

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 751**

51 Int. Cl.:

A01N 25/28 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/50 (2006.01)
A61K 38/46 (2006.01)
A61K 38/47 (2006.01)
A61K 38/48 (2006.01)
A61K 38/54 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.04.2010 PCT/US2010/030895**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **21.10.2010 WO10120781**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.04.2010 E 10765020 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.10.2019 EP 2418941**

54 Título: **Sistemas de administración de enzimas y métodos de preparación y uso**

30 Prioridad:

13.04.2009 US 386051

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.04.2020

73 Titular/es:

CUREMARK, LLC (100.0%)
411 Theodore Fremd Ave. Suite 206
Rye, NY 10580, US

72 Inventor/es:

FALLON, JOAN M. y
HEIL, MATTHEW

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 755 751 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

Sistemas de administración de enzimas y métodos de preparación y uso

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere en general a preparaciones enzimáticas digestivas/pancreáticas recubiertas, y a composiciones farmacéuticas y sistemas de administración de enzimas que comprenden las preparaciones. También se describen métodos para su preparación, uso y suministro controlado en el tratamiento de individuos con enfermedades o afecciones neurológicas o conductuales susceptibles de tratamiento con enzimas.

Antecedentes

10 Las enzimas digestivas son producidas por las glándulas salivales, las glándulas en el estómago, el páncreas y glándulas en el intestino delgado. Por ejemplo, las enzimas digestivas producidas por el páncreas y secretadas en el estómago y el intestino delgado ayudan a la digestión. Las enzimas digestivas producidas por el páncreas se secretan en el duodeno o el segmento superior del intestino delgado, donde el pH es de alrededor de 5 a 6, y las enzimas ayudan a la digestión de los componentes de los alimentos, incluidos los carbohidratos, los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos. Sin embargo, cuando las enzimas digestivas se administran por vía oral, las enzimas están expuestas a condiciones altamente ácidas en el estómago, con un pH de alrededor de pH 1-2, así como a proteasas gástricas que desnaturalizan y degradan las enzimas.

15 Se han administrado enzimas digestivas a mamíferos para tratar deficiencias enzimáticas causadas por afecciones que afectan al páncreas, tales como pancreatitis y deficiencia de enzimas pancreáticas. Las enzimas pancreáticas administradas a humanos son comúnmente de origen porcino. Los fabricantes de preparaciones enzimáticas también han usado recubrimientos entéricos para composiciones de lipasa en individuos con fibrosis quística que requieren la administración de lipasas. Las preparaciones para el suministro de lipasa han usado recubrimientos entéricos que contienen, por ejemplo, ftalato de hipromelosa, dimeticona 1000 y ftalato de dibutilo.

20 Se han descrito ciertos métodos para recubrir sustancias bioactivas sensibles. La Patente de los Estados Unidos No. 6,261,613 de Narayanaswamy et al. revela partículas que pueden contener levadura, recubiertas con una capa de grasa en forma de beta prima (es decir, cristales de triglicéridos que tienen una simetría en bloque). El material de recubrimiento puede contener además emulsionantes como los que se encuentran en el aceite vegetal hidrogenado. Sin embargo, el recubrimiento solo permite la liberación de la levadura en un rango de temperatura limitado de aproximadamente 40°C a aproximadamente 55°C. La Patente de los Estados Unidos No. 6,251,478 B1 de Pacifico et al. describe ciertas sustancias sensibles, incluidos ciertos compuestos bioactivos encapsulados en un material lipídico.

25 Ninguna descripción en la sección de Antecedentes debe tomarse como una admisión de que dicha divulgación constituye una técnica anterior a la presente invención.

Resumen de la invención

35 El alcance de la invención está definido por las reivindicaciones. Cualquier referencia en la descripción a los métodos de tratamiento se refiere a las preparaciones de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

40 La presente invención se refiere a preparaciones enzimáticas digestivas recubiertas, y a composiciones farmacéuticas y sistemas de administración de enzimas que comprenden preparaciones enzimáticas digestivas recubiertas, que son útiles en el tratamiento de individuos con autismo, trastorno por déficit de atención (TDA), trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), enfermedad de Parkinson (EP), fibrosis quística (FQ), otras enfermedades o afecciones neurológicas y conductuales. Las preparaciones de enzimas digestivas recubiertas y encapsuladas de esta invención permiten el suministro controlado de enzimas que tienen una mayor estabilidad y propiedades de administración mejoradas, a pacientes con enfermedades y afecciones neurológicas y conductuales susceptibles de tratamiento con enzimas digestivas.

La invención proporciona preparaciones de enzimas digestivas según la reivindicación 1.

45 La presente invención se refiere a una preparación enzimática digestiva pancreática recubierta que comprende un núcleo que comprende enzimas digestivas pancreáticas y un recubrimiento que comprende un lípido emulsionable. El núcleo contiene una cantidad de enzima pancreática/digestiva efectiva para el tratamiento de la condición del paciente, que puede ser, por ejemplo, un trastorno neurológico como el autismo, TDA, TDHD, FQ y la enfermedad de Parkinson, u otras enfermedades para las cuales se pueden administrar una cantidad efectiva de enzimas pancreáticas/digestivas. Entre otras propiedades, el recubrimiento protege la enzima pancreática/digestiva de factores desestabilizadores como solventes, calor, luz, humedad y otros factores ambientales. El recubrimiento también proporciona una liberación controlada del agente pancreático/digestivo cuando el compuesto se expone a un solvente. Además, en un aspecto de esta invención, las preparaciones de enzimas digestivas recubiertas de esta invención tienen propiedades de vertido mejoradas y un sabor y olor mejorados de las partículas de enzimas digestivas.

La invención también se refiere a una mezcla específica de enzimas y lípidos para la administración de enzimas en individuos con enfermedad de Parkinson, TDA, TDAH, autismo y fibrosis quística y otras afecciones y enfermedades conductuales o neurológicas. Las preparaciones de enzimas digestivas recubiertas se pueden usar para obtener la liberación en tiempos de tránsito seleccionados o en ubicaciones seleccionadas del tracto gastrointestinal de humanos.

5 En un aspecto, esta invención se refiere a preparaciones de enzimas de liberación controlada.

La invención proporciona una preparación de enzimas digestivas para su uso de acuerdo con la reivindicación 11.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a una preparación de enzima digestiva recubierta que comprende (a) un núcleo que contiene una partícula de enzima digestiva, donde la enzima está presente en una cantidad de aproximadamente 5 % a 90 % en peso de las partículas; y (b) un recubrimiento que comprende un lípido emulsionable, en el que el recubrimiento recubre continuamente el núcleo y el lípido emulsionable emulsiona tras la exposición a un disolvente.

10

En otro aspecto, esta divulgación se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de una preparación enzimática encapsulada, que comprende (a) un núcleo que comprende una cantidad de enzimas pancreáticas o digestivas efectivas para tratar a un sujeto que padece autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson, fibrosis quística u otra afección neurológica o trastorno del comportamiento susceptible al tratamiento por las enzimas; y (b) un recubrimiento que comprende un lípido emulsionable.

15

En otro aspecto más, esta divulgación se refiere a un sistema de suministro de enzimas que comprende preparación enzimática encapsulada que tiene partículas que comprenden: (a) un núcleo que comprende enzimas pancreáticas o digestivas presentes en una cantidad de aproximadamente 5 % a 95 % en peso de las partículas y (b) un recubrimiento en general uniforme para proporcionar la liberación controlada de las enzimas, comprendiendo dicho recubrimiento un lípido emulsionable. En un aspecto, las partículas de preparación de enzimas encapsuladas del sistema de suministro de enzimas son no aerosolizables.

20

En ciertos aspectos, los métodos de preparación de enzimas de acuerdo con esta divulgación producen preparaciones enzimáticas recubiertas caracterizadas, por ejemplo, por velocidades controladas de liberación, reducción en la aerosolización y administración más segura, capacidad de ser administradas por un método de suministro por aspersión/bolsita, características mejoradas de flujo, vida útil mejorada y capacidad de almacenamiento, y otras propiedades descritas aquí. En otros aspectos, la preparación enzimática recubierta tiene propiedades de vertido mejoradas que facilitan los procesos de fabricación y empaquetado, por ejemplo, empaquetado en bolsas y bolsitas.

25

En algunos aspectos, la presente invención se basa en el descubrimiento sorprendente e inesperado de que ciertas preparaciones de enzimas digestivas recubiertas que comprenden un recubrimiento con lípidos emulsionables y un núcleo de enzima digestiva tienen perfiles de liberación y actividad favorables y permiten un tiempo de sitio específico y/o liberación específica por ubicación a lo largo del tracto GI para el tratamiento del autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson y otras afecciones neurológicas o conductuales susceptibles de tratamiento con enzimas digestivas. En algunos aspectos, las preparaciones de enzimas pancreáticas/digestivas encapsuladas se preparan para obtener tiempos de administración específicos o regiones específicas dentro del tracto gastrointestinal (GI) humano. La composición lipídica emulsionable es aceite de soja hidrogenado.

30

35

La invención se refiere además en algunos aspectos a preparaciones enzimáticas más estables protegidas contra el medio ambiente para reducir, por ejemplo, la degradación y/o desnaturalización de las enzimas. Esto permite la administración de dosis más precisas de la preparación enzimática a los individuos tratados. El recubrimiento también puede, en algunos aspectos, proporcionar emulsificación cuando las preparaciones enzimáticas se ponen en contacto con disolventes apropiados, al tiempo que sorprendentemente proporciona una liberación controlada de la enzima en el sistema gastrointestinal (GI). Las propiedades de emulsificación del recubrimiento en un solvente permiten la liberación controlada de la enzima, preferiblemente en ubicaciones seleccionadas en el tracto GI, donde la utilización de la enzima proporciona el tratamiento más efectivo.

40

La presente divulgación también se refiere a métodos para preparar las preparaciones enzimáticas mediante recubrimiento con lípidos y/o encapsulación de enzimas digestivas. Los métodos comprenden proporcionar un lípido emulsionable y recubrir partículas de enzimas pancreáticas/digestivas con el lípido. Las enzimas digestivas comprenden 5-95 % en peso de las preparaciones enzimáticas recubiertas.

45

En otro aspecto, como se describe en el presente documento, los inventores han descubierto sorprendentemente que los métodos de esta divulgación pueden usarse para producir preparaciones enzimáticas digestivas recubiertas que comprenden enzimas digestivas y/o pancreáticas recubiertas con un lípido emulsionable solo, o con una mezcla lipídica para lograr una velocidad controlada de liberación de enzima, con una mayor liberación de la enzima pancreática/digestiva tras la exposición de la preparación encapsulada a un disolvente adecuado. Los inventores han descubierto que las preparaciones de enzimas pancreáticas/digestivas encapsuladas que tienen un recubrimiento que consiste esencialmente en uno o más monoglicéridos exhiben una mayor liberación de la enzima pancreática/digestiva tras la exposición del compuesto encapsulado a un solvente, como agua, mientras que protegen contra la liberación en 0.1 N HCl.

50

55

5 La divulgación se refiere además a métodos para administrar las preparaciones enzimáticas. En algunos aspectos, los métodos incluyen administrar las enzimas pancreáticas/digestivas como preparaciones recubiertas. En algunos aspectos, la divulgación se refiere a un método de tratamiento que comprende administrar a un sujeto con autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson, fibrosis quística u otra afección conductual o neurológica que necesite tratamiento con enzimas digestivas, al menos dos dosis de una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de una preparación de enzima digestiva encapsulada que comprende un núcleo que comprende una enzima digestiva; y un recubrimiento que comprende un lípido emulsionable. La determinación de si un sujeto necesita tratamiento con una cantidad efectiva de enzimas digestivas puede basarse en una determinación de que el sujeto tiene una deficiencia enzimática.

10 Además, la divulgación se refiere al suministro a humanos de compuestos de enzimas pancreáticas/digestivas, preparaciones, composiciones o sistemas de suministro de enzimas que comprenden ninguno o menos excipientes, vehículos, aditivos y/o extendedores, y/o que requieren el uso de o menos solventes en las preparaciones enzimáticas. En algunas realizaciones, el recubrimiento consiste esencialmente en aceite de soja hidrogenado. Esto puede reducir la exposición a sustancias potencialmente tóxicas y también reducirá la posibilidad de formación de alergias. La divulgación se refiere además al suministro de enzimas pancreáticas y/o digestivas con una seguridad de administración mejorada.

20 Además, la divulgación se refiere a métodos de fabricación mejorada que resultan de las propiedades de flujo mejoradas impartidas a las preparaciones enzimáticas por la encapsulación de lípidos. La encapsulación de lípidos de las enzimas pancreáticas/digestivas forma una barrera lipídica a la humedad que permite un flujo mejorado de las preparaciones de enzimas encapsuladas en la maquinaria de empaquetado.

El resumen de la invención no pretende ser un recuento completo o exhaustivo de todos los aspectos de la invención descritos aquí. Otros aspectos de la invención serán evidentes a partir de una descripción adicional expuesta aquí.

Breve descripción de los dibujos

25 La Figura 1 muestra una micrografía electrónica de partículas de enzimas digestivas crudas sin procesar.

La Figura 2 muestra una micrografía electrónica de una preparación enzimática recubierta después del tamizado y recubrimiento lipídico de la preparación enzimática digestiva cruda.

La Figura 3 muestra un análisis de tamaño de partícula en un gráfico de barras para partículas de enzimas digestivas sin procesar con el % de partículas que pueden pasar a través de una unidad USSS, como se indica en el eje y.

30 La Figura 4 muestra un gráfico de barras del % de actividad de lipasa en las partículas de enzimas digestivas crudas, y después de la encapsulación, para preparaciones enzimáticas recubiertas que contienen 70 %, 80 % y 90 % en peso de enzimas digestivas.

La Figura 5 muestra un gráfico de barras del % de liberación de enzimas para las preparaciones de enzimas que contienen 70 %, 80 % y 90 % de enzimas digestivas en peso, en los momentos indicados en el eje y.

35 La Figura 6 muestra un gráfico de barras de las distribuciones de tamaño de partículas de las partículas de enzimas digestivas crudas en comparación con las distribuciones de tamaños de partículas en preparaciones enzimáticas recubiertas que contienen 70 % u 80 % de enzimas digestivas en peso.

La Figura 7 muestra el diagrama de flujo de un proceso que puede usarse para encapsular partículas de enzimas digestivas.

40 La Figura 8 muestra un cromatograma de área de pico (mAU) frente al tiempo para el estándar de trabajo (línea superior), diluyente (línea que comienza en tercer lugar desde la parte superior cuando el tiempo es de 4 minutos), fase móvil utilizada en la HPLC (línea inferior a los 4 minutos) y placebo (segundo a la línea superior cuando el tiempo es de 4 minutos), que no demuestran interferencia con el pico estándar de tripsina.

45 La Figura 9 muestra un gráfico del área de pico (mAU) frente a la concentración de muestra (mg/mL) para las concentraciones conocidas de tripsina obtenidas usando HPLC para medir la tripsina en la preparación enzimática digestiva recubierta.

La Figura 10 muestra los niveles de quimotripsina fecal (FCT) medidos en nueve niños con síntomas de autismo.

La Figura 11 muestra los niveles de FCT medidos en 26 niños con síntomas de autismo.

50 La Figura 12 muestra los niveles de FCT medidos en 46 niños. 25 de los niños tenían síntomas de autismo, mientras que 21 niños no tenían síntomas de autismo.

La Figura 13 muestra los niveles de quimotripsina fecal medidos en 320 niños de la misma edad. La línea azul marino (en escala de grises, la línea superior, negra) muestra los niveles de FCT para niños con afecciones conocidas (genéticas y otras afecciones). La línea púrpura (en escala de grises, la línea superior, gris oscuro), muestra los niveles de FCT para niños normales sin ninguna condición conocida. La línea *aqua*, (en escala de grises, la línea gris inferior, media), muestra los niveles de FCT para niños con autismo. La línea rosa (en escala de grises, la línea inferior, gris oscuro) muestra las mediciones de FCT para niños con TDAH. La línea amarilla (en escala de grises, la línea inferior, de color gris claro) muestra las mediciones de FCT para niños con TDA.

La Figura 14 muestra los niveles medios de quimotripsina fecal en la línea base, y 30, 60, 90 y 120 días después de la administración de reemplazo de enzimas VIOKASE® o ULTRASE®.

10 Descripción detallada de realizaciones preferidas

La presente invención se refiere a una preparación de enzimas digestivas que comprende partículas recubiertas, en donde las partículas comprenden:

(a) un núcleo que comprende enzimas digestivas pancreáticas, en donde las enzimas digestivas pancreáticas comprenden una proteasa, una amilasa y una lipasa; y

15 (b) un recubrimiento que comprende un lípido, en el que el lípido es un aceite de soja hidrogenado, el recubrimiento recubre el núcleo y el lípido se emulsiona tras la exposición a un disolvente,

en donde las enzimas digestivas pancreáticas están presentes en las partículas en una cantidad de 75 % a 85 % en peso.

20 La presente invención también se refiere a la preparación de enzimas digestivas como se definió anteriormente, para uso en el tratamiento de un sujeto con autismo, un trastorno de déficit de atención (TDA), un trastorno de déficit de atención e hiperactividad (TDAH) o fibrosis quística.

25 Como se describe en su totalidad, esta divulgación se refiere en algunas realizaciones a preparaciones enzimáticas digestivas recubiertas, y composiciones farmacéuticas y sistemas de administración de enzimas que comprenden preparaciones enzimáticas digestivas recubiertas, que son útiles en el tratamiento de individuos con autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson, fibrosis quística, otras enfermedades o afecciones neurológicas y conductuales.

30 El autismo (a veces llamado "autismo clásico") es la afección más común en un grupo de trastornos del desarrollo conocidos como trastornos del espectro autista (TEA). El autismo se caracteriza por una interacción social deteriorada, problemas con la comunicación verbal y no verbal y actividades e intereses inusuales, repetitivos o muy limitados. Otros TEA incluyen el síndrome de Asperger, el síndrome de Rett, el trastorno de desintegración infantil y el trastorno generalizado del desarrollo no especificado de otro modo (generalmente denominado PDD-NOS). Se estima que de tres a seis niños de cada 1.000 tendrán autismo.

35 El trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH) es un trastorno neuroconductual que afecta al 3-5 por ciento de todos los niños en los Estados Unidos. Interfiere con la capacidad de una persona para permanecer en una tarea y ejercer una inhibición apropiada para su edad (cognitiva sola o cognitiva y conductual). Algunas de las señales de advertencia del TDAH incluyen la falta de escucha de las instrucciones, la incapacidad para organizarse y el trabajo escolar, la inquietud con las manos y los pies, hablar demasiado, dejar los proyectos, tareas y tareas sin terminar, y tener problemas para prestar atención y responder a los detalles. Existen varios tipos de TDAH: un subtipo predominantemente desatento, un subtipo predominantemente hiperactivo-impulsivo y un subtipo combinado. El TDAH generalmente se diagnostica en la infancia, aunque la afección puede continuar hasta la edad adulta.

40 La enfermedad de Parkinson (EP) pertenece a un grupo de afecciones llamadas trastornos del sistema motor, que están asociadas con la pérdida de células cerebrales productoras de dopamina. Los cuatro síntomas principales de la EP son tremor o temblor en manos, brazos, piernas, mandíbula y cara; rigidez o rigidez de las extremidades y el tronco; bradiquinesia, o lentitud de movimiento; e inestabilidad postural, o alteración del equilibrio y la coordinación. A medida que estos síntomas se vuelven más pronunciados, los pacientes pueden tener dificultades para caminar, hablar o completar otras tareas simples. La EP generalmente afecta a personas mayores de 50 años. Los primeros síntomas de la EP son sutiles y ocurren gradualmente. En algunas personas, la enfermedad progresa más rápidamente que en otras. A medida que la enfermedad progresa, el tremor o temblor, que afecta a la mayoría de los pacientes con EP, puede comenzar a interferir con las actividades diarias. Otros síntomas pueden incluir depresión y otros cambios emocionales; dificultad para tragar, masticar y hablar; problemas urinarios o estreñimiento; problemas de la piel; y trastornos del sueño.

