 horas (tiempo (h) = volumen teórico administrado (ml) / caudal de la bomba (ml/h)). Se recogen los volúmenes de la composición de la mezcla de Pan + FE considerando tres administraciones simuladas diferentes y se comparan con una administración de blanco en cada punto temporal. La eficiencia de la administración del fluido para la composición de Pan + FE en cada punto temporal se calcula como sigue:

60

$$\text{Eficiencia de la administración del fluido (\%)} = \frac{\text{Volumen de la composición de Pan + FE administrado en el momento } t}{\text{Volumen de blanco (sólo la fórmula enteral) administrado en el momento } t} \times 100$$

65

Los datos de la Tabla 5 muestran que la eficiencia de la administración de la composición de Pan + FE es la misma que la administración de la fórmula enteral sola. El % de volumen administrado en el momento (t) con respecto al blanco está comprendido entre el 95 y el 105 %.

5

Tabla 5

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Caudal (ml/h) | Volumen de blanco (solo la FE) administrado (ml) | Volumen administrado de la composición de Pan + FE (ml) | | | | | |
|------------|-----------------|---------------|--|---|--------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------|
| | | | | #1 | % con respecto al blanco | #2 | % con respecto al blanco | #3 | % con respecto al blanco |
| 2 | FE1 | 10 | 20 | 20 | 100 | 20 | 100 | 20 | 100 |
| 4 | | | 68 | 71 | 104 | 69 | 101 | 70 | 103 |
| 6 | | | 87 | 91 | 105 | 90 | 103 | 88 | 101 |
| 8 | | | 138 | 142 | 103 | 138 | 100 | 138 | 100 |
| 2 | FE1 | 125 | 252 | 260 | 103 | 245 | 97 | 255 | 101 |
| 4 | | | 520 | 535 | 103 | 510 | 98 | 530 | 102 |
| 6 | | | 770 | 800 | 104 | 760 | 99 | 782 | 102 |
| 8 | | | 1040 | 1090 | 105 | 1017 | 98 | 1040 | 100 |
| 2 | FE2 | 10 | 20 | 20 | 100 | 20 | 100 | 19 | 95 |
| 4 | | | 69 | 68 | 99 | 69 | 100 | 68 | 99 |
| 6 | | | 89 | 87 | 98 | 88 | 99 | 87 | 98 |
| 8 | | | 135 | 137 | 101 | 137 | 101 | 135 | 100 |
| 2 | FE2 | 125 | 250 | 250 | 100 | 245 | 98 | 248 | 99 |
| 4 | | | 520 | 520 | 100 | 520 | 100 | 520 | 100 |
| 6 | | | 760 | 785 | 103 | 750 | 99 | 770 | 101 |
| 8 | | | 1060 | 1048 | 99 | 1070 | 101 | 1035 | 98 |

Ejemplo 15. Estabilidad de las enzimas lipasas pancreáticas en la fórmula enteral

- 10 Se evalúa la estabilidad de las enzimas lipasas pancreáticas en las fórmulas enterales a lo largo de la totalidad del periodo de alimentación (8 h) mediante la medición de la actividad de las tres enzimas (lipasa, proteasa y amilasa) en unos puntos temporales dados: 0, 2, 4, 8 horas. La suspensión de las enzimas lipasas pancreáticas se mezcla con las fórmulas enterales recogidas en la Tabla 1 según los Ejemplos anteriores y se administra usando el equipo de alimentación según se describe en los Ejemplos 12, 13. La administración en infusión continua se lleva a cabo usando la composición de Pan + FE con una baja proporción de enzimas lipasas pancreáticas/FE (1 comprimido con 10.440 unidades USP de actividad de lipasa/250 ml de FE), lo que representa el peor caso en términos de desafío para la estabilidad de las enzimas lipasas pancreáticas. La estabilidad de la enzima es evaluada en forma de la actividad recuperada en cada punto temporal en comparación con la actividad encontrada en el momento cero (composición de Pan + FE inmediatamente después de su preparación), los resultados se expresan en forma del porcentaje de recuperación con respecto al momento cero.
- 15 **15.1 Determinación de la actividad de lipasa.** Las muestras para la determinación de la actividad de lipasa en los puntos temporales de 2 y de 4 horas se recogen tanto de la composición de Pan + FE contenida en la bolsa de alimentación como de los volúmenes recolectados suministrados a través del tubo G, y demuestra la homogeneidad de la administración. La actividad de la lipasa es independiente del sitio de muestreo, dado que proporciona unos resultados coherentes en términos de estabilidad enzimática. Las muestras finales se recogen a partir del volumen administrado a través del tubo G.
- 20
- 25

Tabla 6

| Tiempo (h) - sitio de muestreo | Fórmula enteral | Unidades USP de actividad de lipasa/mg | | % de recuperación en t0 | |
|--------------------------------|-----------------|--|----------------|-------------------------|-----|
| | | #1 10 ml/h | #2 125 ml/h | #1 | #2 |
| 0 | FE1 | 23,8 | 24,7 | NA | NA |
| 2-bolsa | | 22,7 | 24,9 | 95 | 101 |
| 2-tubo | | 23,8 | 24,2 | 100 | 98 |
| 4-bolsa | | 23,1 | 23,7 | 97 | 96 |

| | | | | | |
|---------|-----|------|------|-----|-----|
| 4-tubo | FE2 | 23,4 | 25,0 | 98 | 101 |
| 8-tubo | | 23,0 | 25,0 | 97 | 101 |
| 0 | | 23,2 | 23,1 | NA | NA |
| 2-bolsa | | 23,4 | 23,5 | 101 | 102 |
| 2-tubo | | 23,8 | 22,4 | 103 | 97 |
| 4-bolsa | | 24,1 | 25,5 | 104 | 110 |
| 4-tubo | | 24,4 | 23,5 | 105 | 102 |
| 8-tubo | | 24,2 | 24,3 | 104 | 105 |

La actividad de lipasa permanece estable en la fórmula probada durante 8 horas. El incremento gradual en la actividad de la enzima, observado durante el transcurso del experimento, es debido a un cambio conformacional en la enzima (asociado con un aumento en la actividad de lipasa) inducido por el medio de la FE.

- 5 **15.2 Determinación de las actividades de proteasa y de amilasa:** se lleva a cabo con muestras de la mezcla de la composición de Pan + FE extraída a partir de la bolsa (la composición es homogénea durante la totalidad del período de administración, véase el ejemplo anterior). Los ensayos de proteasa y de amilasa se resumen en las Tablas 7, 8.

10

Tabla 7

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Unidades USP de actividad de proteasa/mg | | % de recuperación en t0 | |
|------------|-----------------|--|----------------|-------------------------|-----|
| | | #1 10 ml/h | #2 125 ml/h | #1 | #2 |
| 0 | FE1 | 147,7 | 138 | NA | NA |
| 2 | | 142,6 | 143,6 | 97 | 104 |
| 4 | | 145,8 | 145,4 | 99 | 105 |
| 8 | | 140,6 | 137,4 | 95 | 100 |
| 0 | FE2 | 149,4 | 160,4 | NA | NA |
| 2 | | 138,8 | 149,3 | 93 | 93 |
| 4 | | 146,7 | 160,7 | 98 | 100 |
| 8 | | 139,6 | 142,4 | 93 | 89 |

Tabla 8

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Unidades USP de actividad de amilasa/mg | | % de recuperación en t0 | |
|------------|-----------------|---|----------------|-------------------------|-----|
| | | #1 10 ml/h | #2 125 ml/h | #1 | #2 |
| 0 | FE1 | 121,9 | 123,2 | NA | NA |
| 2 | | 109,8 | 117,1 | 90 | 95 |
| 4 | | 108,0 | 110,2 | 89 | 89 |
| 8 | | 120,8 | 107,3 | 99 | 87 |
| 0 | FE2 | 136,6 | 149,6 | NA | NA |
| 2 | | 127,0 | 157,9 | 93 | 106 |
| 4 | | 130,2 | 143,5 | 95 | 96 |
| 8 | | 120,0 | 133,3 | 88 | 89 |

15

Según los resultados, la lipasa, la proteasa y la amilasa son estables en las condiciones de infusión hasta 8 horas; el % de recuperación de actividad está en el 90-110 % para la lipasa y la proteasa, y en el 85-115 % para la amilasa.