55 La fibrosis quística (FQ) es una de las enfermedades genéticas que acortan la vida más comunes. En los Estados Unidos, 1 de cada 4.000 niños nacen con FQ. Es más común entre las poblaciones de Europa occidental; una de cada veintidós personas de ascendencia mediterránea son portadores de un gen para la FQ, lo que la convierte en la enfermedad genética más común en estas poblaciones. La FQ es causada por una mutación en el gen, el regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR). El producto de este gen es un canal de iones de cloruro importante para crear sudor, jugos digestivos y moco. Aunque la mayoría de las personas sin FQ tienen dos copias

funcionales (alelos) del gen CFTR, solo se necesita una para prevenir la fibrosis quística. La fibrosis quística afecta las glándulas exocrinas (mucosas) de los pulmones, el hígado, el páncreas y los intestinos, causando una discapacidad progresiva debido a una falla multisistémica. La FQ se puede caracterizar por, por ejemplo, 1) producción espesa de moco que resulta en infecciones pulmonares frecuentes; 2) disminución de la secreción de enzimas pancreáticas que causan un crecimiento deficiente, heces grasas y deficiencia de vitaminas liposolubles; y 3) infertilidad en los hombres debido a la condición de ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes. A menudo, los síntomas de la FQ aparecen en la infancia y la niñez. El íleo meconial es un hallazgo típico en los recién nacidos con FQ.

Se han usado preparaciones enzimáticas con recubrimientos entéricos no lipídicos para administrar lipasas en individuos que requieren la administración de lipasas a individuos con fibrosis quística que necesitan tratamiento enzimático. Además, Fallon ha descrito ciertos métodos y composiciones enzimáticas para su uso en el tratamiento de niños y otras personas, con autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson y otras enfermedades o afecciones neurológicas, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Nos. 7,138,123, 6,660,831, 6,632,429, 6,534,063.

La naturaleza del tracto digestivo humano crea desafíos para el suministro de enzimas digestivas a pacientes con afecciones neurológicas y conductuales susceptibles de tratamiento con enzimas digestivas. Múltiples cambios de temperatura y pH en el transcurso del tracto digestivo hacen que el parto específico sea una necesidad y un desafío. Por ejemplo, se encuentra un pH tan bajo como 1 en el estómago, pero aumenta rápidamente a un pH más básico de 5-6 en el intestino delgado proximal. Por ejemplo, generalmente el pH en el estómago es de aproximadamente 1.2, el pH en el duodeno es de aproximadamente 5.0 a 6.0; el pH en el yeyuno es de aproximadamente 6.8, y el pH es de aproximadamente 7.2 en el íleon proximal y aproximadamente 7.5 en el íleon distal. El pH bajo en el estómago que cambia rápidamente a un pH más básico de 5-6 en el intestino delgado proximal, requiere un método de administración específico dependiendo de dónde se administrará la enzima.

Por ejemplo, los niños con fibrosis quística cuya condición requiere la administración de lipasas, requieren el suministro de las lipasas a la última porción del intestino delgado. En contraste, los inventores han determinado que los niños con autismo que necesitan tratamiento con proteasas requieren el suministro de esas enzimas al intestino delgado proximal.

El suministro de enzimas digestivas también puede ser un desafío debido a la rápida degradación y desnaturalización de las enzimas a temperatura ambiente, así como a la degradación y desnaturalización mejoradas que pueden ocurrir con alta temperatura, presión, humedad y/o exposición a la luz. La humedad y el calor juntos pueden desestabilizar rápidamente las enzimas, reduciendo su efectividad y acortando la vida útil, lo que lleva a una dosificación imprecisa. La desnaturalización o desestabilización de las enzimas puede reducir su efectividad al reducir la dosis de enzimas activas a menos de la cantidad necesaria para un tratamiento efectivo. Alternativamente, intentar compensar la desnaturalización o desestabilización aumentando la dosis para asegurar un nivel efectivo de enzima activa, podría arriesgarse a una sobredosis o al sobrellenado de una cápsula u otra forma de dosificación. Para proteger y estabilizar la enzima pancreática/digestiva de condiciones desfavorables, tales como penetración, descomposición, la enzima pancreática/digestiva (núcleo) puede recubrirse o encapsularse en un recubrimiento continuo que contiene un lípido emulsionable. En otro aspecto, esta invención proporciona nuevas preparaciones enzimáticas recubiertas con una vida útil mejorada.

Los fabricantes de preparaciones enzimáticas han usado recubrimientos entéricos para administrar lipasas en individuos que requieren la administración de lipasas, tales como individuos con fibrosis quística. Debido a que las enzimas porcinas se administran en una mezcla de proteasas, lipasas y amilasas, y debido a que estas composiciones para consumo humano se prepararon para la administración de lipasa, el uso de estos recubrimientos entéricos, que incluyen sustancias tales como ftalato de hipromelosa, dimeticona 1000 y ftalato de dibutilo, impiden la administración de proteasas en la ubicación adecuada en el tracto digestivo. Todas las demás preparaciones enzimáticas actualmente en el mercado contienen al menos una de estas sustancias de recubrimiento entérico y/u otros aditivos en la preparación. Algunos aditivos que permiten la fabricación, como los aditivos para mejorar las propiedades de flujo, pueden arriesgar aún más la reactividad del paciente o la sensibilidad a la preparación de la enzima.

En una realización, la presente divulgación incluye una preparación y/o compuesto enzimático digestivo recubierto, que, en algunas realizaciones, es una preparación enzimática pancreática/digestiva encapsulada. En otros aspectos, la descripción incluye sistemas de administración de enzimas y composiciones farmacéuticas que comprenden preparaciones enzimáticas pancreáticas/digestivas recubiertas. Estas preparaciones enzimáticas recubiertas o encapsuladas contienen núcleos que comprenden partículas de enzimas pancreáticas o digestivas, y un recubrimiento que comprende un lípido emulsionable.

Los recubrimientos en las preparaciones de enzimas digestivas/pancreáticas crean una barrera para la degradación y desnaturalización, y permiten que niveles más precisos de enzimas activas lleguen a los individuos tratados. El revestimiento lipídico de esta invención proporciona una barrera significativa a la humedad, calor, humedad y exposición a la luz al permitir una barrera física, así como una que previene o reduce la hidrólisis. Las preparaciones enzimáticas recubiertas experimentan menos hidrólisis como resultado de la protección contra la humedad del medio ambiente por el recubrimiento lipídico. Como resultado de la presente invención, se proporcionan enzimas digestivas pancreáticas que pueden tolerar las condiciones de almacenamiento (por ejemplo, humedad, calor, oxígeno, etc.)

durante largos períodos de tiempo, permitiendo así una vida útil prolongada. El revestimiento de la preparación enzimática encapsulada protege la enzima del medio ambiente y proporciona emulsificación en un disolvente sin restar valor a la resistencia a la abrasión del revestimiento. La invención se refiere además a preparaciones enzimáticas más estables.

- 5 Por lo tanto, las preparaciones enzimáticas recubiertas reducen el sobrellenado de la dosificación de la enzima y mejoran la administración de dosis más precisas de la enzima a individuos con autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson, fibrosis quística y otras afecciones o enfermedades neurológicas o conductuales susceptibles de tratamiento con enzimas pancreáticas o digestivas.

10 Además, debido a que los niños y otras personas con autismo y otras afecciones a menudo tienen múltiples sensibilidades a los alimentos, aditivos, colorantes y otros portadores, excipientes o sustancias utilizados en las formulaciones de medicamentos, es un desafío crear un sistema de administración de enzimas que evite el uso de alérgenos y otros portadores, excipientes, extendedores, colorantes, etc., que podrían aumentar los síntomas adversos o la morbilidad de los pacientes. Además, en niños muy pequeños es primordial un sistema de administración de enzimas que permita la facilidad y la tolerabilidad. Hasta ahora no se ha logrado un sistema de suministro de bolsitas para estas preparaciones enzimáticas.

15 Es otro aspecto de la presente invención hacer una preparación enzimática sin el uso de extendedores colorantes, colorantes, potenciadores de flujo y otros aditivos para reducir el potencial de alérgenos y otras reacciones de sensibilidad en niños y otras personas tratadas. Se ha descubierto que, en algunas realizaciones, las enzimas digestivas se pueden encapsular sorprendentemente con un solo excipiente lipídico para mejorar la retención de la actividad enzimática, la facilidad de administración, la tolerabilidad y la seguridad de la administración, entre otras propiedades. Sorprendentemente, las partículas de enzimas digestivas que contienen lipasas se pueden encapsular con éxito con un recubrimiento que consiste esencialmente solo en aceite de soja hidrogenado.

20 Además, las enzimas pancreáticas/digestivas porcinas poseen un olor y sabor significativos, similares a los del cerdo curado/ahumado. Este sabor puede ser fuerte y ofensivo para algunas personas que toman reemplazo de enzimas, y especialmente para los niños. La adición de un recubrimiento lipídico proporciona un enmascaramiento significativo del sabor a la preparación enzimática, lo que permite la tolerancia del sabor, ya que el recubrimiento lipídico es inodoro e insípido. El uso de este método de enmascaramiento del sabor que no implica el uso de color, tintes, perfumes, recipientes u otras sustancias es preferible para la administración de medicamentos, que tienen un sabor y olor desagradable o indeseable. En otras realizaciones, esta invención se refiere a preparaciones enzimáticas digestivas recubiertas con mejor sabor y olor.

25 En algunas realizaciones, los recubrimientos en los núcleos de partículas de enzimas digestivas son preferiblemente recubrimientos continuos. Por "continuo" se entiende que la enzima pancreática/digestiva está protegida por uniformidad. El recubrimiento continuo rodea o encapsula completamente las enzimas pancreáticas/digestivas. La encapsulación proporciona protección de la enzima pancreática/digestiva de condiciones tales como humedad, temperatura y condiciones encontradas durante el almacenamiento.

30 Además, la encapsulación también proporciona la liberación controlada de las enzimas pancreáticas/digestivas. Las propiedades de emulsificación del recubrimiento en un solvente permiten la liberación controlada de la enzima en el sistema gastrointestinal, preferiblemente la región del tracto GI donde se van a utilizar las enzimas. El revestimiento del material compuesto encapsulado protege la enzima del medio ambiente y proporciona emulsificación en un disolvente sin restar valor a la resistencia a la abrasión del revestimiento. Por ejemplo, para afecciones que requieren tratamiento con proteasas, la liberación de la porción de proteasa de las enzimas es necesaria en el intestino delgado proximal, lo que requiere una encapsulación de lípidos que tenga un perfil de disolución entre 30-90 minutos. El perfil de disolución también puede ser de aproximadamente 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 o 90 minutos. Los perfiles de disolución pueden obtenerse usando métodos y condiciones conocidos por los expertos en la materia. Por ejemplo, los perfiles de disolución se pueden determinar a varios pH, incluido el pH. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10.

35 La velocidad de liberación de la sustancia bioactiva también se puede controlar mediante la adición de aditivos como se describe a continuación. Cuando las preparaciones se exponen a un solvente, el solvente interactúa con el lípido moldeable en el recubrimiento y da como resultado la emulsificación del recubrimiento y la liberación de la sustancia bioactiva.

40 "Encapsular" como se usa en el presente documento significa que el recubrimiento rodea completamente las enzimas pancreáticas/digestivas. En una población de partículas encapsuladas, las preparaciones de enzimas encapsuladas pueden incluir una parte contaminante o pequeña de partículas con un recubrimiento sustancialmente continuo siempre que los perfiles de liberación de las partículas encapsuladas no se alteren significativamente. Una partícula recubierta o encapsulada puede contener una o más partículas de enzima digestiva envueltas en un recubrimiento para formar una partícula de enzima digestiva recubierta o encapsulada en la preparación de enzima digestiva recubierta o encapsulada.

45 La presente divulgación también incluye un método para preparar las preparaciones enzimáticas, composiciones farmacéuticas y sistemas de administración para el tratamiento de trastornos neurológicos o conductuales tales como

autismo, TDA, enfermedad de Parkinson de TDAH, fibrosis quística y otras afecciones o enfermedades conductuales o neurológicas. susceptible al tratamiento con enzimas pancreáticas o digestivas. Por "susceptible al tratamiento con enzimas pancreáticas o digestivas" se entiende que uno o más síntomas de la enfermedad o afección se pueden aliviar, tratar o reducir mediante la administración de una cantidad efectiva de enzimas pancreáticas o digestivas.

5 En algunos aspectos, la divulgación se refiere a la producción de preparaciones enzimáticas recubiertas seleccionadas preparadas recubriendo partículas de enzimas digestivas con lípidos no utilizados previamente en preparaciones enzimáticas digestivas recubiertas. Las mezclas únicas de lípidos y enzimas emulsionables pueden administrar ciertos componentes de las enzimas pancreáticas/digestivas en ubicaciones seleccionadas y/o en momentos seleccionados durante el tránsito del tracto gastrointestinal. En algunos aspectos, la divulgación se refiere a métodos para administrar
10 enzimas digestivas a humanos basados en perfiles de disolución.

El lípido emulsionable es cualquier lípido, mezcla de lípidos o mezcla de lípidos y emulsionantes que se emulsiona cuando se expone a un disolvente, y tiene un punto de fusión que permite que el lípido sea sólido a temperaturas de almacenamiento típicas. El lípido emulsionable puede ser un lípido derivado de vegetales o animales. El lípido emulsionable puede consistir esencialmente en, o comprender uno o más monoglicéridos, diglicéridos o triglicéridos,
15 u otros componentes que incluyen, por ejemplo, emulsionantes encontrados en aceites vegetales hidrogenados. En otro ejemplo, el lípido puede ser un lípido no polar.

Como se usa en el presente documento, los lípidos "derivados" animales y/o vegetales pueden incluir grasas y aceites que se originan de fuentes y/o tejidos de plantas o animales, y/o se producen sintéticamente en base a las estructuras de grasas y aceites que se originan de plantas o animales fuentes. El material lipídico puede refinarse, extraerse o purificarse mediante procesos químicos o mecánicos conocidos. Ciertos ácidos grasos presentes en los lípidos, denominados ácidos grasos esenciales, deben estar presentes en la dieta de los mamíferos. El lípido puede, en algunas realizaciones, comprender un aceite vegetal Tipo I USP-National Formulary.

Las enzimas digestivas pueden ser cualquier combinación de enzimas digestivas de un tipo producido por el páncreas, incluidas, entre otras, enzimas digestivas de una fuente pancreática u otras fuentes. El alcance de la invención no se limita a las enzimas pancreáticas de origen porcino, sino que puede ser de otro origen animal o vegetal, así como las que se derivan sintéticamente. La enzima digestiva puede derivarse de fuentes de mamíferos tales como las enzimas digestivas derivadas de porcino. La enzima puede incluir una o más enzimas, y también puede ser derivada de plantas, derivada sintéticamente, producida de forma recombinante en células microbianas, de levadura o de mamífero, y puede incluir una mezcla de enzimas de una o más fuentes. Las enzimas digestivas pueden incluir, por ejemplo, una o más enzimas de más o más fuentes mezcladas entre sí. Esto incluye, por ejemplo, la adición de enzimas digestivas individuales a enzimas digestivas derivadas de fuentes pancreáticas para proporcionar niveles apropiados de enzimas específicas que brinden un tratamiento más efectivo para una enfermedad o afección seleccionada. Se puede obtener una fuente de enzimas digestivas, por ejemplo, de Scientific Protein Laboratories (véase Tabla 6). La enzima digestiva puede ser, por ejemplo, una composición de pancreatina/pancrelipasa. En una realización, las enzimas digestivas comprenderán o consistirán esencialmente en 25 unidades USP/mg de proteasa, 2 unidades USP/mg de lipasa y 25 unidades USP/mg de amilasa. El término enzima digestiva puede referirse a una o más enzimas de un tipo producido por el páncreas.

Las partículas de enzimas digestivas usadas como núcleos en la presente invención incluyen partículas de enzimas digestivas en las que aproximadamente el 90 % de las partículas tienen un tamaño de malla USSS de aproximadamente #40 y #140, o de aproximadamente 105 a 425 µm, o donde al menos aproximadamente el 75 % de las partículas tienen entre aproximadamente el #40 y el #80 de malla, o aproximadamente 180 a 425 µm de tamaño. Las partículas de malla #40 (425 µm) y malla #140 (105 µm) pasan a través de la malla #40 pero no pasan a través de la malla #140. Las partículas de enzimas digestivas recubiertas o encapsuladas en una realización de esta invención pueden comprender menos de aproximadamente 35, 30, 25, 20, 15 o 10 % de las partículas que pueden tamizarse a través de una malla #100 (150 µm). En algunas realizaciones, el término "no aerosolizable" se refiere a una preparación enzimática recubierta o encapsulada donde menos del 20 % o menos del 15 % de las partículas pueden tamizarse a través de una malla #100 (150 µm). La preparación de enzimas digestivas encapsuladas puede ser un compuesto de enzimas digestivas encapsuladas donde las partículas de enzimas digestivas contienen dos o más enzimas.

50 La cantidad mínima de enzima pancreática presente en el núcleo es al menos aproximadamente 5 % de enzimas activas en peso de la preparación enzimática recubierta, pero en otras descripciones puede ser al menos aproximadamente 30 %, o al menos aproximadamente 50 % en peso. La cantidad máxima de enzima pancreática/digestiva presente en el material compuesto es como máximo aproximadamente 95 % en peso, y en otras divulgaciones como máximo aproximadamente 90 %, 85 %, 80 %, 75 % o 70 % de la preparación enzimática recubierta. En otras divulgaciones, la cantidad de enzima pancreática presente en el compuesto es de aproximadamente 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 35 %, 40 %, 45 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 72.5 %, 75 %, 77.5 %, 80 %, 82.5 %, 87.5 %, o 92.5 % en peso o en cualquier punto intermedio. Al menos aproximadamente o como máximo aproximadamente un % de enzima puede incluir igual o aproximadamente ese % de enzima. El término "aproximadamente" incluye igual a, y un rango que tiene en cuenta el error experimental en una medición dada. Como se usa en relación con los tamaños de partícula, el término "aproximadamente" puede referirse a más o menos 10, 9,
60 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 % o en cualquier punto intermedio. Como se usa en relación con el % de partículas que pueden

ser tamizadas, el término "aproximadamente" puede referirse a más o menos 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 % o en cualquier punto intermedio.

La composición que contiene la preparación enzimática digestiva encapsulada o el compuesto puede administrarse en forma de espolvoreado, polvo, cápsula, tableta, gránulo, capsuleta u otra forma. Empaquetar las preparaciones de enzimas encapsuladas en un sistema de administración de enzimas que además comprende preparaciones de espolvoreado en bolsita de dosis única permite una administración fácil y una dosificación precisa de la enzima, al permitir que se entregue una cantidad específica de enzima en cada dosificación. Al permitir la dosificación unitaria específica de una preparación enzimática que mantiene la actividad enzimática dentro de parámetros de estabilidad específicos en una mejora sobre otras formulaciones de rociado, que están alojadas, en una forma de dosificación de unidades múltiples que permite que el aire, la humedad y el calor depreden y desnaturalicen la preparación enzimática. En una realización preferida, el polvo o bolsita se aloja en una bolsa de aluminio trilaminar, o una barrera similar para evitar la humedad y proteger la preparación enzimática de factores ambientales adversos. La invención se refiere además a una mejora en la estabilidad debido a una reducción en la hidrólisis debido a la encapsulación de lípidos.

Además, la metodología de encapsulación de lípidos reduce la aerosolización de la preparación enzimática que puede ser cáustica para el niño si se inhala a través de los pulmones o la nariz. En otra realización, la invención incluye el suministro de enzimas digestivas con una seguridad de administración mejorada, al reducir la cantidad de aerosolización de la enzima. La encapsulación de lípidos reduce la aerolización y el potencial de quemadura cáustica, aspiración y/o neumonías por aspiración en niños y administradores de la preparación enzimática, por lo tanto, reduciendo el potencial de enfermedad en niños ya comprometidos, como aquellos con fibrosis quística, y llevando a una administración más segura.

Como se usa en el presente documento, el término "no aerosolizable" se usará para referirse a una preparación enzimática recubierta o encapsulada donde sustancialmente todas las partículas son lo suficientemente grandes como para eliminar o reducir la aerosolización al verter la preparación enzimática recubierta en comparación con las partículas enzimáticas no recubiertas. Por ejemplo, el término "no aerosolizable" puede referirse a una preparación enzimática recubierta o encapsulada en donde al menos aproximadamente el 90 % de las partículas tienen un tamaño de malla aproximadamente #40 y #140, o entre aproximadamente 106 a 425 μm , o donde al menos aproximadamente el 75 % de las partículas están entre aproximadamente la malla #40 y #80, o aproximadamente 180 a 425 μm . El término "no aerosolizable" también puede referirse a una preparación enzimática recubierta o encapsulada donde menos del 35, 30, 25, 20, 15 o 10 % de las partículas pueden tamizarse a través de una malla #100 (150 μm). En algunas realizaciones, el término "no aerosolizable" se refiere a una preparación enzimática recubierta o encapsulada donde menos del 20 % o menos del 15 % de las partículas pueden tamizarse a través de una malla #100 (150 μm).

Como se describe y se hace referencia en el presente documento, se pueden usar enzimas pancreáticas/digestivas adecuadas y recubrimientos adecuados en las composiciones y métodos descritos en este documento. La elección de enzimas adecuadas y de recubrimientos lipídicos adecuados, incluida la elección del tipo o cantidad de enzimas o recubrimientos, se guía por las necesidades enzimáticas específicas de los individuos y las enfermedades seleccionadas a tratar. Las preparaciones enzimáticas encapsuladas que son un aspecto de esta invención no se han descrito previamente.

En algunas realizaciones, la invención se refiere a mezclas específicas de enzimas y lípidos seleccionados para administración en individuos con enfermedad de Parkinson, TDA, TDAH, autismo, fibrosis quística y otros trastornos neurológicos y conductuales susceptibles de tratamiento con enzimas digestivas/pancreáticas basadas en los tiempos de tránsito en el tracto gastrointestinal humano. Además, puede basarse en la necesidad del paciente de ser tratado por varios componentes de las enzimas digestivas. Además, la invención se refiere a la mejora del suministro de enzimas digestivas a los humanos basándose específicamente en los tiempos de suministro requeridos y los perfiles de disolución.

Aunque se han descrito métodos generales para recubrir ciertas sustancias biológicas sensibles, véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos No. 6,251,478, la sustancia bioactiva encapsulada de esta invención es una preparación enzimática que comprende un núcleo que contiene enzimas digestivas que comprende o consiste en múltiples proteasas, lipasas y amilasas, y un recubrimiento que comprende o consiste esencialmente en un lípido emulsionable, en el que el lípido es un aceite de soja hidrogenado.

Los aditivos se pueden mezclar con el lípido emulsionable. La selección de los lípidos y aditivos controlará la velocidad de liberación de la sustancia bioactiva. En el caso de las enzimas digestivas y/o pancreáticas, la capa de lípidos debe elegirse de manera única para liberar la sustancia bioactiva en el área del tracto digestivo seleccionada para su liberación para optimizar el tratamiento.

La invención se refiere además a la administración de la preparación enzimática recubierta y/o encapsulada en una preparación de bolsita o bolsa para facilitar la administración a niños y adultos. En algunas realizaciones, la invención se refiere específicamente a la administración de una preparación de partículas enzimáticas recubiertas, alojada en una bolsita o bolsa. Esto facilita la administración, incluida, entre otras, la administración en alimentos o bebidas, la administración directa en la cavidad oral o la administración directamente en el sistema GI a través de un tubo NG, tubo G u otras entradas o administración GI.

5 En algunas realizaciones, cada dosis contiene aproximadamente 100 a 1500 mg de preparación enzimática recubierta o encapsulada, y cada dosis puede contener aproximadamente 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450 o 1500 mg de preparación enzimática recubierta o encapsulada. "Acerca de" puede incluir del 80 al 125 % de la preparación recitada. Cada dosis también puede ser más o menos 10 % del peso recitado. En una realización, cada uno tendrá una actividad de proteasa de no menos de aproximadamente 156 unidades USP/mg más o menos 10 %. La actividad de proteasa también puede ser no menor de aproximadamente 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, o 200 unidades USP/mg.

10 En otros ejemplos, la divulgación se refiere a métodos de tratamiento que comprenden administrar a un sujeto con autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson, fibrosis quística u otra afección conductual o neurológica susceptible de tratamiento con enzimas digestivas, al menos dos dosis de una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de las preparaciones enzimáticas digestivas recubiertas. En ciertos casos, aproximadamente el 80 % de la enzima se libera en aproximadamente 30 minutos en una prueba de disolución realizada a pH 6.0. En otros casos, aproximadamente el 80 % de la enzima se libera aproximadamente 30 minutos después de que las preparaciones de enzimas digestivas recubiertas lleguen al intestino delgado.

15 Otra realización de la invención se refiere a la mejora del suministro de enzimas a los humanos al reducir el uso de excipientes, extendedores y disolventes utilizados actualmente en las preparaciones para el suministro de enzimas digestivas a los humanos. Por ejemplo, la preparación de enzimas digestivas encapsuladas puede contener solo un excipiente, aceite de soja hidrogenado, lo que aumenta la seguridad de la administración al disminuir la posibilidad de una respuesta alérgica.

20 Debido a que, en algunas realizaciones, el método de encapsulación de lípidos no requiere que la preparación enzimática se trate con solventes, extensores y excipientes para facilitar el flujo o mejorar la estabilidad, un aspecto de la invención incluye una preparación "limpia" de sustancias GRAS (generalmente consideradas como seguras) para ser administrada. La reducción en el uso de solventes, excipientes extendedores y otros aditivos permitidos por los métodos de esta invención reduce la exposición de los individuos que toman el reemplazo enzimático a alérgenos potenciales, produciendo así una preparación enzimática hipoalérgica que mejora aún más sus usos potenciales en el tratamiento de individuos que de otra manera podrían desarrollar una respuesta alérgica al tratamiento. La administración de las preparaciones enzimáticas recubiertas de esta invención puede reducir así la exposición a sustancias potencialmente tóxicas y también reducirá la posibilidad de formación de alergias. En consecuencia, en algunas realizaciones, la preparación de enzimas digestivas encapsuladas es hipoalérgica.

25 La invención se refiere además en otro aspecto al suministro de enzimas digestivas con una seguridad de administración mejorada. La capa de lípidos agrega peso a la preparación de la enzima, lo que reduce el potencial de aerosolización. Se ha demostrado que las enzimas no recubiertas anteriores se aerosolizan y, por lo tanto, pueden inhalarse y ponerse en contacto con la cavidad nasal o los pulmones, causando lesiones en la mucosa de los que toman y los que administran la preparación de la enzima.

30 La divulgación se refiere además a la mejora de administrar una preparación de bolsita para el suministro a niños. La divulgación se refiere específicamente a la administración de una preparación enzimática digestiva recubierta, alojada en una bolsita que permite tipos particulares de administración que incluyen, entre otros, la administración en alimentos, bebidas o administración directa en la cavidad oral o directamente en el sistema GI a través de un tubo NG, tubo G u otras entradas GI. Hasta ahora, el uso de un suministro de enzimas en bolsitas no se ha utilizado en las preparaciones enzimáticas actualmente comercializadas. La bolsita, que representa una unidad, dosis o dosis múltiples durante un día, y representa una dosis unitaria única. La bolsita de una hoja trilaminar permite que el polvo de enzimas/lípidos permanezca estable y facilita la administración.

35 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un método para controlar la velocidad de liberación de la enzima pancreática/digestiva desde una preparación enzimática encapsulada tras la exposición a un disolvente. En algunos aspectos, el método comprende mezclar un lípido emulsionable con una cantidad de uno o más aditivos para obtener una mezcla de lípidos; y recubrir la partícula de enzima digestiva con la mezcla para formar una preparación de enzima digestiva encapsulada que contiene partículas que comprenden un núcleo que contiene la enzima y un recubrimiento que contiene el lípido. En algunas realizaciones, el lípido emulsionable es una mezcla en donde el lípido emulsionable y el aditivo no son iguales, y donde la velocidad de liberación de las enzimas del compuesto encapsulado tras la exposición a un disolvente disminuye a medida que aumenta la cantidad de aditivo. Como alternativa, la velocidad de liberación de las enzimas del compuesto encapsulado tras la exposición a un disolvente aumenta a medida que disminuye la cantidad de aditivo.

40 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un método para controlar la velocidad de liberación de la enzima pancreática/digestiva desde una preparación enzimática encapsulada tras la exposición a un disolvente. En algunos aspectos, el método comprende mezclar un lípido emulsionable con una cantidad de uno o más aditivos para obtener una mezcla de lípidos; y recubrir la partícula de enzima digestiva con la mezcla para formar una preparación de enzima digestiva encapsulada que contiene partículas que comprenden un núcleo que contiene la enzima y un recubrimiento que contiene el lípido. En algunas realizaciones, el lípido emulsionable es una mezcla en donde el lípido emulsionable y el aditivo no son iguales, y donde la velocidad de liberación de las enzimas del compuesto encapsulado tras la exposición a un disolvente disminuye a medida que aumenta la cantidad de aditivo. Como alternativa, la velocidad de liberación de las enzimas del compuesto encapsulado tras la exposición a un disolvente aumenta a medida que disminuye la cantidad de aditivo.

45 El recubrimiento con lípidos sorprendentemente no parece estar reducido o destruido por el HCl (ácido clorhídrico) presente en el estómago, protegiendo así la enzima de la degradación después de la administración hasta que la preparación de la enzima alcanza su región objetivo en el tracto GI. Además, la capa lipídica reduce la exposición de la enzima al ataque del agua, lo que reduce la hidrólisis y protege aún más las enzimas digestivas de la degradación. Además, los inventores han descubierto que un excipiente que contiene solo lípidos puede usarse para recubrir o encapsular partículas de enzimas digestivas que contienen lipasa.

5 El uso de enzimas digestivas para el tratamiento de objetivos específicos de enfermedades se hace posible, en un aspecto, preparando un compuesto de enzimas digestivas encapsuladas que tiene diferentes características de liberación. Dado que varias enfermedades neurológicas y del comportamiento pueden afectar los sistemas gastrointestinales en humanos de varias maneras, el uso de preparaciones enzimáticas específicas y la consiguiente encapsulación pueden marcar la diferencia en cuanto a dónde y durante cuánto tiempo se administra la preparación enzimática.

10 Por lo tanto, la invención se refiere a la mejora del suministro de enzimas digestivas a humanos basándose específicamente en los tiempos de suministro necesarios y los perfiles de disolución. Por ejemplo, en ciertos aspectos de la invención, las características de velocidad de liberación y disolución son exclusivas de las encapsulaciones de lípidos de esta invención. La preparación de enzimas digestivas recubiertas usando enzimas y lípidos seleccionados para optimizar el tratamiento de afecciones conductuales y neurológicas y enfermedades susceptibles de tratamiento con enzimas digestivas no se ha descrito previamente.

15 Como ejemplo, los recubrimientos entéricos previos para enzimas digestivas y pancreáticas han retrasado la liberación de la mezcla enzimática durante un período de tiempo demasiado largo para el suministro de la porción de proteasa al intestino delgado proximal. Por ejemplo, en la administración a pacientes con fibrosis quística donde se requiere el suministro de lipasa para un tratamiento efectivo, el perfil de disolución de las enzimas digestivas con recubrimiento entérico debe favorecer un retraso más prolongado en la liberación de las enzimas, así como el suministro de un alta formulación de lipasa.

20 Antes de la presente invención, la encapsulación de lípidos no se había utilizado como un mecanismo retardado y/o protector para el suministro de lipasa para tratar a individuos con fibrosis quística.

25 Los inventores han reconocido además que para el tratamiento de pacientes con autismo que requieren la administración de enzimas proteasas para un tratamiento eficaz, el encapsulado de lípidos puede modificarse para administrar la proteasa durante una ventana de tiempo de tránsito anterior, en el intestino delgado proximal, para optimizar digestión de proteínas. En otro ejemplo, los inventores han reconocido que para los pacientes con enfermedad de Parkinson que tienen tiempos de tránsito gastrointestinal lentos debido a la naturaleza disautonómica de su afección neurológica, se necesita otro perfil de liberación para administrar enzimas para un tratamiento efectivo. La selección de lípidos y/o aditivos se realizará para obtener la liberación de enzimas en momentos posteriores después de la administración.

30 No se ha apreciado previamente que los tiempos de tránsito para las enzimas digestivas a través del sistema digestivo podrían controlarse mediante la formación de capas de lípidos, o mediante la encapsulación con tipos específicos de lípidos. En otro aspecto más, esta divulgación se refiere a una combinación seleccionada de enzimas y lípidos para el suministro en individuos con enfermedad de Parkinson, TDA, TDAH, autismo y fibrosis quística y otras enfermedades o afecciones conductuales o neurológicas susceptibles de tratamiento con enzimas pancreáticas/digestivas, basado en los tiempos de tránsito en los sistemas gastrointestinales de los humanos.

35 La invención se refiere además a una mejora en la fabricación debido a las propiedades mejoradas de flujo impartidas por la encapsulación de lípidos. La mejora en la fabricación también se puede lograr a través de la encapsulación de lípidos de una enzima pancreática/digestiva debido a la barrera lipídica a la humedad, lo que permite un mejor flujo en la maquinaria de empaquetado. Las cualidades de flujo mejoradas pueden facilitar el empaquetado de las preparaciones de enzimas digestivas recubiertas en, por ejemplo, bolsas o bolsitas.

40 En un aspecto, esta divulgación se relaciona con el uso de un método de encapsulación de lípidos para preparar una preparación enzimática digestiva recubierta para tiempos de administración específicos dentro del tracto gastrointestinal (GI) humano para uso en el tratamiento de una enfermedad o afección específica. Esta enfermedad o afección puede ser causada o caracterizada por un déficit digestivo que puede tratarse mediante la administración de enzimas digestivas en la región apropiada del tracto gastrointestinal. La enfermedad o afección neurológica o conductual no se asocia tradicionalmente con el sistema digestivo, donde uno o más síntomas pueden tratarse mediante la administración de una cantidad efectiva de una preparación de enzimas pancreáticas y/o digestivas.

45 Por lo tanto, la presente especificación está dirigida a la encapsulación de lípidos de enzimas específicas dirigidas para su uso en el tratamiento de enfermedades específicas, y el método de encapsulación incluye la cantidad y tipo de lípidos utilizados en los métodos descritos aquí para la preparación del compuesto de enzima digestiva encapsulada. La presente divulgación también se refiere a métodos para preparar las preparaciones enzimáticas mediante recubrimiento con lípidos y/o encapsulación de enzimas pancreáticas y/o digestivas. Los métodos comprenden proporcionar un lípido emulsionable y recubrir partículas de enzimas pancreáticas/digestivas con el lípido, donde las enzimas pancreáticas/digestivas comprenden 5-90 % en peso de las preparaciones enzimáticas recubiertas. En algunos aspectos, las partículas de enzimas pancreáticas/digestivas no revestidas tienen un rango de tamaño de

50

55 aproximadamente 105-425 µm.

En un ejemplo, la divulgación se refiere a un método para preparar una preparación de enzimas digestivas encapsuladas, comprendiendo el método a) cribar partículas de enzimas digestivas no recubiertas para obtener partículas de un tamaño adecuado para la encapsulación; y b) recubrir las partículas de enzimas digestivas

seleccionadas con un lípido emulsionable para formar enzimas digestivas recubiertas o encapsuladas que contienen un núcleo que contiene la enzima pancreática/digestiva y un recubrimiento que contiene el lípido emulsionable. La preparación de enzima digestiva encapsulada puede ser una preparación de enzima digestiva de liberación controlada, que puede tener propiedades de flujo mejoradas. Las preparaciones pueden ser útiles en el tratamiento de individuos con autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson, fibrosis quística y otras afecciones neurológicas.

El cribado de las partículas puede incluir pasos de control de calidad para mejorar la actividad, la apariencia o el tamaño de partícula de la enzima digestiva. Por ejemplo, las partículas pueden analizarse para determinar el contenido de actividad enzimática y/o visualizarse usando métodos cromatográficos, microscópicos u otros métodos analíticos. Las partículas también pueden seleccionarse para obtener partículas de un tamaño adecuado para la encapsulación mediante la eliminación de partículas que son demasiado finas o demasiado grandes. Por ejemplo, las partículas pueden tamizarse para obtener partículas de un tamaño adecuado o un rango de tamaño más uniforme para la encapsulación. Como otro ejemplo, las partículas pueden tamizarse a través de la malla USSS #40 (425 µm) y a través de la malla USSS #140 (105 µm). Las partículas que pasan a través de la malla #40 pero son retenidas por la malla #140 son de un rango de tamaño apropiado para recubrimiento o encapsulación. Las partículas también se pueden cribar tamizando a través de malla USSS #140, #120, #100, #80, #70, #60, #50, #45 o #40 (es decir, 105 µm, 125 µm, 150 µm, 180 µm, 212 µm, 250 µm, 300 µm, 355 µm o 425 µm), o cualquier combinación de los mismos.

Las preparaciones enzimáticas suministradas por el proveedor de API pueden proporcionarse como partículas de forma irregular y de varios tamaños, con bordes irregulares y mucha aglomeración, y que contienen algunas partículas de sal cristalina. (Ver, por ejemplo, la Figura 1). El tamaño y la forma desiguales de las partículas reducen las propiedades de flujo e interfieren con el empaquetado. Además, verter la enzima no recubierta en la boca de un individuo sería difícil, y potencialmente puede causar que se administre demasiado o muy poco de la enzima. El procesamiento de las partículas de enzimas digestivas de acuerdo con los métodos de acuerdo con un aspecto de esta invención produce una preparación de partículas de flujo libre, no polvorienta, adecuada para el empaquetado de bolsitas y para verter en alimentos o bebidas. Además, como se discutió en su totalidad, el uso de la encapsulación de lípidos para evitar la aerosolización y, por lo tanto, aumentar la seguridad, para aumentar las propiedades de flujo que mejoran la fabricación de un producto farmacéutico es una realización de la presente invención.

La distribución del tamaño de las partículas en una preparación de enzima cruda de ejemplo se muestra en el gráfico de la Figura 3. Las partículas grandes (>40 malla, 425 µm) y partículas muy pequeñas (<40 malla, 105 µm) generalmente no son adecuadas para una encapsulación adecuada y puede eliminarse mediante detección. Para aumentar las propiedades de flujo de la preparación de enzimas pancreáticas encapsuladas, las partículas de enzimas digestivas se pueden tamizar para eliminar partículas finas y partículas demasiado grandes, por ejemplo, incluyendo solo partículas de tamaños de malla 40-140, o aproximadamente 105 a 425 micras. En algunas realizaciones, la preparación de enzima digestiva recubierta que contiene 80 % de enzima digestiva en peso se prepara recubriendo partículas tamizadas de enzima pancreática con un aceite vegetal hidrogenado usando 20 libras de partículas enzimáticas y 5 libras de aceite vegetal hidrogenado.