20

Ejemplo 16. Evaluación de los nutrientes de la digestión

El perfil de los nutrientes digeridos en las composiciones de Pan + FE se determina mediante la investigación de la cinética de la digestión de los nutrientes inducida por las enzimas lipasas pancreáticas teniendo en consideración dos aspectos: 1) la disminución de los nutrientes principales contenidos en las fórmulas enterales (triglicéridos, proteína total y maltodextrinas) y 2) la creciente formación de los productos de la digestión de los nutrientes (ácidos grasos libres (AGL), triptófano (AA) y azúcares de cadena corta (ACC). El cambio de los nutrientes de la fórmula

25

enteral en presencia de las enzimas lipasas pancreáticas es monitorizado, y se identifica un marcador representativo para cada clase de nutrientes digeridos para investigar la magnitud de la digestión durante la administración de las fórmulas enterales.

5 *Estudio de la digestión.* Se prepara una composición de Pan + FE según los anteriores Ejemplos y se administra usando el equipo de alimentación representativo de la práctica clínica (Ejemplos 12, 13). También se prepara un blanco (sólo la FE = no hay digestión) de la misma forma. En unos puntos temporales dados (0, 2 h, 4 h, 8 h) se toman muestras tanto de la composición de Pan + FE como del blanco desde la bolsa de alimentación. El momento
10 cero se genera tomando una muestra de la suspensión inmediatamente después de la preparación. Se simula el proceso de la digestión para las dos siguientes preparaciones diferentes: administración de la composición de Pan + FE en infusión continua realizada usando la mayor proporción de enzimas lipasas pancreáticas/FE, lo que representa la condición más problemática en términos de la modificación de la fórmula enteral (una elevada actividad enzimática produce un aumento en la digestión). La magnitud de la digestión se describe a continuación en los siguientes párrafos.

15

16.1. *Análisis de las grasas*

16.1.1) La cantidad de triglicéridos (como marcador de los nutrientes grasos) es monitorizada teniendo en consideración la trioleína como marcador. En cada punto temporal del experimento (0, 2, 4 y 8 horas) se extraen 2
20 ml de cada muestra (sólo la FE = blanco; composición de Pan + FE) para recuperar cuantitativamente la fracción lipídica. Antes de cada muestreo, la suspensión se agita suavemente durante 15 segundos. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 9.

25

Tabla 9

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Administración del blanco (sólo la FE) (mg de trioleína en 100 ml de la FE) | % con respecto al t0 | Pan + FE #1 (mg de trioleína en 100 ml de la FE) | % con respecto al t0 | Pan + FE #2 (mg de trioleína en 100 ml de la FE) | % con respecto al t0 |
|------------|-----------------|---|----------------------|--|----------------------|--|----------------------|
| 0 | FE1 | 498,1 | NA | 402,0 | NA | 405,8 | NA |
| 2 | | 503,8 | 101 | 283,6 | 71 | 297,1 | 74 |
| 4 | | 510,5 | 101 | 220,1 | 55 | 266,2 | 66 |
| 8 | | 502,4 | 98 | 127,0 | 32 | 127,1 | 32 |
| 0 | FE2 | 774,3 | NA | 749,3 | NA | 785,1 | NA |
| 2 | | 786,1 | 102 | 516,6 | 69 | 564,2 | 75 |
| 4 | | 822,1 | 106 | 444,9 | 59 | 382,3 | 51 |
| 8 | | 807,7 | 104 | 200,5 | 27 | 160,4 | 21 |

NA: no aplicable

La actividad lipolítica de la lipasa presente en la composición durante la totalidad del periodo de administración es evidente a partir de la notable reducción en el nivel de triglicéridos, mientras que la administración del blanco muestra una cantidad constante de triglicéridos durante el mismo periodo de tiempo. La concentración de trioleína
30 cayó desde el 69-75 % del valor inicial después de 2 horas y alcanza aproximadamente un 21-32 % de la concentración inicial de TG (TG = triglicéridos) después de 8 horas. Después de 8 horas, todavía está presente aproximadamente el 30 % de la trioleína de la composición de la mezcla de Pan + FE al final del experimento, demostrando por lo tanto que la hidrólisis del ácido graso no es completa; esto se produce debido a que la lipólisis es inhibida por los productos de la reacción (AGL) cuando no hay ningún aceptor para eliminar estos productos de la interfase de aceite-agua (micelas, sales biliares, absorción intestinal), como en las condiciones probadas.

16.1.2) La cantidad de ácidos grasos libres (como marcador de los productos de la digestión de las grasas) es monitorizada teniendo en consideración los ácidos oleico, linoleico y palmítico como marcadores. En cada punto temporal del experimento (0, 2, 4 y 8 horas) se extraen 0,2 ml de cada muestra (sólo la FE = blanco; composición de Pan + FE) para recuperar cuantitativamente la fracción lipídica. Antes de cada muestreo, la suspensión se agita
40 suavemente durante 15 segundos. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 10.

Tabla 10

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Administración del blanco (sólo la FE) (mg de ácido oleico en 100 ml de la FE) | Pan + FE #1 (mg de ácido oleico en 100 ml de la FE) | Pan + FE #2 (mg de ácido oleico en 100 ml de la FE) |
|------------|-----------------|--|---|---|
| 0 | FE1 | ND | 42,6 | 46,2 |
| 2 | | ND | 155,0 | 86,8 |

| | | | | |
|--------------------|-----|----|-------|-------|
| 4 | | ND | 130,9 | 111,0 |
| 8 | | ND | 153,8 | 145,9 |
| 0 | FE2 | ND | 18,7 | 24,9 |
| 2 | | ND | 166,2 | 131,0 |
| 4 | | ND | 208,2 | 190,9 |
| 8 | | ND | 284,5 | 246,3 |
| ND: no detectado/a | | | | |

Tabla 11

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Administración del blanco (sólo la FE) (mg de ácido linoleico/100 ml de la FE) | Pan + FE #1 (mg de ácido linoleico/100 ml de la FE) | Pan + FE #2 (mg de ácido linoleico/100 ml de la FE) |
|--------------------|-----------------|--|---|---|
| 0 | FE1 | ND | 40,2 | 42,5 |
| 2 | | ND | 72,0 | 65,4 |
| 4 | | ND | 83,2 | 95,2 |
| 8 | | ND | 102,1 | 116,8 |
| 0 | FE2 | ND | 52,8 | 59,8 |
| 2 | | ND | 98,7 | 167,1 |
| 4 | | ND | 118,4 | 153,4 |
| 8 | | ND | 168,6 | 159,4 |
| ND: no detectado/a | | | | |

5

Tabla 12

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Administración del blanco (sólo la FE) (mg de ácido palmítico/100 ml de la FE) | Pan + FE #1 (mg de ácido palmítico/100 ml de la FE) | Pan + FE #2 (mg de ácido palmítico/100 ml de la FE) |
|--------------------|-----------------|--|---|---|
| 0 | FE1 | ND | ND | ND |
| 2 | | ND | 36,2 | 36,9 |
| 4 | | ND | 37,5 | 48,9 |
| 8 | | ND | 43,7 | 55,8 |
| 0 | FE2 | ND | ND | 19,8 |
| 2 | | ND | 45,6 | 67,2 |
| 4 | | ND | 59,2 | 77,7 |
| 8 | | ND | 85,8 | 83,9 |
| ND: no detectado/a | | | | |

Las fórmulas enterales, debido a su composición, no contienen AGL según se confirma por la ausencia de estos compuestos en el cromatograma de HPL del blanco; por otro lado, se detectaron ácidos grasos libres en el cromatograma de la mezcla de Pan + FE, lo que confirma que la lipólisis ya se produjo rápidamente en el momento 0, lo que es inmediatamente después de la preparación de la composición de Pan + FE.

16.2. Análisis de las proteínas

16.2.1) La cantidad total de proteínas (como marcador de los nutrientes proteicos) es monitorizada usando el método de Bradford. En cada punto temporal del experimento (0, 2, 4 y 8 horas) se extraen 2 ml de cada muestra (sólo la FE = blanco; composición de Pan + FE) para recuperar cuantitativamente la fracción proteica. Antes de cada muestreo, la suspensión se agita suavemente durante 15 segundos. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 13.