La temperatura de los lípidos o la mezcla de lípidos se puede mantener a 110°F antes de la aplicación a las enzimas digestivas, que no son calentadas.

En algunos casos descritos aquí, el lípido debe estar presente en la preparación en una cantidad mínima de aproximadamente 5 % en peso del compuesto encapsulado, preferiblemente aproximadamente 30 %, y más preferiblemente aproximadamente 50 % en peso del compuesto encapsulado. La cantidad máxima de enzima pancreática/digestiva presente en el material compuesto encapsulado es aproximadamente el 95 % en peso del material compuesto, preferiblemente aproximadamente el 90 %, y más preferiblemente aproximadamente el 85 % del material compuesto encapsulado. El lípido emulsionable puede ser cualquier material lipídico o derivado de lípidos que emulsiona o crea una emulsión, pero tiene un punto de fusión que permite que el lípido emulsionable sea sólido a temperaturas de almacenamiento típicas, por ejemplo, 23 grados centígrados.

Los "lípidos emulsionables" tal como se usan en el presente documento significa aquellos lípidos que contienen al menos un grupo hidrófilo y al menos un grupo hidrófobo, y tienen una estructura capaz de formar una interfaz hidrófila e hidrófoba. Estas propiedades químicas y/o físicas, mencionadas anteriormente, de un lípido emulsionable permiten la emulsificación. Ejemplos de interfaces incluyen, por ejemplo, micelas y bicapas. El grupo hidrofílico puede ser un grupo polar y puede estar cargado o no.

El lípido emulsionable puede derivarse de orígenes animales o vegetales, tales como, por ejemplo, aceite de almendra de palma, aceite de soja, aceite de semilla de algodón, aceite de canola y grasa de aves, incluidos aceites vegetales hidrogenados de tipo I. Según la invención, el lípido es aceite de soja hidrogenado. El lípido también puede estar saturado o parcialmente saturado. Ejemplos de lípidos emulsionables incluyen, pero no se limitan a, monoglicéridos, diglicéridos, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, fosfolípidos, sales de los mismos y combinaciones de los mismos.

El lípido emulsionable es preferiblemente un lípido emulsionable de calidad alimentaria. Algunos ejemplos de lípidos emulsionables de grado alimenticio incluyen monoestearatos de sorbitán, triestearatos de sorbitán, y estearoil lactilatos de calcio. Ejemplos de ésteres de ácido graso de grado alimenticio que son lípidos emulsionables incluyen ésteres de

ácido acético de mono y diglicéridos, ésteres de ácido cítrico de mono y diglicéridos, ésteres de ácido láctico de mono y diglicéridos, ésteres de poliglicerol de ácidos grasos, propileno, ésteres de glicol de ácidos grasos y ésteres de ácido diacetil tartárico de mono y diglicéridos. Los lípidos pueden incluir, por ejemplo, aceite de soja hidrogenado.

5 Se puede usar cualquier lípido emulsionable en los métodos y productos descritos en este documento. En ciertas realizaciones, el lípido emulsionable usado producirá partículas de preparación enzimática no aglomerante, no aerosolizante.

10 En otras divulgaciones, el método se refiere a la preparación de una preparación enzimática digestiva encapsulada de liberación controlada con propiedades de flujo mejoradas útiles en el tratamiento de individuos con autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson, fibrosis quística y otras afecciones neurológicas, la método que comprende: a) mezclar un lípido emulsionable con uno o más aditivos para obtener una mezcla; y b) recubrir la enzima digestiva tamizada con la mezcla para formar una enzima digestiva encapsulada que contiene un núcleo que contiene la enzima digestiva y un recubrimiento que contiene la mezcla de lípidos emulsionables.

15 El recubrimiento de la enzima con el lípido, como se muestra en la Figura 2, permite que la enzima se vuelva más uniforme en tamaño y forma, pero reduce los bordes dentados asociados con la enzima cruda, y permite una fácil administración y la facilidad de fabricación, ya que las propiedades de flujo asociadas con la enzima cubierta permitirán que la maquinaria de fabricación llene fácilmente la bolsita/bolsa con la enzima y reduzca el sobrellenado o el llenado insuficiente de la bolsita. El paquete de dosis unitarias reduce la capacidad del niño para abrir la lata/caja/u otro recipiente multidosis. La bolsa o bolsita de aluminio trilaminar reduce aún más la capacidad de un niño para abrir la bolsita/bolsa y utilizar en exceso la enzima.

20 En otro ejemplo, la divulgación se refiere a un método para controlar la velocidad de liberación de una enzima digestiva desde la preparación encapsulada usando una mezcla de lípidos para recubrir la enzima digestiva. El método incluye mezclar un lípido emulsionable con uno o más aditivos para obtener una mezcla, y recubrir la enzima digestiva con la mezcla para formar una enzima digestiva encapsulada que contiene un núcleo que contiene la enzima digestiva y un recubrimiento que contiene la mezcla de lípido emulsionable. La velocidad de liberación de la enzima de la preparación encapsulada tras la exposición con un disolvente disminuye a medida que aumenta la cantidad de aditivo. Como alternativa, la velocidad de liberación de la enzima del compuesto encapsulado tras la exposición con un disolvente aumenta a medida que disminuye la cantidad de aditivo. Por lo tanto, la naturaleza del recubrimiento permite la liberación controlada de la enzima desde el encapsulado.

30 Los lípidos no emulsionables no poseen las propiedades químicas y/o físicas relacionadas con la emulsificación como se describió anteriormente e incluyen cualquier lípido, material derivado de lípidos, ceras, ésteres orgánicos o combinaciones de los mismos. Los lípidos no emulsionables generalmente no se emulsionan por sí mismos. Los lípidos no emulsionables pueden usarse como aditivos siempre que las propiedades del recubrimiento y los lípidos constituyentes permitan la emulsificación. Los lípidos no emulsionables, como, por ejemplo, los triglicéridos, se pueden mezclar con un lípido emulsionable. El lípido no emulsionable puede derivarse de animales, vegetales, minerales o de origen sintético. El lípido no emulsionable está preferiblemente hidrogenado, y puede estar saturado o parcialmente saturado, e incluye, pero no está limitado a triglicéridos. En un aspecto, el recubrimiento contiene una mezcla de monoglicéridos y triglicéridos aplicados a una enzima pancreática/digestiva.

40 La inclusión de uno o más aditivos con un lípido emulsionable se usa para controlar la emulsificación del recubrimiento y la liberación de la enzima. Por ejemplo, el aditivo, triglicéridos, se puede mezclar con monoglicéridos (por ejemplo, un lípido emulsionable), para controlar la emulsificación del recubrimiento y, por lo tanto, controlar (por ejemplo, disminuir) la velocidad de liberación de la enzima del compuesto. Como otro ejemplo, uno o más aditivos, tales como un diglicérido y un triglicérido se pueden mezclar con el lípido emulsionable para controlar la velocidad de liberación de la enzima. Los aceites vegetales hidrogenados pueden contener agentes emulsionantes, como la lecitina de soja u otros componentes.

45 Se pueden considerar propiedades que incluyen resistencia mecánica, punto de fusión e hidrofobicidad al elegir un recubrimiento lipídico adecuado para la enzima digestiva. Los lípidos que tienen puntos de fusión más bajos o propiedades hidrofílicas más polares generalmente eran menos adecuados para la encapsulación porque daban como resultado un producto que se aglomeraría en condiciones de estabilidad de almacenamiento aceleradas. Las preparaciones enzimáticas realizadas utilizando, por ejemplo, aceite de soja hidrogenado, cera de ricino hidrogenada y cera de carnauba, demostraron un buen vertido y no se aglomeraron.

La cera puede ser cera de parafina; una cera de petróleo; una cera mineral tal como ozokerita, cerasina o cera de montan; una cera vegetal tal como, por ejemplo, cera carnauba, cera de arrayán o cera de lino; una cera animal tal como, por ejemplo, espermaceti; o una cera de insectos como la cera de abejas.

55 Además, el material de cera puede ser un éster de un ácido graso que tiene de 12 a 31 átomos de carbono y un alcohol graso que tiene de 12 a 31 átomos de carbono, teniendo el éster un contenido de átomos de carbono de 24 a 62, o una mezcla de los mismos. Ejemplos incluyen palmitato de mirilo, palmitato de cetilo, cerotato de mirilo, miristato de cetilo, palmitato de cerilo, cerotato de cerilo, melisato de mirilo, palmitato de estearilo, miristato de estearilo y laurato de laurilo.

5 En otro ejemplo, la divulgación proporciona un método para controlar la velocidad de liberación de una enzima pancreática/digestiva de un compuesto encapsulado tras la exposición a un disolvente. El método incluye recubrir la enzima con una cantidad de lípido emulsionable para formar un compuesto de sustancia enzimática pancreática encapsulada, en el que la velocidad de liberación de la enzima desde el compuesto encapsulado disminuye a medida que se incrementa la cantidad de lípido emulsionable con base en el peso total del compuesto. Como alternativa, la velocidad de liberación de la enzima pancreática del material compuesto encapsulado aumenta a medida que disminuye la cantidad de lípidos emulsionables en función del peso total del material compuesto encapsulado. El lípido emulsionable útil en este ejemplo puede consistir esencialmente en uno o más monoglicéridos.

10 El disolvente en el que se emulsiona un lípido puede ser un disolvente acuoso. El disolvente acuoso interactúa con los grupos hidrófilos presentes en el lípido emulsionable e interrumpe la continuidad del recubrimiento, lo que resulta en una emulsión entre el disolvente acuoso y los lípidos en el recubrimiento, liberando así la sustancia bioactiva de los compuestos.

15 Los métodos de la presente memoria, utilizados para encapsular núcleos de enzimas pancreáticas o digestivas para el tratamiento de afecciones o trastornos neurológicos, no se han descrito previamente. Los métodos para la encapsulación de lípidos de medicamentos para consumo humano que tienen las características de un medicamento de liberación prolongada y que utilizan la encapsulación de lípidos para la estabilidad no se han descrito previamente. Antes de los experimentos descritos en este documento, no existía un protocolo publicado que permitiera la preparación de una preparación enzimática encapsulada que comprende un recubrimiento con lípidos emulsionables y una enzima digestiva adecuada para la liberación dirigida específica de tiempo y/o sitio a lo largo del tracto GI para el tratamiento del autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson y otras afecciones neurológicas o conductuales susceptibles de tratamiento con enzimas digestivas.

25 Los aspectos y las realizaciones de la divulgación instantánea se derivan del descubrimiento sorprendente e inesperado de que ciertas preparaciones de dosificación farmacéutica que comprenden un recubrimiento con lípidos emulsionables y una enzima digestiva pueden tener una actividad potenciada novedosa y perfiles de liberación y disolución favorables inesperados y parámetros cinéticos de absorción a lo largo de varias porciones del tracto gastrointestinal. Estas características son útiles para formular una enzima bioactiva específica para la liberación dirigida específica del sitio a lo largo del tracto gastrointestinal para el tratamiento del autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson y otras afecciones neurológicas.

30 La determinación de si un sujeto necesita tratamiento con una cantidad efectiva de enzimas digestivas puede basarse en una determinación de que el sujeto tiene una deficiencia enzimática.

35 En un aspecto de la divulgación, el método comprende usar las formulaciones enzimáticas de esta invención para tratar a niños y otras personas con autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson y otras enfermedades o afecciones neurológicas, que también tienen una deficiencia enzimática. La deficiencia enzimática podría determinarse mediante cualquier método utilizado para determinar o diagnosticar una deficiencia enzimática. En un aspecto, la determinación o el diagnóstico pueden hacerse evaluando los síntomas, incluidos los hábitos alimentarios, las restricciones dietéticas autoimpuestas, los síntomas de los trastornos alimentarios y/o los trastornos gastrointestinales. En otros aspectos, la determinación puede hacerse sobre la base de una prueba bioquímica para detectar, por ejemplo, niveles o actividades de enzimas secretadas, excretadas o presentes en el tracto gastrointestinal, y/o determinando la presencia de una mutación en un gen o expresión aberrante de un gen que codifica una o más enzimas digestivas. La deficiencia enzimática también puede determinarse, por ejemplo, detectando una mutación o expresión aberrante de un gen que codifica un producto que regula o afecta de otro modo la expresión o actividad de una o más enzimas digestivas.

45 En algunos aspectos, el individuo por tratar también puede analizarse para detectar la presencia de una comorbilidad, que es una comorbilidad que no afecta la actividad o la expresión de una enzima digestiva. En ciertos aspectos, las personas que están determinadas a tener autismo basándose en síntomas clínicos, pero no en una comorbilidad tal como una comorbilidad genética, son tratadas con los sistemas de administración de enzimas descritos aquí. Sin embargo, las personas que están determinadas a tener autismo en función de los síntomas clínicos y una comorbilidad, que sin embargo también tienen un nivel anormalmente bajo de FCT o positivo usando otro indicador de patógenos gastrointestinales y/o baja actividad o expresión de enzimas digestivas también pueden ser tratados con los sistemas de suministro de enzimas de esta invención.

50 Las siguientes comorbilidades se exponen como comorbilidades de ejemplo:

X frágil

Síndrome de Hallermann-Streiff

Trisomía 21

translocación en 9

55 Síndrome de Beckwith-Wiedemann

- Trisomía 21
- Trisomía 18
- Síndrome de Rubinstein-Taybi
- X frágil
- 5 Síndrome de Prader-Willi
- Trisomía 21
- Síndrome de Rett
- Síndrome de Klippel-Feil
- Síndrome de Rett
- 10 Distrofia muscular de Duchenne
- Síndrome de Tourette
- Accidente cerebrovascular en el útero
- Trisomía 21
- X frágil
- 15 RA juvenil
- Accidente cerebrovascular en el útero
- Trisomía 6
- Distrofia muscular de Duchenne
- Diabetes juvenil
- 20 Diabetes tipo I
- Adrenoleucodistrofia
- Enfermedad de Wilson
- Accidente cerebrovascular en el útero
- Diabetes tipo I
- 25 Síndrome de Prader-Willi
- 22q13
- Síndrome de Tourette
- Lisencefalia
- Síndrome de inmunodeficiencia de neutrófilos
- 30 Diabetes tipo I
- Síndrome de Tourette
- Tetrasomía 18p
- Síndrome de hiper IgE
- Síndrome de Angelman
- 35 Diabetes tipo I
- Síndrome de Rett
- X frágil

Síndrome de Marfan

Síndrome de Waardenburg

Deficiencia de glutatión sintetasa

Diabetes tipo I

5 Rubinstein-Taybi

Síndrome de Angelman

Síndrome de Klinefelter

Sangrado cerebral al nacer

Síndrome de Turner

10 Hipotiroidismo

Diabetes tipo I

Daño cerebral de premadurez

15 En un aspecto, la determinación de una deficiencia enzimática se puede hacer usando una prueba para los niveles de quimotripsina fecal. Se pueden usar métodos tales como PCR u otra amplificación, detección de SNP, secuenciación y/o peinado de ADN para detectar la presencia de una mutación o la presencia de secuencias cortas de ARN que interfieren con la expresión de uno o más genes que codifican una enzima digestiva. Por ejemplo, la mutación puede estar en un gen que codifica una enzima digestiva que disminuye o elimina la actividad de la enzima. Como otro ejemplo, la mutación puede ser una mutación en el gen MET, un gen que codifica la tirosina quinasa del receptor MET pleiotrópico Véase Campbell et al., PNAS 103(46), 16834-39 (2006). Estas mutaciones pueden incluir, por ejemplo, el alelo variante rs1858830 C del promotor MET, y/o mutaciones en la vía de señalización MET, como un haplotipo del gen SERPINE1, o el alelo T variante del promotor PLAUR rs 344781.

20 Las formulaciones enzimáticas de esta invención son adecuadas para su uso en el suministro de enzimas digestivas a individuos con autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson y otras enfermedades o afecciones neurológicas que necesitan tratamiento enzimático. Fallon ha descrito ciertos métodos y composiciones enzimáticas para su uso en el tratamiento de niños y otras personas, con autismo, TDA, TDAH, enfermedad de Parkinson y otras enfermedades o afecciones neurológicas, por ejemplo, las Patentes Estadounidenses Nos. 7,138,123, 6,660,831, 6,632,429, 6,534,063.

25 La presente invención se describirá ahora más completamente con referencia a las figuras y ejemplos que se acompañan, que están destinados a ser leídos junto con este resumen, la descripción detallada y cualquier realización preferida y/o particular específicamente discutida o divulgada de otra manera. Sin embargo, esta invención puede realizarse de muchas formas diferentes y no debe interpretarse como limitada a las realizaciones establecidas en el presente documento; más bien, estas realizaciones se proporcionan solo a modo de ilustración y de modo que esta divulgación será exhaustiva, completa y transmitirá completamente el alcance completo de la invención a los expertos en la materia.

30 En los experimentos descritos en este documento, se descubrieron varios factores que permitieron la eficacia y propiedad inesperada mejorada/potenciada. Por ejemplo, se descubrió que ciertas preparaciones enzimáticas de encapsulación que comprenden aceite de soja exhibían ciertas características sorprendentes que condujeron a mejoras en la actividad específica del sitio, el perfil de liberación/disolución y la facilidad de fabricación, empaquetado y almacenamiento. Sin estar vinculados a una teoría particular de operación, los expertos en la técnica apreciarán que también se contemplan en el presente documento otros métodos de preparación y/o formulación de muestras que también pueden producir estos parámetros ventajosos.

35 Los siguientes experimentos describen procedimientos de ejemplo de acuerdo con la invención. Debe entenderse que estos experimentos y los resultados correspondientes se exponen solo a modo de ilustración, y nada debe ser interpretado como una limitación en el alcance general de la invención. A modo de ejemplo, estos estudios demuestran algunas de las mejoras inesperadas realizadas por las preparaciones enzimáticas encapsuladas de ejemplo de la presente divulgación.

Ejemplo 1: Propiedades de flujo aumentadas y posibilidad de una preparación de enzimas digestivas encapsuladas de ejemplo

45 Antes de que se apliquen los métodos y preparaciones de ejemplo de la presente divulgación, el examen de una preparación enzimática cruda no procesada (Scientific Protein Laboratories (SPL) de Waukegan, WI) reveló que contenía una variabilidad significativa en el tamaño de partícula y la morfología irregular, como se muestra en una

5 micrografía electrónica de las partículas como se muestra en la Figura 1. Algunas partículas de sal cristalina también son visibles. La enzima cruda no se vierte ya que se aglomera y es difícil de medir debido a las superficies irregulares y los bordes irregulares. La preparación cruda tampoco es adecuada para la encapsulación de lípidos sin un procesamiento adicional porque el producto crudo contiene partículas demasiado grandes y demasiado pequeñas para una encapsulación adecuada. La enzima tamizada, aunque es más uniforme en tamaño, continúa exhibiendo superficies desiguales y grumos mientras se vierte.

La figura 2 muestra la preparación enzimática recubierta producida después del tamizado y recubrimiento lipídico de la materia prima. En este ejemplo, la morfología de las partículas mejora significativamente, con superficies más redondeadas. Esto conduce a un producto no pulverulento con buen flujo y propiedades organolépticas.