20

Tabla 13

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Administración del blanco (sólo la FE) (mg de proteínas totales en 1 ml de la FE) | % con respecto al t0 | Pan + FE #1 (mg de proteínas totales en 1 ml de la FE) | % con respecto al t0 | Pan + FE #2 (mg de proteínas totales en 1 ml de la FE) | % con respecto al t0 |
|------------|-----------------|---|----------------------|--|----------------------|--|----------------------|
| 0 | FE1 | 14,1 | NA | 11,4 | NA | 12,6 | NA |
| 2 | | 13,2 | 94 | 10,6 | 93 | 11,7 | 93 |
| 4 | | 13,8 | 105 | 9,3 | 82 | 9,1 | 72 |
| 8 | | 14,4 | 104 | 7,5 | 66 | 8,0 | 63 |
| 0 | FE2 | 20,8 | NA | 21,5 | NA | 19,2 | NA |
| 2 | | 20,2 | 97 | 15,6 | 73 | 14,7 | 77 |
| 4 | | 19,2 | 92 | 14,4 | 67 | 13,8 | 72 |
| 8 | | 21,0 | 101 | 14,0 | 65 | 13,2 | 69 |

NA: no aplicable

La cantidad total de proteína permaneció constante durante la totalidad de la administración del blanco, mientras que se observa una notable reducción en el nivel de proteínas (por efecto de la actividad proteolítica de la proteasa presente en el material de las enzimas lipasas pancreáticas en la composición de Pan + FE: la concentración de proteínas cae hasta aproximadamente el 63-69 % del valor inicial después de 8 horas. La proteólisis no se ha completado después de 8 horas.

16.2.2) Triptófano (como marcador de los productos de la digestión de las proteínas) En cada punto temporal del experimento (0, 2, 4 y 8 horas) se extrae 1 ml de cada muestra (sólo la FE = blanco; composición de Pan + FE) para recuperar cuantitativamente la fracción de aminoácidos. Antes de cada muestreo, la suspensión se agita suavemente durante 15 segundos. Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla 14.

Tabla 14

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Administración del blanco (sólo la FE) (mg de triptófano/100 ml de la FE) | Pan + FE #1 (mg de triptófano/100 ml de la FE) | Pan + FE #2 (mg de triptófano/100 ml de la FE) |
|------------|-----------------|---|--|--|
| 0 | FE1 | ND | 1,3 | 1,7 |
| 2 | | ND | 2,8 | 2,1 |
| 4 | | ND | 4,0 | 5,2 |
| 8 | | ND | 6,0 | 7,2 |
| 0 | FE2 | ND | 2,1 | 1,9 |
| 2 | | ND | 4,2 | 4,3 |
| 4 | | ND | 5,3 | 5,8 |
| 8 | | ND | 8,1 | 8,0 |

ND: no detectado/a

Las fórmulas enterales, debido a su composición, no contienen triptófano, según se confirma por la ausencia de este aminoácido en el blanco (determinado mediante una HPLC); por otro lado, el triptófano fue detectado en la composición de Pan + FE (determinado mediante una HPLC), lo que confirma que la proteólisis ya se produjo rápidamente en el momento 0 (inmediatamente después de la preparación de la composición de Pan + FE).

16.3. Análisis de carbohidratos

16.3.1) Las maltodextrinas (como marcadores de los nutrientes carbohidratos) es monitorizada mediante un método de HPLC teniendo en consideración la maltoheptosa (M7), la maltohexosa (M6) y la maltotetraosa (M4) como marcadores. En cada punto temporal del experimento (0, 2, 4 y 8 horas) se extraen 2 ml de cada muestra (sólo la FE = blanco; mezcla de Pan + FE) para recuperar cuantitativamente la fracción de carbohidratos. Antes de cada muestreo, la suspensión se agitó suavemente durante 15 segundos. Los resultados se resumen en la Tabla 15.

Tabla 15

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Administración del blanco (sólo la FE) (% del área de la M7) | % con respecto al t0 | Pan + FE #1 (% del área de la M7) | % con respecto al t0 | Pan + FE #2 (% del área de la M7) | % con respecto al t0 |
|------------|-----------------|--|----------------------|-----------------------------------|----------------------|-----------------------------------|----------------------|
| 0 | FE1 | 10,6 | NA | 10,0 | NA | 9,0 | NA |
| 2 | | 10,6 | 100 | 1,0 | 10 | 1,3 | 14 |

| | | | | | | | |
|---|-----|------|-----|------|----|-----|----|
| 4 | FE2 | 9,9 | 93 | 1,4 | 14 | 2,5 | 28 |
| 8 | | 10,8 | 102 | 1,9 | 19 | 2,4 | 27 |
| 0 | | 23,8 | NA | 21,7 | NA | 227 | NA |
| 2 | | 22,5 | 95 | 2,3 | 11 | 2,8 | 12 |
| 4 | | 24,6 | 103 | 2,6 | 12 | 2,6 | 11 |
| 8 | | 26,1 | 110 | 1,8 | 8 | 1,7 | 7 |