10 La morfología de la enzima ahora mejora enormemente debido al redondeo de las superficies, lo que conduce a un producto que es menos pulverulento, no se aerosoliza y tiene buen flujo y mejores propiedades organolépticas.

15 La distribución del tamaño de las partículas en la preparación enzimática cruda se muestra en el gráfico de la Figura 3. En general, las partículas grandes (>40 malla, 425 µm) y las partículas muy pequeñas (<140 malla, 105 µm) no son adecuadas para una correcta encapsulación. Para aumentar las propiedades de flujo de la preparación de enzimas pancreáticas encapsuladas, las partículas de enzimas crudas se tamizaron para incluir solo partículas de tamaños de malla 40-140, o aproximadamente 106 a 425 micras.

Ejemplo 2: Estabilidad de una preparación de enzimas digestivas encapsuladas de ejemplo: almacenamiento en temperatura

20 En una realización de ejemplo adicional, se usaron múltiples tipos y porcentajes en peso de lípidos para recubrir los núcleos enzimáticos tamizados. Las propiedades que incluyen la resistencia mecánica, el punto de fusión y la hidrofobicidad se tuvieron en cuenta al elegir un recubrimiento lipídico adecuado para la enzima pancreática. A continuación, se examinaron múltiples ejemplos de recubrimientos lipídicos y se examinó su aspecto físico a menos de 25°C y a 40°C. Por consiguiente, se evaluaron los lípidos con una gama de propiedades físicas como resistencia mecánica, punto de fusión e hidrofobicidad para el recubrimiento de las enzimas pancreáticas. En este ejemplo, se descubrió que la disminución del punto de fusión o el aumento de la hidrofilia de los recubrimientos no eran adecuados para la encapsulación porque daban como resultado un producto que se aglomeraría en condiciones aceleradas de estabilidad de almacenamiento. Las preparaciones enzimáticas tamizadas y encapsuladas hechas con aceite de soja hidrogenado, cera de ricino hidrogenada y cera de carnauba demostraron un buen vertido y sin apelmazamiento.

La Tabla 1 proporciona los resultados de los cambios físicos visibles que ocurrieron a 25°C y 40°C:

| Sistema de recubrimiento | Apariencia física a 25°C de almacenamiento | Aspecto físico a 40°C de almacenamiento |
|---|--|---|
| Aceite de soja hidrogenado (Balchem/Alibec) | Correcta | Correcta |
| Cera de ricino hidrogenada | Correcta | Correcta |
| Cera de carnauba | Correcta | Correcta |
| Monoglicéridos hidrogenados | Correcta | Fuerte apelmazamiento |
| Mezclas de soya/monoglicéridos | Correcta | Algo de apelmazamiento |

30 Tanto los monoglicéridos hidrogenados como las mezclas de aceite de soja/monoglicéridos demostraron aglomeración a la temperatura más alta. Por lo tanto, está claro que la disminución del punto de fusión o el aumento de la hidrofilia de los recubrimientos no fueron adecuados para la encapsulación porque dieron como resultado un producto que se aglomeraría en condiciones de almacenamiento prolongado, como lo demuestra nuestra prueba de condiciones de almacenamiento acelerado a 40 grados centígrados.

Ejemplo 3: Una preparación de enzimas digestivas encapsuladas de ejemplo apta para enzimas pancreáticas: la actividad de enzimas medida como una función de estabilidad.

40 En una realización adicional, la estabilidad de la enzima se determinó de acuerdo con el siguiente método: para la prueba acelerada, se usaron pautas estándar de ICH: las preparaciones recubiertas se colocaron en un recipiente de plástico, que se almacenó en un gabinete de humedad controlada a 40°C y 75 % de humedad relativa. La actividad

enzimática se midió moliendo las preparaciones enzimáticas recubiertas, dispersándose en reguladores apropiados y analizando la actividad de la lipasa.

Tabla 2: Porcentaje de estabilidad de enzimas encapsuladas cuando se almacenan a 40°C/75 % RH, en contenedores cerrados

| Muestra | Lote # o recubrimiento | Actividad | Actividad | Actividad | Actividad |
|--------------------------------------|------------------------|-----------|-----------------|------------------|--------------|
| | | RT | 1 semana tapada | 2 semanas tapada | 1 mes tapada |
| PEC crudo Nov 06 | 1206-1369A | 116 % | 126 % | | 75 % |
| PEC encapsulado 70 %, monoglicéridos | R1C-0890 | 118 % | 112 % | | |
| PEC encapsulado 50 %, soja/mono | R1C-0891 | 116 % | 110 % | | 88 % |
| PEC crudo Ene 07 | 1206-1382B | 113 % | | | 61 % |
| PEC encapsulado 70 % carnauba | R1C-0898 | | | | |
| PEC encapsulado 50 % carnauba | R1C-0898 | | | | 68 % |
| PEC encapsulado 70 %, cera de ricino | cera de ricino | 108 % | | 78 % | 87 % |
| PEC encapsulado 80 %, soja | soja | 99 % | | 89 % | 87 % |

5 Como se ilustra anteriormente en los datos resumidos en la Tabla 2, el 80 % de aceite de soja parecía impartir la mayor cantidad de estabilidad de todos los lípidos, un efecto que sorprendentemente fue mayor para las preparaciones enzimáticas almacenadas en envases tapados que en envases no tapados. Las pruebas de estabilidad para preparaciones enzimáticas de humedad relativa del 75 % almacenadas a 40°C en recipientes abiertos no mostraron diferencias significativas en la estabilidad entre preparaciones recubiertas y no recubiertas.

10 Ejemplo 4: Una de preparación de ejemplo de enzimas digestivas encapsuladas adecuada para enzimas pancreáticas: actividad de enzimas y tasa de liberación de enzimas pancreáticas múltiples tapadas con soja

15 En una realización adicional, los encapsulados se prepararon de acuerdo con los métodos descritos a continuación. El material enzimático crudo se tamizó para obtener partículas menores de 40 mallas (425 µm) pero mayores de 140 mallas (105 µm) para eliminar finos y obtener una mezcla más uniforme más adecuada para el recubrimiento entérico.

Se hicieron los siguientes preparativos:

70 % de enzima activa en peso, con un recubrimiento de soja estable estándar;

80 % de enzima activa en peso, con un recubrimiento de soja estable estándar; y

90 % de enzima activa en peso, con un recubrimiento de soja estable estándar.

20 La actividad en cada preparación enzimática encapsulada se midió moliendo los encapsulados, dispersando el material molido en reguladores apropiados y analizando la actividad de la lipasa.

Como se muestra en la Figura 4, la actividad enzimática en las preparaciones recubiertas no muestra ninguna pérdida significativa de actividad tras el recubrimiento (disminución de la actividad del 110 al 100 %, normalizada a la actividad enzimática establecida del material enzimático bruto).

La liberación de la enzima se midió suspendiendo cada encapsulado en un aparato de disolución en regulador de pH 6.0 durante 30, 60 y 90 minutos (100 rpm, según las directrices de la USP). Como se muestra en la Figura 5, todos los encapsulados muestran entre 80-90 % de liberación a los 30 y 60 minutos. A los 90 minutos, la actividad enzimática medida obtenida con estas preparaciones disminuye.

5 Ejemplo 5: Una preparación de enzima digestiva encapsulada de ejemplo adecuada para enzimas pancreáticas: tamaño de partícula de enzima pancreática tapada con aceite de soja múltiple

En una realización adicional, preparaciones que contenían 70 % u 80 % de enzima pancreática activa en peso, encapsuladas con aceite de soja se compararon con material de enzima pancreática cruda con respecto al tamaño de partícula, como se muestra en la Figura 6.

10 Todos los niveles de lípidos demuestran un impacto del tamaño de partícula. El 80 % de PEC demuestra el más uniforme ya que ninguno aparece en el nivel de malla 200 (75 µm).

Ejemplo 6: Una preparación de enzimas digestivas encapsuladas de ejemplo adecuadas para enzimas pancreáticas: olor y gusto

15 Se realizó un examen de preparaciones enzimáticas encapsuladas de ejemplo que contenían 70 %, 80 % y 90 % de enzima en peso para determinar su sabor y olor en comparación con SUCANAT™ y azúcar moreno, así como en comparación con la enzima cruda. Los resultados se muestran en la Tabla 4, a continuación. SUCANAT™ es un edulcorante orgánico para alimentos integrales.

Tabla 4:

| Sustancia | Olor | Gusto |
|---------------|-----------------|--------|
| azúcar morena | Sí | Dulce |
| SUCANAT™ | No | Dulce |
| Enzima cruda | A carne/ahumado | N/D |
| 70 % | No | No |
| 80 % | No | No |
| 90 % | Leve | Salado |

20 Ejemplo 7: Una preparación de enzimas digestivas encapsuladas de ejemplo adecuadas para enzimas pancreáticas: Fabricación

El diagrama de flujo que describe el proceso de fabricación útil para hacer las preparaciones enzimáticas de esta invención se muestra en la Figura 7.

25 Los ingredientes usados para preparar un lote de una preparación de enzima pancreática encapsulada a modo de ejemplo incluyeron 20.0 lb de enzima pancreática tamizada y 5.0 lb de aceite vegetal hidrogenado, por ejemplo, aceite de soja.

30 El concentrado de enzima pancreática se tamizó primero a través de un tamiz de malla USSS #40 (425 µm) y se retuvo el material que pasó a través de la malla. El material retenido se tamizó luego a través de una malla de USSS #140 (105 µm) (o el equivalente), y el material que no pasó a través de la malla se retuvo como el material o partículas de enzimas pancreáticas tamizadas.

35 En el proceso de encapsulación, el material de recubrimiento apropiado se carga en el tanque de fusión, y se lleva y se mantiene a 110°F para el proceso de pulverización. Se puede usar cualquier temperatura que proporcione la consistencia adecuada durante el proceso de pulverización. La temperatura puede seleccionarse adicionalmente basándose en los puntos de fusión de los lípidos usados en el recubrimiento, y/o de modo que después del contacto del material o partículas de la enzima pancreática tamizada con el recubrimiento, la actividad de la preparación de la enzima permanezca aproximadamente igual.

El material de revestimiento licuado se pesa y se transfiere al tanque de pulverización. La enzima pancreática tamizada se añadió al recipiente de fabricación de encapsulación. Las partículas de enzimas pancreáticas se encapsulan con material de recubrimiento al nivel de recubrimiento seleccionado.

5 El material encapsulado se tamiza con una pantalla de malla #14 USSS (1400 µm) (o equivalente), y se retiene el material que pasa a través de la pantalla. Después del tamizado, se recoge el material y se extraen muestras para control de calidad.

10 Si se van a mezclar dos sublotos, el material filtrado cargado se agrega a un mezclador adecuado y se mezcla durante 7 a 10 minutos. Se obtienen muestras para la prueba del producto terminado. El material encapsulado se empaqueta a granel y se coloca en cuarentena en espera de los resultados de la prueba. Al alcanzar los criterios de aceptación, el producto terminado es liberado por el grupo de Calidad. Posteriormente, el producto puede enviarse según las instrucciones.

Se recogen muestras para la prueba del producto terminado, incluidas las pruebas analíticas y los ensayos microbianos, que se pueden probar con el tiempo.

15 Ejemplo 8: Una preparación de enzimas digestivas encapsuladas de ejemplo adecuada para enzimas pancreáticas: Empaquetado

En todavía otra realización adicional, la estabilidad de la enzima se debe en parte a la encapsulación y en parte al empaquetado de hoja trilaminar. A continuación, se muestra el proceso de empaquetado de las bolsitas/bolsas de dosis única.

20 Primero, después de la fabricación, el producto se distribuye en bidones limpios, con doble revestimiento con bolsas de polietileno de calidad alimentaria, y los bidones se sellan. Si se cumplen los criterios de especificación, el lote se libera de la cuarentena y el material se envía a un empaquetador adecuado para su colocación en sobres para su dosificación individual al paciente.

25 Por ejemplo, se utiliza una bolsa PD-73272 impresa a prueba de niños (CR) que consiste en papel 26# CIS/7.5# LDPE/.0007" papel de aluminio/15# con un revestimiento Surlyn para el empaquetado. Preferiblemente película preimpresa/papel de aluminio, la impresión exterior será con una marca de ojo de 1 color sobre fondo blanco, mientras que la impresión en línea del número de lote, la fecha de vencimiento y el código del producto también será en 1 color, negro. La dimensión total del sobre es: W 2.50" x H 3.50". El sobre está dimensionado para contener 900 mg de gránulos de fármaco encapsulado en lípidos Pancrelipasa con una tolerancia de ±10 % en una bolsa/sobre de dosis unitarias. El producto final tendrá una actividad de proteasa de no menos de 156 Unidades USP/mg.

30 Ejemplo 9: Una preparación de enzimas digestivas encapsuladas de ejemplo adecuada para enzimas pancreáticas: Disolución

35 El efecto de la liberación de pancreatasa de partículas encapsuladas en lípidos con aceite de soja se estudió usando partículas con niveles variables de recubrimiento con lípidos (expresado como % de recubrimiento con lípidos por peso total de partículas. El nivel de recubrimiento se varió del 10 % al 30 %. No hubo un efecto significativo del recubrimiento con lípidos en este rango en la liberación de pancreatasa en un ambiente acuoso de las partículas durante un período de 60 minutos. Todas las formulaciones liberan más del 80 % de la enzima dentro de los primeros 30 minutos después del inicio de la disolución. La liberación máxima para las partículas del 90 %, 80 % y 70 % fue del 85 %, 88 % y 83 % respectivamente por 60 minutos.

Ejemplo 10: Un sistema de ejemplo de administración de enzimas para el tratamiento del autismo

40 La elección de la preparación de enzima pancreática encapsulada al 70 %-90 % (enzima activa en peso) se seleccionó en base a su perfil de liberación, como adecuada para la liberación de la enzima en el intestino delgado proximal donde tendrá lugar la digestión de proteínas por el componente proteasa.

45 El aceite de soja se seleccionó como el recubrimiento con lípidos, por su falta de componentes proteicos y la correspondiente falta de propiedades antigénicas, para minimizar o eliminar la posibilidad de una reacción alérgica al recubrimiento con lípidos en pacientes tratados y niños con autismo.

El uso de la preparación del 70-90 % aumenta las propiedades de fluidez y vertimiento al tiempo que disminuye la aerosolización, lo que permite el uso de un sistema de suministro de bolsita o bolsa.

La adición de la carcasa de hoja trilaminar asegura que la formulación de rociado será estable, transportable y se administrará mediante un único mecanismo de dosis unitaria.

50 La formulación baja en lipasa también permite la seguridad al reducir el potencial de estenosis de colon, y mejora la utilización de la porción de proteasa de la enzima.

ES 2 755 751 T3

Tabla 5: Composición de la preparación de enzimas digestivas encapsuladas LUMINENZ-AT, sobres de 900 mg

| Ingredientes | Estado de compendio | Funciones | Contenidos |
|--|---------------------|---------------------------------------|-------------------------|
| Concentrado de enzimas pancreáticas (origen porcino) | USP | Ingrediente activo | NLT 156 Unidades USP/mg |
| Aceite vegetal hidrogenado, tipo I (aceite de soja) | NF | Material de recubrimiento con lípidos | c.s. |

La sustancia farmacológica, el concentrado de enzimas pancreáticas (origen porcino), se adquiere de un proveedor apropiado. Las propiedades del concentrado de enzimas pancreáticas (pancreatina/pancrelipasa) adecuadas para su uso en los productos de esta invención se describen en la tabla a continuación.

5

Tabla 6

| Parámetros | Especificación USP |
|---|------------------------|
| Proteasa (USP) | NLT 25 Unidades USP/mg |
| Lipasa (USP) | NLT 2 Unidades USP/mg |
| Amilasa (USP) | NLT 25 Unidades USP/mg |
| Grasa (USP) | NMT 6.0 % * |
| Pérdida por secado (USP) | NMT 5.0 % |
| <i>Escherichia coli</i> (USP) | Neg/10 g |
| Especie de <i>Salmonella</i> (USP) | Neg/10 g |
| *Si hay menos de 75 U/mg de proteasa, 6 U/mg de lipasa o 75 U/mg de amilasa, la especificación es NMT 3.0 % | |

Especificaciones para aceite vegetal hidrogenado (aceite de soja)

Apariencia física y características sensoriales:

Material proporcionado en forma de escamas o polvo, libre de materias extrañas y olor desagradable.

10

Tabla 7

| Parámetro químico | Especificación | Procedimiento analítico |
|-------------------------|----------------|-------------------------|
| Rango de fusión | 67 a 69 C | USP/NF <741> Clase II |
| Valor ácido | 0.4 Máx. | USP/NF <401> |
| Índice de yodo | 5.0 Máx. | USP/NF <401> Método II |
| Pérdida por secado | 0.1 % Máx. | USP/NF <731> |
| Valor de saponificación | 175-200 | USP/NF <401> |

| Parámetro químico | Especificación | Procedimiento analítico |
|-----------------------------------|-----------------|-------------------------|
| Metales pesados | 0.001 % Máx. | USP/NF <231> |
| Impurezas orgánicas volátiles | Cumple | USP/NF <467>Método IV |
| Solventes residuales | Cumple | USP/NF <467> |
| Materia insaponificable | 0.8 % Máx. | USP/NF <401> |
| Parámetros microbianos | | |
| Recuento microbiano aerobio total | 2000 cfu/g Máx. | USP/NF <61> |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Ausente en 10 g | USP/NF <61> |
| <i>Pseudomonas seruginosa</i> | Ausente en 10 g | USP/NF <61> |
| Especie de <i>Salmonella</i> | Ausente en 10 g | USP/NF <61> |
| <i>Escherichia coli</i> | Ausente en 10 g | USP/NF <61> |
| Moho y levadura | 200 cfu/g Máx. | USP/NF <61> |

Los cromatogramas de estándar de trabajo, diluyente, fase móvil B y placebo no muestran interferencia con el pico estándar (véase Cromatograma, Figura 9). El placebo analítico y las composiciones de tabletas activas se dan en la Tabla 8.

5

Tabla 8.

| Composición de placebo analítico y polvo activo | | |
|---|------------------------------|-------------------|
| Ingredientes de formulación | Placebo analítico mg/bolsita | Activo mg/bolsita |
| Concentrado de enzimas pancreáticas | | 720.0 |
| Lípido encapsulado | 180.0 | 180.0 |
| Total | 180.0 | 900.0 |

10

La linealidad del método se evaluó analizando varios niveles de muestra de la concentración estándar en presencia de la matriz de placebo. Estos niveles fueron 50 %, 70 %, 100 %, 130 % y 150 %. Se usaron tres inyecciones de cada muestra para calcular la respuesta promedio (área/concentración) para ese nivel. Luego, se calculó la desviación estándar relativa para las relaciones de respuesta generadas junto con las estadísticas de regresión lineal de mínimos cuadrados para el área de pico promedio frente a la concentración (véase Tablas 9 y 10). En la Figura 10 se muestra una gráfica del área de pico promedio vs. concentración con la línea de regresión lineal.