NA: no aplicable

Tabla 16

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Administración del blanco (sólo la FE) (% del área de la M6) | % con respecto al t0 | Pan + FE #1 (% del área de la M6) | Pan + FE #2 (% del área de la M6) |
|------------|-----------------|--|----------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 0 | FE1 | 12,0 | NA | 9,0 | 10,0 |
| 2 | | 12,0 | 100 | ND | ND |
| 4 | | 11,1 | 93 | ND | ND |
| 8 | | 12,2 | 102 | ND | ND |
| 0 | FE2 | 28,4 | NA | 25,9 | 26,4 |
| 2 | | 24,0 | 85 | ND | ND |
| 4 | | 23,8 | 84 | ND | ND |
| 8 | | 25,5 | 90 % | ND | ND |

NA: no aplicable

ND: no detectado/a

5

Tabla 17

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Administración del blanco (sólo la FE) (% del área de la M4) | % con respecto al t0 | Pan + FE #1 (% del área de la M4) | Pan + FE #2 (% del área de la M4) |
|------------|-----------------|--|----------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 0 | FE1 | 3,9 | NA | 5,5 | 6,8 |
| 2 | | 4 | 103 | 0,7 | ND |
| 4 | | 5,4 | 138 | 0,7 | ND |
| 8 | | 3,7 | 95 | ND | ND |
| 0 | FE2 | 8,4 | NA | 9,1 | 9,0 |
| 2 | | 8,4 | 100 | ND | ND |
| 4 | | 9,2 | 110 | ND | ND |
| 8 | | 8,1 | 96 | ND | ND |

NA: no aplicable

ND: no detectado/a

La cantidad de maltodextrinas permaneció constante en el blanco durante la totalidad del periodo de administración (determinada mediante un método de HPLC), mientras que se observa una notable reducción en el nivel de maltodextrinas (por efecto de la actividad amilolítica de la amilasa presente en el material de las enzimas lipasas pancreáticas) en la mezcla de Panc + FE: la concentración de maltoheptosa cayó rápidamente con respecto al valor inicial después de 2 horas, adicionalmente la maltohexosa y la maltotetrosa resultaron completamente digeridas tan sólo después de 2 horas. Simultáneamente a la reducción en las maltodextrinas de alto peso molecular, se observó un aumento en los azúcares de cadena corta relacionados, es decir, la maltosa y la maltotriosa.

10

15

16.3.2) La cantidad de azúcares de cadena corta (como marcador de los productos de la digestión de los carbohidratos) es monitorizada teniendo en consideración la maltosa como marcador. En cada punto temporal del experimento (0, 2, 4 y 8 horas) se extraen 2 ml de cada muestra (sólo la FE = blanco; composición de Pan + FE) para recuperar cuantitativamente la fracción de azúcar. Antes de cada muestreo, la suspensión se agita suavemente durante 15 segundos. Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla.

20

Tabla 18.

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Administración del blanco (sólo la FE) (mg de maltosa/100 ml de la FE) | Pan + FE #1 (mg de maltosa/100 ml de la FE) | Pan + FE #2 (mg de maltosa/100 ml de la FE) |
|------------|-----------------|--|---|---|
| 0 | FE1 | 226,1 | 2.332,2 | 2.039,6 |
| 2 | | 226,8 | 2.964,7 | 2.907,9 |
| 4 | | 341,3 | 3.324,6 | 3.277,4 |
| 8 | | 191,3 | 3.275,4 | 3.520,7 |
| 0 | FE2 | 424,7 | 2.959,5 | 2.967,6 |
| 2 | | 370,3 | 4.968,7 | 4.854,9 |
| 4 | | 431,5 | 5.181,3 | 4.919,0 |
| 8 | | 402,7 | 5.778,7 | 5.381,3 |

5 Las fórmulas enterales muestran una menor cantidad de maltosa que la detectada en la composición de Pan + FE (determinada con un método de HPLC), lo que confirma que la amilolisis ya se produjo rápidamente en el momento 0 (inmediatamente después de la preparación de la composición de Pan + FE). La maltosa era el producto final del ataque de la α -amilasa sobre los polímeros de glucosa. La sacarosa es detectada también en la FE1, ya que es un ingrediente de su fórmula, la cantidad de este azúcar permanece prácticamente constante (véase la tabla 19) durante la totalidad del periodo de administración, teniendo en consideración que la sacarosa no es un producto de la digestión de la amilasa.