Tabla 9

| Datos de linealidad | | | | | | |
|---------------------|-----|----------------------|-------------|-------------|-------------------------------|-----------------|
| Estándares | | Área de pico (mAU s) | | | Área de pico promedio (mAU s) | Respuesta media |
| mg/mL | % | Inyección 1 | Inyección 2 | Inyección 3 | | |
| 0.100 | 50 | 709.4 | 712.9 | 710.5 | 710.9 | 7109.3 |
| 0.140 | 70 | 1041.2 | 1040.0 | 1002.9 | 1028.0 | 7343.1 |
| 0.200 | 100 | 1529.0 | 1499.0 | 1523.1 | 1517.0 | 7585.2 |
| 0.260 | 130 | 1969.4 | 2010.3 | 1996.2 | 1992.0 | 7661.4 |
| 0.300 | 150 | 2336.2 | 2322.6 | 2350.6 | 2336.5 | 7788.2 |

Tabla 10

| Resultados de linealidad | | |
|--------------------------------|---------------|-----------|
| Parámetros | Criterio | Resultado |
| Coefficiente de correlación | ≥ 0.997 | 0.999 |
| Intercepto y | $\pm 2.0 \%$ | -112.9 |
| RSD de relaciones de respuesta | $\leq 2.0 \%$ | 3.6 |
| Visual | Lineal | si |
| Error estándar de intercepto y | - | 18.8 |
| Pendiente | - | 8139.1 |

Ejemplo 11: Biomarcadores bioquímicos y síntomas principales y no principales del autismo

- 5 La correlación entre las deficiencias de enzimas digestivas en niños autistas se determinó en niños diagnosticados con autismo basándose en síntomas clínicos (conductuales). Esta correlación también se estudió en niños diagnosticados con autismo y una comorbilidad genética. Después del descubrimiento inicial de que los niños autistas exhibían restricciones dietéticas de proteínas autoimpuestas, se realizaron estudios que indicaron que los niveles anormalmente bajos de quimotripsina fecal (FCT) son útiles como biomarcadores para el autismo.
- 10 Además, también se determinó el número de pacientes autistas que respondían al reemplazo de enzimas pancreáticas, en base a mediciones de biomarcadores y síntomas clínicos. Se examinaron los cambios en el sistema gastrointestinal, así como un cambio en los síntomas principales del autismo. La siguiente tabla proporciona una descripción general de los estudios realizados en múltiples sitios basados en médicos.

Tabla 11

| Numero de estudio | No. total de sujetos | Autismo | Sin autismo |
|-------------------|----------------------|---------|-------------|
| 1 | 9 | 9 | |

| Numero de estudio | No. total de sujetos | Autismo | Sin autismo |
|-------------------|----------------------|---------|-------------|
| 2 | 26 | 26 | |
| 3 | 46 | 25 | 21 |
| 4 | 54 | 54 | |
| 5 | 463 | 266 | 197 |
| 6 | 320 | 64 | 256 |
| 7 | 33 | 33 | |
| 8 | 42 | 25 | 17 |
| 9 | 68 | 68 | |
| 10 | 225 | 225 | |
| 11 | 175 | 175 | |

5 Las observaciones iniciales se basaron en la observación de la restricción dietética autoimpuesta por casi todos los niños con autismo. Luego se realizaron múltiples estudios para evaluar la capacidad de los niños autísticos de digerir proteínas. Un estudio de la fisiología de la digestión de proteínas condujo a un examen de la cascada de enzimas digestivas del sistema gastrointestinal, especialmente aquellas involucradas en la degradación de proteínas, como la quimotripsina. Como medida de disfunción, se determinó que los niveles de quimotripsina fecal (FCT) en niños con autismo eran anormalmente bajos.

Estudio 1

10 Este estudio inicial fue exploratorio para determinar si una pequeña cohorte de niños con autismo tendría niveles anormalmente bajos (<9.0) de quimotripsina fecal. (FCT) Los resultados del estudio 001 se muestran en la Figura 10.

Los 9 niños con autismo evidenciaron un nivel de FCT anormalmente bajo de menos de 7 Unidades/gramo. (Normal ≥9.0). Esta observación en un pequeño grupo de niños condujo a un examen más detallado del potencial de un vínculo fisiológico con el autismo hasta ahora desconocido.

Estudio 2

15 El estudio 2 se realizó para determinar si una cohorte más grande de niños (26 niños) con autismo también experimentó niveles anormalmente bajos de FCT. También se determinaron los niveles de elastasa-1 fecal, otra enzima digestiva pancreática presente en cantidades bajas en la insuficiencia pancreática. Nuevamente, los niveles de FCT fueron anormalmente bajos en 25 de los 26 niños, cayendo a 8 U/g o menos. Un niño tenía un nivel de FCT de 9 U/g. Por otro lado, todos los niños tenían niveles normales de elastasa-1 fecal.

20 Estudio 3

25 En el Estudio 3, los niveles de FCT se determinaron en 46 niños de 2 años a 14 años de edad, 25 con autismo y 21 sin autismo. Los datos demostraron que los niños con autismo tenían niveles de FCT anormalmente bajos y aquellos niños que no tenían autismo tenían niveles normales de FCT, de 12 U/g o más. Los resultados se resumen en la Figura 12. La línea superior en la Figura 12 muestra los niveles de FCT en sujetos que no tenían autismo, mientras que la línea inferior muestra los niveles de FCT en sujetos que sí tenían autismo.

Estudio 4

En el Estudio 4, 54 niños diagnosticados con autismo y un trastorno genético comórbido fueron examinados para determinar los niveles de FCT. Los datos mostraron que los niños con autismo y un trastorno genético comórbido resultaron normales para el nivel de FCT.

5 Como el autismo se determina por evaluación de la conducta, es la hipótesis de que el autismo debido a, o presente con un trastorno genético conocido puede tener una fisiología que difiere de otros con el autismo solos, o no debido a un trastorno genético conocido. Algunos trastornos genéticos tienen síntomas típicos, mientras que otros pueden ser más variables y superponerse con la sintomatología autista. Este estudio examinó a niños con autismo que también fueron diagnosticados con otra afección conocida, para determinar si los niveles de FCT eran anormalmente bajos en estos niños.

La Tabla 12 a continuación representa 54 niños diagnosticados con autismo que también tenían una comorbilidad genética.

Tabla 12

| Niños diagnosticados con autismo que también tienen una comorbilidad genética | | |
|---|---------------|---------------------------------------|
| | Nivel FCT U/g | Comorbilidad |
| 1 | 12 | Frágil X |
| 2 | 22 | Síndrome de Hallermann-Streiff |
| 3 | 25.2 | Trisomía 21 |
| 4 | 15.8 | translocación de 9 |
| 5 | 18 | Síndrome de Beckwith-Wiedemann |
| 6 | 26.6 | Trisomía 21 |
| 7 | 39.2 | Trisomía 18 |
| 8 | 16.6 | Síndrome de Rubenstein-Tabi |
| 9 | 25.4 | X frágil |
| 10 | 20.6 | Síndrome de Prader-Willi |
| 11 | 14.6 | Trisomía 21 |
| 12 | 25.6 | Síndrome de Rett |
| 13 | 21.4 | Síndrome de Klippel-Feil |
| 14 | 20.6 | Síndrome de Rett |
| 15 | 24.8 | Distrofia muscular de Duchenne |
| 16 | 12.2 | Síndrome de Tourette |
| 17 | 14.8 | Accidente cerebrovascular en el útero |
| 18 | 30 | Trisomía 21 |
| 19 | 18.8 | X frágil |

ES 2 755 751 T3

| Niños diagnosticados con autismo que también tienen una comorbilidad genética | | |
|---|---------------|--|
| | Nivel FCT U/g | Comorbilidad |
| 20 | 17.6 | RA juvenil |
| 21 | 18.8 | Accidente cerebrovascular en el útero |
| 22 | 34 | Trisomía 6 |
| 23 | 22.2 | Distrofia muscular de Duchenne |
| 24 | 18.8 | Diabetes juvenil |
| 25 | 28.4 | Diabetes tipo I |
| 26 | 13.8 | Adrenoleucodistrofia |
| 27 | 44 | Enfermedad de Wilson |
| 28 | 19.6 | Accidente cerebrovascular en el útero |
| 29 | 7.4 | Diabetes tipo I |
| 30 | 23.4 | Síndrome de Prader-Willi |
| 31 | 14.4 | 22q13 |
| 32 | 15.4 | Síndrome de Tourette |
| 33 | 17.6 | Lisencefalia |
| 34 | 22.4 | Síndrome de inmunodeficiencia de neutrófilos |
| 35 | 18.4 | Diabetes tipo I |
| 36 | 32.2 | Síndrome de Tourette |
| 37 | 14.6 | Tetrasomía 18p |
| 38 | 31 | Síndrome de hiper IgE |
| 39 | 26.6 | Síndrome de Angelman |
| 40 | 17.4 | Diabetes tipo I |
| 41 | 12.6 | Síndrome de Rett |
| 42 | 34 | X frágil |
| 43 | 17.4 | Síndrome de Marfan |

| Niños diagnosticados con autismo que también tienen una comorbilidad genética | | |
|---|---------------|------------------------------------|
| | Nivel FCT U/g | Comorbilidad |
| 44 | 21.2 | Síndrome de Waardenburg |
| 45 | 21.8 | deficiencia de glutatión sintetasa |
| 46 | 6.0 | Diabetes Tipo I |
| 47 | 26.6 | Rubinstein-Taybi |
| 48 | 34 | Síndrome de Angelman |
| 49 | 25.2 | Síndrome de Klinefelter |
| 50 | 21.4 | Sangrado cerebral al nacer |
| 51 | 16.8 | Síndrome de Turner |
| 52 | 23.4 | Hipotiroidismo |
| 53 | 15.8 | Diabetes tipo I |
| 54 | 7.8 | Daño cerebral de prematuridad |

Solo dos de los 54 niños diagnosticados con autismo y una comorbilidad genética tenían niveles anormalmente bajos de FCT. Esos niños tenían diabetes tipo I. 52 de los 54 niños registraron niveles de FCT en el rango normal.

5 Esto respalda además que los niveles bajos de FCT están presentes en niños diagnosticados con autismo en ausencia de otra morbilidad genética conocida.

Estudio 5

10 En el Estudio 5, se determinaron los niveles de FCT para 463 niños de 2 a 8 años de edad, 266 diagnosticados con autismo y 197 diagnosticados sin autismo, en un estudio realizado por un médico de múltiples oficinas. Los datos mostraron que los niños con autismo tenían niveles anormalmente bajos de quimotripsina fecal y aquellos niños que no tenían autismo tenían niveles normales de quimotripsina fecal.

Los datos se resumen en la tabla 13 a continuación.

Tabla 13

| Niveles medios de quimotripsina fecal en niños con y sin autismo | | |
|--|-------------------|-------------------|
| N= 463 | Niños con Autismo | Niños sin Autismo |
| Número total de niños | 266 | 197 |
| FCT medio (U/g) | 4.4 | 23.2 |

| Niveles medios de quimotripsina fecal en niños con y sin autismo | | |
|--|-------------------|-------------------|
| N= 463 | Niños con Autismo | Niños sin Autismo |
| Total de niños con anormal | 203 | 3 |
| Niveles de FCT | | |
| % (p<0.001) | 76.34 % | 1.50 % |
| Total de niños normales | | |
| Niveles de FCT (p<0.01) | 63 | 194 |
| % | 23.68 % | 98.50 % |

Estos datos establecieron además que los niños diagnosticados con autismo que tampoco tienen una comorbilidad genética conocida tienen niveles anormalmente bajos de FCT. Por lo tanto, los niveles de FCT pueden ser útiles en el diagnóstico de niños con autismo, si el niño tampoco tiene una comorbilidad genética conocida (a menos que la comorbilidad sea diabetes tipo I).

La quimotripsina es una enzima pancreática. La quimotripsina es una serina proteasa y es única, ya que escinde solo aminoácidos esenciales durante el proceso digestivo. Específicamente, la quimotripsina escinde el enlace peptídico en el lado carboxilo de los aminoácidos aromáticos. La falta de digestión de proteínas como lo demuestran los niveles anormales de FCT deja al niño con una escasez de aminoácidos disponibles para la síntesis de nuevas proteínas. Sin niveles suficientes de aminoácidos esenciales, las nuevas proteínas necesarias para diversas funciones corporales no pueden sintetizarse. Por ejemplo, una escasez o falta de proteínas involucradas en procesos neurológicos puede dar lugar a síntomas de autismo.

Estudio 6

En el Estudio 6, se determinaron los niveles de FCT para 320 niños de 2 años a 18 años de edad, 64 con autismo, 64 con TDA, 64 con TDAH, 64 con afecciones genéticas conocidas y 64 normales (sin afecciones conocidas). Los datos mostraron que los niños con autismo, TDA y ADHD exhibieron niveles anormalmente bajos de FCT en comparación con los niños con condiciones genéticas conocidas y niños normales. Los datos de FCT se recopilaron durante un ensayo en el consultorio de varios médicos con niños de diferentes edades con condiciones similares. La Figura 13 muestra los niveles de FCT en 5 grupos separados de niños de 6 años a 18 años que tienen autismo, TDAH (trastorno por déficit de atención con hiperactividad), TDA (trastorno por déficit de atención), trastorno genético conocido también diagnosticado con autismo o ninguna afección conocida (normales).

Las dos líneas superiores en la Figura 13 corresponden a los niveles de FCT en niños sin ninguna afección conocida y niños con afecciones comórbidas conocidas (genéticas y otras). Los tres resultados corresponden a los niveles de FCT en los niños con autismo, TDA y TDAH.

Los niños con autismo, TDA y TDAH tenían niveles significativamente más bajos de FCT que aquellos sin ninguna condición conocida, o aquellos con una comorbilidad genética conocida o una condición traumática (p<0.01).

Estudio 7

En el Estudio 7, 33 niños que fueron diagnosticados con autismo y niveles anormalmente bajos de FCT se inscribieron en el estudio. Los niños fueron tratados con uno de los dos suplementos de enzimas pancreáticas/digestivas, o no recibieron tratamiento. Los niveles de FCT se midieron para cada niño a los 0, 30, 60, 90 y 120 días.

Once (11) niños recibieron una dosis terapéutica baja de cápsulas ULTRASE® MT20 (pancrelipasa) (abiertas para espolvorear sobre los alimentos) (véase más abajo); 11 niños recibieron polvo de VIOKASE® (pancrelipasa) para espolvorear sobre alimentos a un nivel de dosificación mínimo de ¼ cucharadita; a 11 niños se les midieron los niveles de quimotripsina fecal. Todos los niños eran de la misma edad y sin un diagnóstico neurológico y/o genético comórbido.

ES 2 755 751 T3

Cada cápsula ULTRASE® se administró por vía oral y contenía 371 mg de minitabletas con recubrimiento entérico de concentrado pancreático porcino que contenía:

| | |
|----------|------------------------|
| Lipasa | 20.000 Unidades U.S.P. |
| Amilasa | 65.000 Unidades U.S.P. |
| Proteasa | 65.000 Unidades U.S.P. |

Cada 0.7 g (¼ de cucharadita) de VIOKASE® en Polvo contenía:

5 Lipasa, 16.800 Unidades USP

Proteasa, 70.000 Unidades USP

Amilasa, 70.000 Unidades USP

10 Los niveles de FCT se monitorizaron durante 120 días para determinar si los niveles de FCT cambiaron en respuesta al tratamiento con cualquiera de las formulaciones enzimáticas, en comparación con los niños que no recibieron tratamiento enzimático. Los resultados de los niveles de FCT, medidos durante un período de 120 días, se muestran en la Tabla 14 a continuación.

Tabla 14

| Niveles medios de quimotripsina fecal en la línea base del estudio, 30, 60, 90 y 120 días después de la administración de reemplazo de enzimas pancreáticas múltiples | | | |
|---|---------|---------|-----------------|
| | ULTRASE | VIOKASE | Sin tratamiento |
| FCT medio (unidades) en la línea base | 3.49 | 3.81 | 3.1 |
| FCT medio (unidades) 30 días | 5.05 | 7.02 | 3.15 |
| FCT medio (unidades) 60 días | 4.82 | 8.96 | 3.18 |
| FCT medio (unidades) 90 días | 4.91 | 13.73 | 3.25 |
| FCT medio (unidades) 120 días | 5.38 | 15.1 | 3.13 |
| | | | N=33 |

15 Los resultados se muestran en el gráfico de barras de la Figura 14. La barra superior (barra muy pálida) para cada punto de tiempo muestra el nivel de FCT para los niños no tratados. La barra central muestra el nivel de FCT para niños tratados con VIOKASE® y la barra inferior en cada punto de tiempo muestra el nivel de FCT después del tratamiento con Ultrase. Los resultados en la tabla y graficados en la Figura 14 indican que se observó un cambio significativo en el nivel de FCT solo después de la administración de la fórmula de enzima con recubrimiento entérico VIOKASE®, desde la línea base hasta el momento de 0 a 120 días. El mayor cambio se observó en los primeros 90 días. Los cambios en los primeros 90 días fueron significativos en comparación con los cambios observados entre 90 y 120 días. Si bien el grupo ULTRASE® mostró algún cambio desde la línea base hasta 120, el cambio no fue significativo.

25 Las lipasas en ULTRASE® son muy sensibles a los cambios de pH y a la degradación en condiciones ácidas, como las que se encuentran en el estómago. El recubrimiento entérico de ULTRASE® permite que las enzimas eviten el estómago. Se ha demostrado que ULTRASE® es útil para administrar suficientes lipasas para tratar a adultos con fibrosis quística y pancreatitis crónica que sufren de deficiencia de enzimas pancreáticas. Sin embargo, el recubrimiento entérico en ULTRASE® y otros productos similares aparentemente no permitió que la porción de proteasa de esas composiciones se administrara en el intestino delgado proximal donde se necesita para la

degradación de proteínas. Como se demostró en el pequeño estudio piloto, ULTRASE® no permitió la liberación de la porción de proteasa de la enzima, específicamente la quimotripsina, según lo determinado por los niveles de FCT medidos después de la administración de ULTRASE®. Los niveles de FCT en el grupo tratado con ULTRASE® fueron similares a los encontrados en el grupo SIN TRATAMIENTO.

- 5 El momento y la ubicación de administración óptimos para la porción de proteasa de la enzima es desde la última porción del tiempo que el bolo de comida está en el estómago, hasta el tiempo que la comida de digestión pasa en el intestino delgado proximal.

Estudio 8

- 10 En el Estudio 8, 42 niños de la misma edad, 25 con autismo y 17 sin autismo u otra afección comórbida, se examinaron usando una prueba de heces para detectar la presencia de múltiples patógenos, así como marcadores de disfunción gastrointestinal, incluyendo FCT niveles. Los niños con autismo tenían un mayor número de patógenos de heces presentes, así como niveles anormalmente bajos de FCT.

- 15 Este pequeño estudio piloto se realizó para examinar la flora gastrointestinal de niños con autismo versus aquellos sin autismo. Se examinaron múltiples marcadores de salud gastrointestinal para determinar si hay una presentación gastrointestinal anormal en estos niños.

- 20 42 niños de la misma edad, 25 con autismo y 17 sin autismo u otra afección comórbida se examinaron usando una prueba de heces para detectar la presencia de múltiples patógenos, así como marcadores de disfunción gastrointestinal. Otros patógenos gastrointestinales o marcadores de heces conocidos por los expertos en la materia también pueden analizarse como marcadores de disfunción gastrointestinal. La Tabla 15 a continuación muestra la incidencia de la presencia de un patógeno gastrointestinal u otro marcador de heces.

Tabla 15

| Incidencia de la presencia de patógenos y otros marcadores de heces que representan disfunción gastrointestinal | | | | |
|---|---------|---------|-------------|---------|
| | Autismo | % Total | Sin autismo | % Total |
| Bajo FCT | 25 | 100 % | 0 | 0 % |
| Antígeno de <i>C. difficile</i> | 15 | 60 % | 1 | 6 % |
| Elastasa fecal <200 | 0 | 0 % | 0 | 0 % |
| Antígeno de <i>H. pylori</i> | 17 | 67 % | 0 | 0 % |
| Antígeno de <i>E. Histolytica</i> | 8 | 32 % | 0 | 0 % |
| Antígeno de <i>Giardia</i> | 9 | 36 % | 1 | 6 % |
| Crecimiento excesivo de levadura | 4 | 16 % | 0 | 0 % |
| <i>Cryptosporidium</i> | 9 | 36 % | 1 | 6 % |
| | N=25 | | N=17 | |

La presencia de marcadores positivos de heces en los niños con autismo, que incluyen niveles bajos de quimotripsina fecal, indicaron problemas gastrointestinales adicionales en pacientes con autismo.

25 Estudio 9

En el Estudio 9, 68 niños de 3 a 8 años de edad, diagnosticados con autismo que presentaban niveles de FCT anormalmente bajos, recibieron una combinación de enzimas pancreáticas/digestivas durante 90 días. Los resultados demostraron una mejora significativa en 5 de 5 áreas que representan los síntomas principales y no principales del autismo.

El examen de las múltiples áreas de sintomatología en los niños con autismo en este estudio incluyó tanto síntomas gastrointestinales como los síntomas principales del autismo. Está bien documentado en la literatura que los niños con autismo no cambian con el tiempo y que su nivel de autismo es estático independientemente de la edad del niño. Además, se cree que no hay cambios de maduración que acompañen a las personas con autismo.

- 5 En este estudio, a 68 niños de 3 a 8 años diagnosticados con autismo que presentaron niveles anormalmente bajos de FCT se les administró ¼ cucharadita de VIOKASE® y una enzima de papaya masticable (Original Papaya Enzyme Brand) en cada comida durante un período de 90 días.

Enzima original de papaya

Hechos suplementarios

- 10 Tamaño de la porción: 3 tabletas

Porciones por el envase: 33

| | | |
|---|-------|------|
| Carbohidratos | <1 g | <1 % |
| Azúcares | <1 g | |
| Papaína | 45 mg | ** |
| Amilasa | 6 mg | ** |
| Proteasa | 6 mg | ** |
| Fruta de papaya (Carica papaya) | 3 mg | ** |
| * Con base en una dieta de 2.000 calorías | | |
| ** Valores diarios no establecidos | | |

- 15 Se pidió al médico y al padre que completaran una escala de calificación para cada uno de los síntomas examinados en el estudio. Cada síntoma se calificó en la escala a continuación con (0) que indica que el niño es capaz de realizar la tarea, lo que demuestra que no hay deterioro, hasta (10) que representa la incapacidad completa del niño para realizar la tarea. Con respecto a los comportamientos indeseables, como la hiperactividad o el comportamiento obsesivo compulsivo, un cambio de un puntaje más bajo a un puntaje más alto indica una mejora, porque el niño está demostrando el comportamiento indeseable con menos frecuencia. La escala de calificación fue la siguiente:

| | |
|----|--|
| 10 | El niño experimenta una capacidad del 0 % para realizar esta tarea |
| 9 | El niño puede realizar esta tarea el 10 % del tiempo |
| 8 | El niño puede realizar esta tarea el 20 % del tiempo |
| 7 | El niño puede realizar esta tarea el 30 % del tiempo |
| 6 | El niño puede realizar esta tarea el 40 % del tiempo |
| 5 | El niño puede realizar esta tarea el 50 % del tiempo |
| 4 | El niño puede realizar esta tarea el 60 % del tiempo |
| 3 | El niño puede realizar esta tarea el 70 % del tiempo |

| | |
|---|---|
| 2 | El niño puede realizar esta tarea el 80 % del tiempo |
| 1 | El niño puede realizar esta tarea el 90 % del tiempo |
| 0 | El niño puede realizar esta tarea el 100 % del tiempo |

El promedio de las dos puntuaciones tomadas en cada intervalo: línea base y 90 días. Los puntajes obtenidos se muestran en la Tabla 16 a continuación:

Tabla 16

| Puntuaciones de síntomas para niños con autismo antes y después de la administración de enzimas digestivas | | | | |
|--|---|--------------------------------------|---|--|
| | Suma de puntajes totales del paciente enzima predigestiva | Puntaje promedio enzima predigestiva | Suma de puntajes totales del paciente 90 días después de la administración de la enzima | Puntuación media 90 días después de la administración de la enzima |
| Hiperactividad | 300 | 4.41 | 568 | 8.35 |
| Comportamiento obsesivo compulsivo | 255 | 3.75 | 554 | 8.15 |
| Contacto visual | 552 | 8.12 | 206 | 3.03 |
| Habla | 553 | 8.13 | 223 | 3.28 |
| Entrenamiento parcial de baño | 515 | 7.57 | 197 | 2.9 |
| | | | | N=68 |

5

Las puntuaciones CARS se han usado para estudiar los síntomas principales del autismo. En el estudio 9, se obtuvieron medidas de los síntomas principales y no principales del autismo (hiperactividad, comportamiento obsesivo compulsivo, contacto visual, habla, entrenamiento parcial para ir al baño). Si bien el diagnóstico de autismo se realizó estrictamente sobre la base de una evaluación conductual de los síntomas principales del autismo, el estudio indica que otros síntomas no centrales, como la falta de entrenamiento para ir al baño, conducirán a una morbilidad significativa en esta población. Los 5 parámetros medidos en este estudio indicaron que el aumento en el entrenamiento para ir al baño, el contacto visual y el habla, así como la disminución de la hiperactividad y los comportamientos obsesivos compulsivos son síntomas principales y no principales que mejoraron con el tratamiento con enzimas digestivas.

10

15 Estudio 10 y Estudio 11

En los estudios 10 y 11, 225 niños de 2-4 años de edad, y 171 niños de 5-11 años de edad, cada uno de los cuales presentaba niveles anormalmente bajos de quimotripsina fecal, recibieron una combinación de enzimas pancreáticas/digestivas 3 veces al día por un período de 150 días. Nueve medidas totales de sintomatología autista, tanto principales como no principales, se obtuvieron en la línea base del estudio y durante un período de 150 días. Se observaron cambios significativos que representaban mejoras en los síntomas principales y no principales en todos los niveles de edad, y el mayor cambio tuvo lugar durante los primeros 90 días.

20

5 Cada uno de estos estudios se realizó de forma similar al protocolo en el ESTUDIO 9. Los niños se dividieron en grupos de edad de 2-4 y 5-11. En estos estudios, 225 niños de 2-4 y 171 de 5-11 años diagnosticados previamente con autismo que presentaban niveles de quimotripsina fecal anormalmente bajos recibieron ¼ cucharadita de VIOKASE® y una enzima de papaya masticable (Original Papaya Enzyme Brand) en cada comida por un período de 150 días. La misma escala de calificación utilizada en el ESTUDIO 9 se utilizó en estos dos estudios. Además, se evaluaron los niveles de entrenamiento para ir al baño, aleteo de manos, hábitos de juego y evacuaciones formadas. También se calculó el % de las cohortes que experimentaron cambios. Este estudio se extendió a 150 días, sin observarse nada significativo entre el día 90 y el día 150.

10 La Tabla 17 a continuación muestra las medidas obtenidas para el porcentaje de niños en cada grupo que exhibieron el rasgo o comportamiento indicado, incluyendo hiperactividad, comportamiento obsesivo compulsivo, aleteo de manos, contacto visual, habla, entrenamiento parcial en el baño, entrenamiento completo en el baño, evacuación formada y juego correcto con los demás.

Tabla 17

| Porcentaje (%) con rasgo o síntoma posterior al reemplazo de enzima | | | | | | |
|---|--------------------|--------|---------|---------------------|--------|---------|
| | De 2-4 años, N=225 | | | De 5-11 años, N=171 | | |
| | Día de terapia | | | Día de terapia | | |
| Medida | Día 0 | Día 60 | Día 150 | Día 0 | Día 60 | Día 150 |
| Tuvo un poco de contacto visual | 4 | 61 | 88 | 14 | 59 | 89 |
| Habló un poco | 23 | 58 | 75 | 18 | 64 | 86 |
| Fueron parcialmente entrenados para ir al baño | 8 | 61 | 75 | 11 | 47 | 72 |
| Fueron completamente entrenados para ir al baño | 4 | 30 | 45 | 16 | 16 | 20 |
| Tuvo evacuación formada | 15 | 88 | 100 | 16 | 18 | 97 |
| Hiperactividad experimentada | 85 | 38 | 19 | 98 | 51 | 33 |
| Juega bien con los demás | 12 | 38 | 60 | 36 | 43 | 71 |
| Experimentó aleteo de manos | 81 | 46 | 31 | 75 | 36 | 28 |
| Experimentó otro OCD | 90 | 73 | 32 | 91 | 58 | 22 |

15 En los estudios 9, 10 y 11, se obtuvieron mediciones de los síntomas principales y no principales del autismo. Si bien el diagnóstico de autismo se ha realizado estrictamente como resultado de una evaluación conductual de los síntomas principales del autismo, otros síntomas no centrales conducen a una morbilidad significativa en esta población. La falta de entrenamiento para ir al baño y las evacuaciones formadas, por ejemplo, crean dificultades para los padres y, a menudo, conducen a una falta de integración social, lo que contribuye aún más a los síntomas principales del autismo.

20 Este aislamiento adicional debido a los síntomas no centrales del autismo dificulta aún más la capacidad del niño para aprender e integrarse socialmente. Esta dinámica está continuamente presente en esta población. Este efecto puede ser un impulsor significativo de los síntomas principales del autismo. Esto demuestra que estos síntomas no centrales también pueden ser valiosos como indicadores de autismo.

Ejemplo 12: Sistema de administración de enzimas utilizado en el tratamiento del autismo

25 Las preparaciones de enzimas digestivas encapsuladas de acuerdo con esta invención se empaquetan en bolsas que contienen 900 mg/bolsa, y se administran a un paciente que lo necesite rociando el contenido de una bolsa sobre los alimentos justo antes de servir, administrado tres veces al día. La determinación de si un paciente necesita la administración de un tratamiento con enzimas digestivas, incluidas las preparaciones de enzimas digestivas

encapsuladas como las de esta invención, se puede hacer usando cualquier prueba o indicador que sea útil como marcador de una deficiencia de enzimas digestivas. Esta determinación se realiza, por ejemplo, utilizando niveles de FCT, síntomas de comportamiento (síntomas principales o no centrales del autismo) o detección de una mutación en un gen que afecta la actividad y/o expresión de enzimas digestivas, por ejemplo, un gen MET mutación.

- 5 Los síntomas relevantes de la condición o enfermedad del paciente se miden antes y después de un período de tratamiento. El porcentaje de pacientes que exhiben algún contacto visual, algo de habla, entrenamiento parcial para ir al baño, entrenamiento completo para ir al baño, evacuaciones intestinales formadas y la capacidad de jugar bien con otros aumenta a los 60 días o antes de los 60 días, con un aumento adicional a los 150 días. Los cambios observados durante el tratamiento con las enzimas digestivas de esta invención tienen lugar en un curso de tiempo más corto, y/o dan como resultado una mayor mejora en cada individuo en cualquier punto de tiempo dado y/o mejoras en los síntomas principales y no principales en un porcentaje mayor de individuos tratados. Además, se observa un aumento correspondiente en el número de pacientes que exhiben una disminución en la hiperactividad, aleteo de manos u otro OCD a los 60 días, con un aumento adicional en el número de pacientes que exhiben una disminución en esos comportamientos a los 150 días.
- 10
- 15 También se observan otros síntomas principales del autismo, como los medidos en una prueba CARS, y se demuestra que mejoran después del tratamiento.

REIVINDICACIONES

1. Una preparación de enzimas digestivas que comprende partículas recubiertas, en donde las partículas comprenden:
- (a) un núcleo que comprende enzimas digestivas pancreáticas, en donde las enzimas digestivas pancreáticas comprenden una proteasa, una amilasa y una lipasa; y
- 5 (b) un recubrimiento que comprende un lípido, en el que el lípido es un aceite de soja hidrogenado, el recubrimiento recubre el núcleo y el lípido se emulsiona tras la exposición a un disolvente,
- en donde las enzimas digestivas pancreáticas están presentes en las partículas en una cantidad de 75 % a 85 % en peso.
2. Una preparación de la reivindicación 1, en donde las enzimas digestivas pancreáticas están presentes en las partículas recubiertas en una cantidad de 77.5 %, 80 % u 82.5 % en peso.
- 10 3. Una preparación de la reivindicación 1, en donde el núcleo tiene un tamaño de al menos 105 µm a un máximo de 425 µm.
4. Una preparación de la reivindicación 1, en donde el núcleo se tamiza para ser como máximo de 420 µm (malla USSS #40) y al menos de 105 µm (malla USSS #140).
- 15 5. Una preparación de la reivindicación 1, en donde la preparación no es aerosolizable.
6. Una preparación de la reivindicación 1, en donde el recubrimiento consiste esencialmente en aceite de soja hidrogenado.
7. Una preparación de la reivindicación 1, en donde al menos aproximadamente el 80 % de las enzimas se liberan durante 30 minutos en un ensayo de disolución realizado a pH 6.0 (USP).
- 20 8. Una preparación de la reivindicación 1, en donde al menos el 90 % de las partículas recubiertas tienen un tamaño de entre aproximadamente 105 y 425 µm, o donde al menos el 75 % de las partículas tienen un tamaño de entre 180 y 425 µm.
9. Una preparación de la reivindicación 1, en donde menos del 20 % o menos del 15 % de las partículas recubiertas se pueden tamizar a través de una malla de 150 µm (malla #100 USSS).
- 25 10. Una preparación de la reivindicación 1 proporcionada en forma de una bolsita, espolvoreado, tableta, cápsula o bolsa.
11. Una preparación de enzimas digestivas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, para uso en el tratamiento de un sujeto con autismo, un trastorno por déficit de atención (TDA), un trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) o fibrosis quística (FQ).
- 30 12. Una preparación para uso de la reivindicación 11, en donde al sujeto se administran al menos dos dosis de la preparación.
13. Una preparación para uso de la reivindicación 11, en donde el sujeto tiene una deficiencia enzimática.
14. Una preparación para uso de la reivindicación 13, donde la determinación de si el sujeto tiene una deficiencia enzimática se realiza mediante la detección de un marcador bioquímico.
- 35 15. Una preparación para uso de la reivindicación 14, donde el marcador bioquímico es un nivel de quimotripsina fecal (FCT) o una mutación del gen MET.
16. Una preparación de la reivindicación 1 o una preparación para el uso de la reivindicación 11, en donde una dosis de la preparación comprende una actividad de proteasa de no menos de 156 unidades USP por miligramo más o menos 10 %.