10

Tabla 19

| Tiempo (h) | Fórmula enteral | Administración del blanco (sólo la FE) (mg de sacarosa/100 ml de la FE) | % con respecto al t0 | Pan + FE #1 (mg de sacarosa/100 ml de la FE) | % con respecto al t0 | Pan + FE #2 (mg de sacarosa/100 ml de la FE) | % con respecto al t0 |
|------------|-----------------|---|----------------------|--|----------------------|--|----------------------|
| 0 | FE1 | 2.995,6 | NA | 2.690,2 | NA | 2.670,7 | NA |
| 2 | | 2.927,8 | 98 | 2.813,4 | 105 | 2.810,7 | 104 |
| 4 | | 3.256,5 | 109 | 2.902,8 | 108 | 2.855,2 | 106 |
| 8 | | 3.004,2 | 100 | 2.946,7 | 110 | 2.840,0 | 106 |
| 0 | FE2 | ND | NA | ND | NA | ND | NA |
| 2 | | ND | NA | ND | NA | ND | NA |
| 4 | | ND | NA | ND | NA | ND | NA |
| 8 | | ND | NA | ND | NA | ND | NA |

NA: no aplicable
 ND: no detectado/a

REIVINDICACIONES

5 1. Un proceso para la preparación de una composición líquida estable y homogénea que es adecuada para su administración enteral, que comprende un producto de enzima digestiva, que es la lipasa pancreática, y nutrientes de una fórmula nutricional, comprendiendo dicho proceso las siguientes etapas:

a) preparar una suspensión de enzimas digestivas en una solución acuosa, que comprende la etapa de:

10 a.1) reducir el tamaño del producto de enzima digestiva mediante molienda, pulverización o trituración;
a.2) añadir una solución acuosa;
a.3) mezclar para formar la suspensión; y
a.4) mantenerla durante un periodo de tiempo superior a 5 minutos; y

15 b) mezclar la suspensión con una fórmula nutricional líquida para formar la composición líquida estable y homogénea;

20 en el que la fórmula nutricional tiene un contenido total de nutriente graso y proteico y de carbohidrato de entre 10 y 35 g/100 ml, o tiene un contenido total de nutriente graso y proteico de entre 4,5 y 11,5 g/100 ml, o tiene un contenido total de nutriente graso de entre 3,0 y 7,0 g/100 ml, o tiene un contenido total de nutriente proteico de entre 1,3 y 6,3 g/100 ml,

en donde la solución acuosa de la etapa a.2) se selecciona entre la lista que consiste en:

25 agua purificada; agua desionizada; agua estéril; agua del grifo; y solución salina fisiológica, y en donde la solución acuosa de la etapa a.2) se añade en una cantidad menor de 10 ml.

2. El proceso de la reivindicación 1, en el que el periodo de tiempo de la etapa a.4) es de entre 15 y 30 minutos.

30 3. El proceso de las reivindicaciones 1 o 2, en el que la solución acuosa de la etapa a.2) se añade en una cantidad de aproximadamente 2,5 ml para un producto de enzima digestiva que tiene aproximadamente 10.400 unidades USP de lipasa, o se añade una correspondiente cantidad múltiplo de solución para un producto que tiene múltiples unidades USP de lipasa.

35 4. El proceso de las reivindicaciones 1, 2 o 3, en el que el producto de enzima digestiva es un producto no gastrorresistente.

5. El proceso de las reivindicaciones 1, 2, 3 o 4, en el que el producto de enzima digestiva está recubierto o no está recubierto.

40 6. El proceso de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4 o 5, en el que el producto de la enzima lipasa pancreática está en forma de polvo, de gránulos, de comprimidos, de esferas, de minicomprimidos, de microcomprimidos, de micropartículas, de microesferas, de microcápsulas o de micropellas, y/o en el que el producto de la enzima lipasa pancreática es un producto o una forma de dosificación de liberación inmediata de enzimas lipasas pancreáticas.

45 7. El proceso de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5 o 6, en el que la fórmula nutricional es una fórmula para adultos/niños o una fórmula para bebés.