40

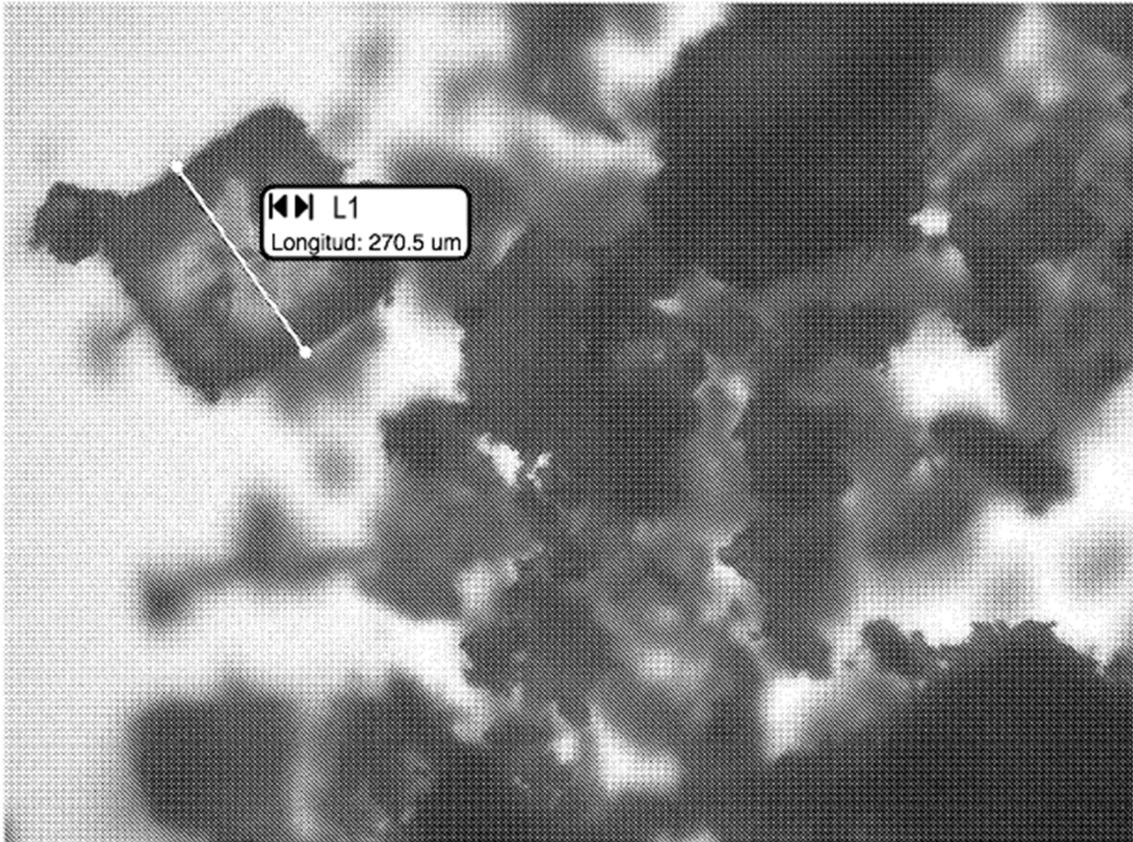


FIGURA 1

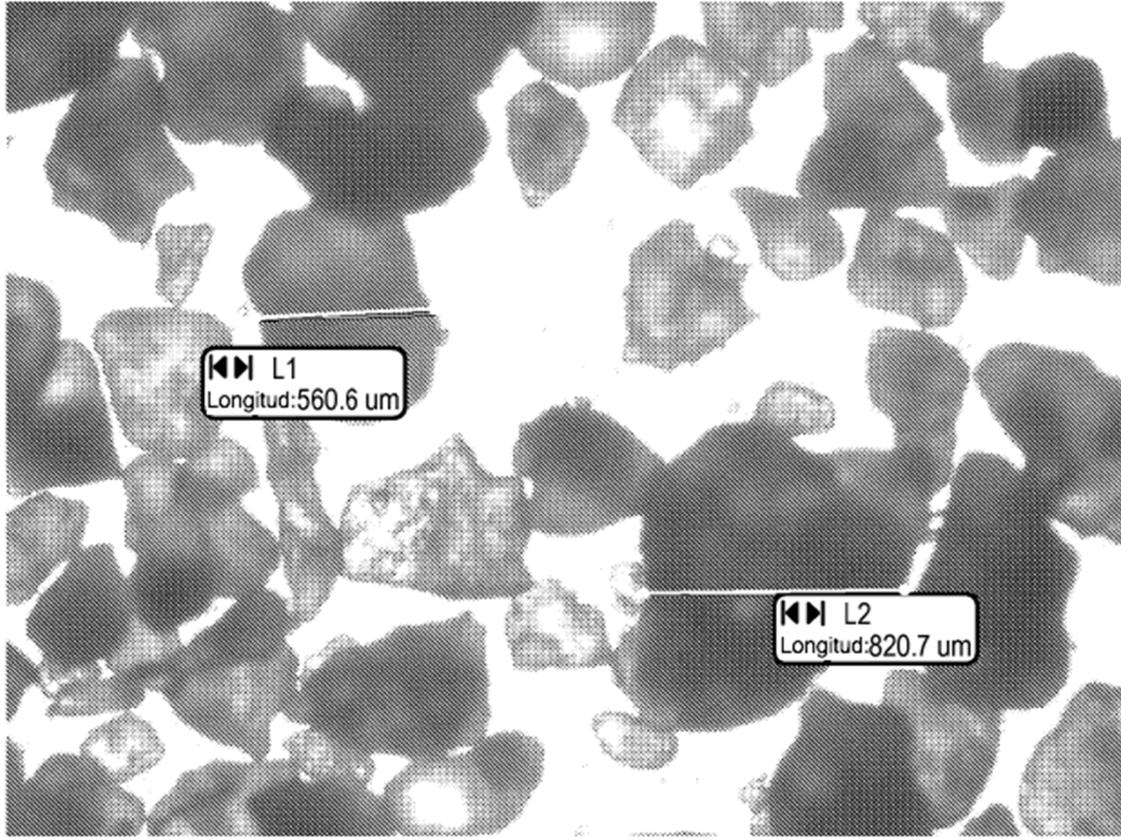


FIGURA 2

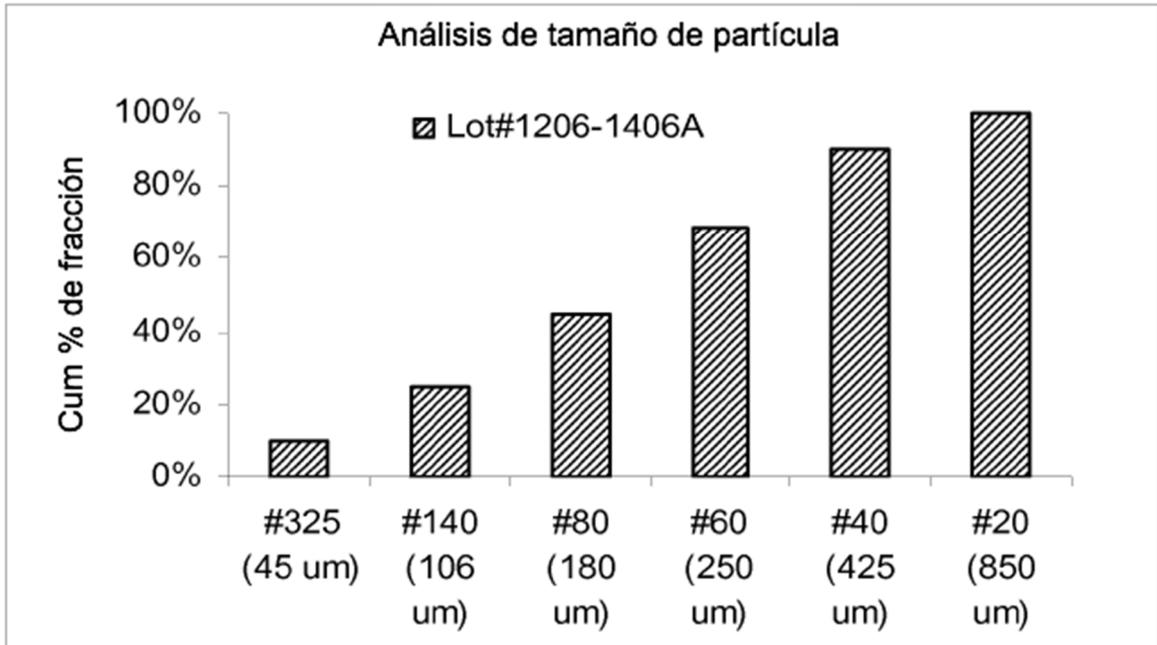


FIGURA 3

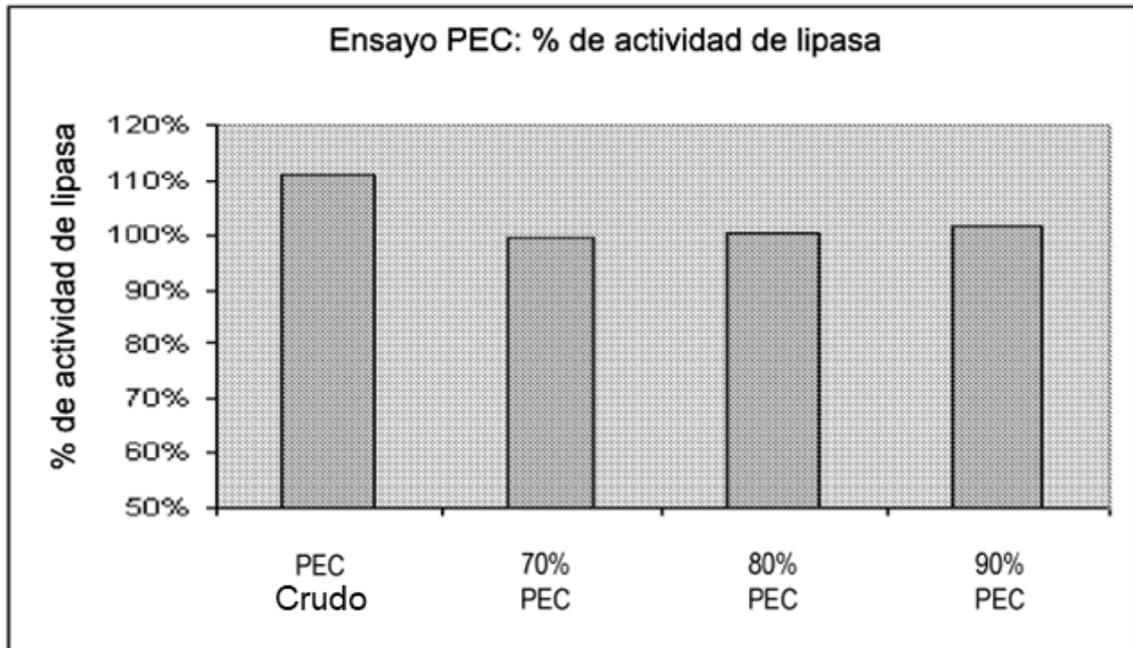


FIGURA 4

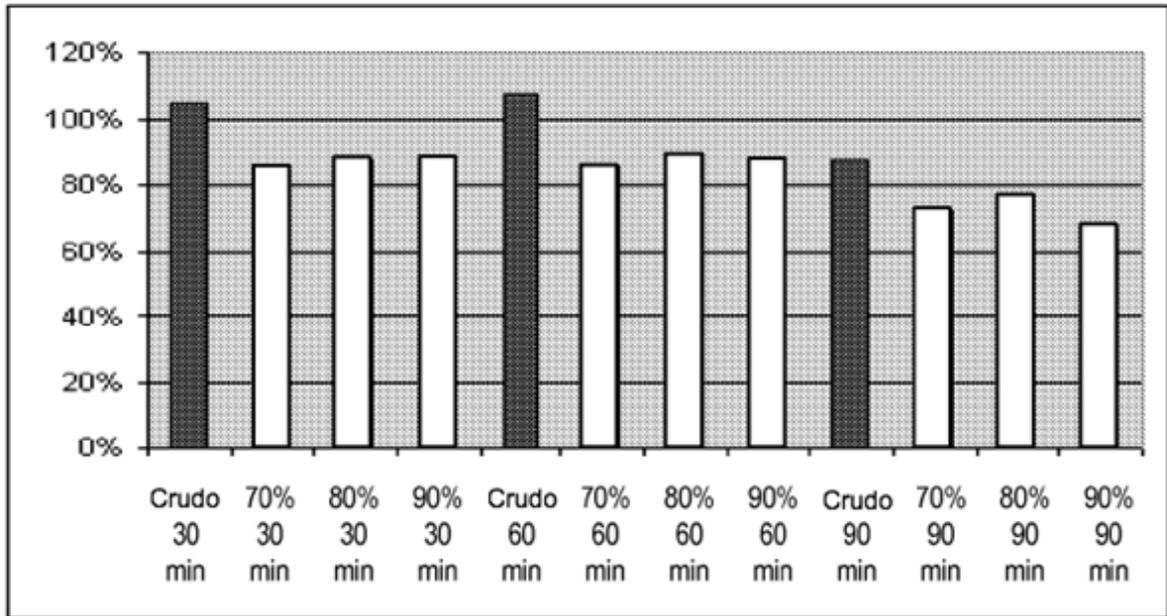


FIGURA 5

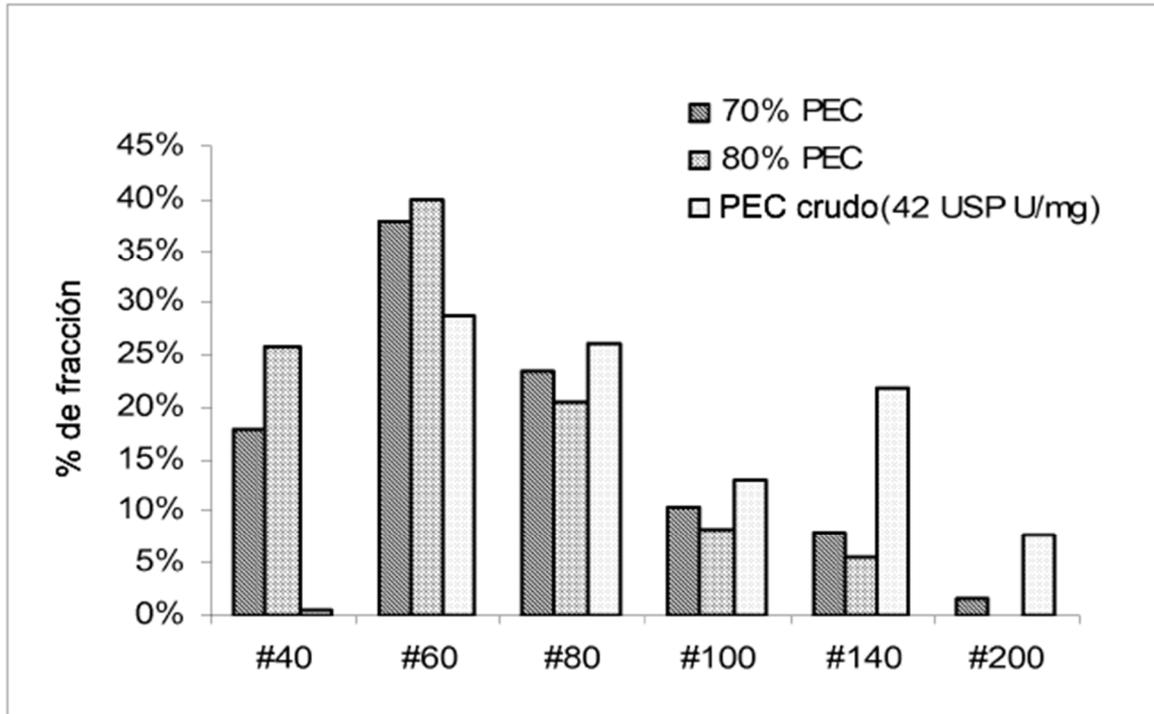


FIGURA 6

CORPORACIÓN BALCHEM

TABLA DE FLUJO para PRODUCTOS ENCAPSULADOS

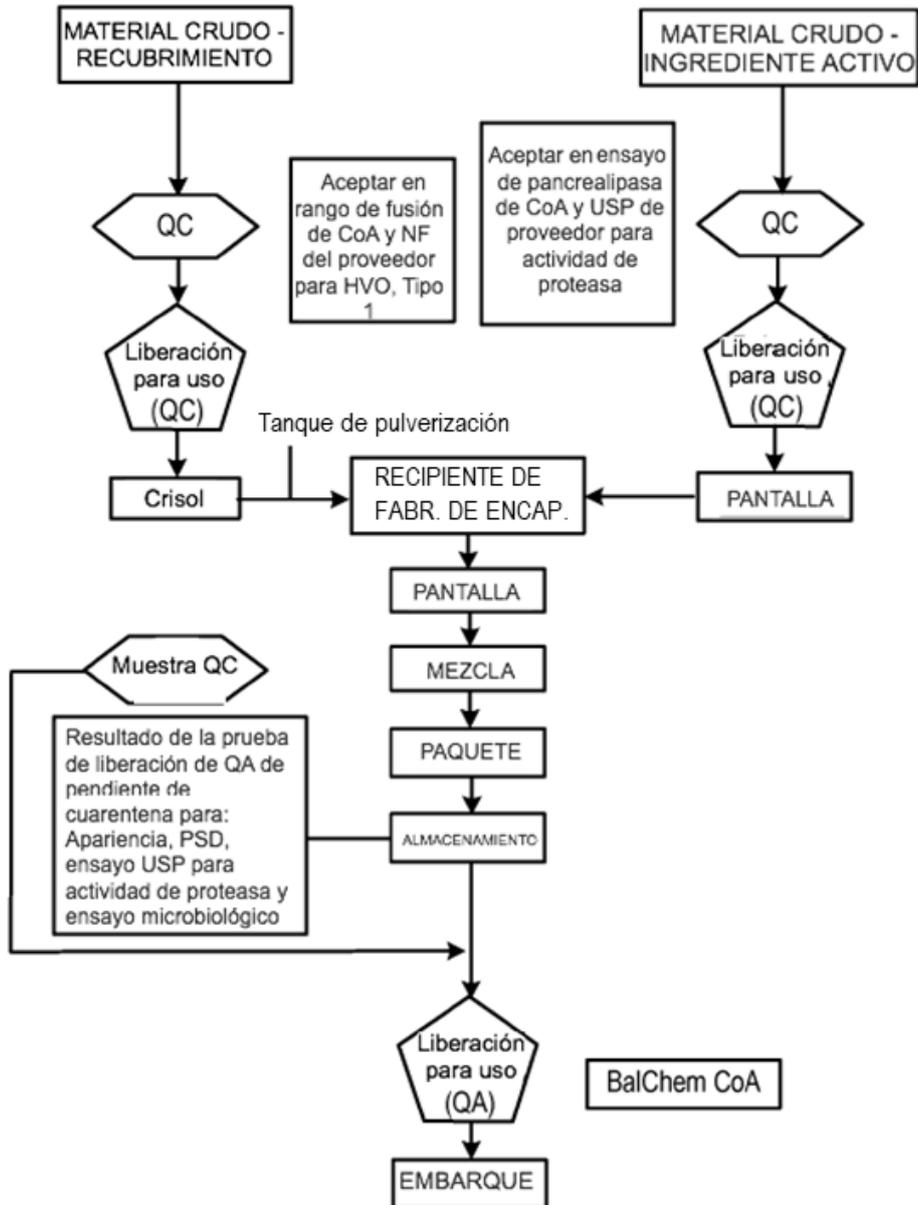


FIGURA 7

Cromatogramas de especificidad

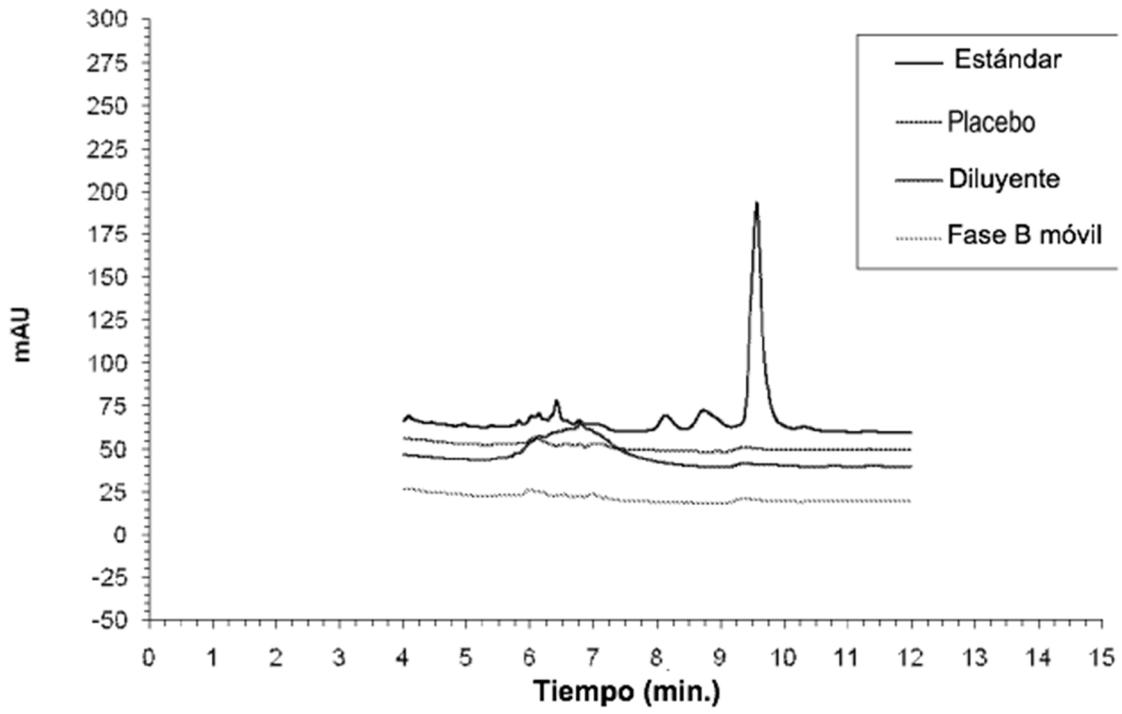


FIGURA 8

Gráfico de linealidad para el ensayo de concentrado de enzimas pancreáticas

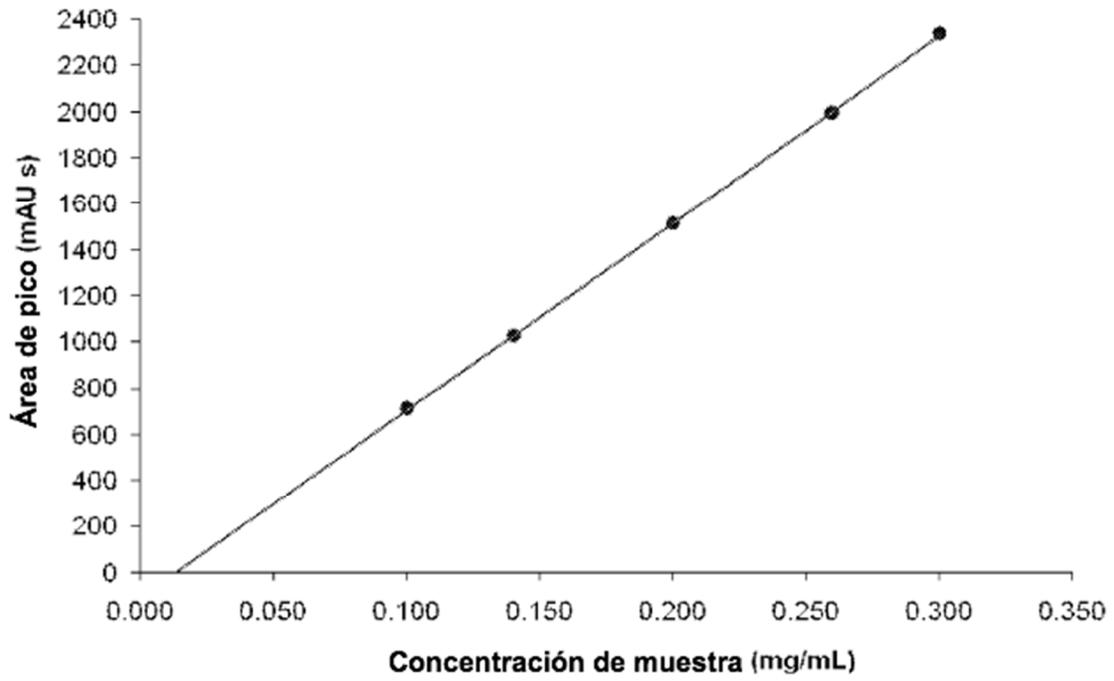


FIGURA 9

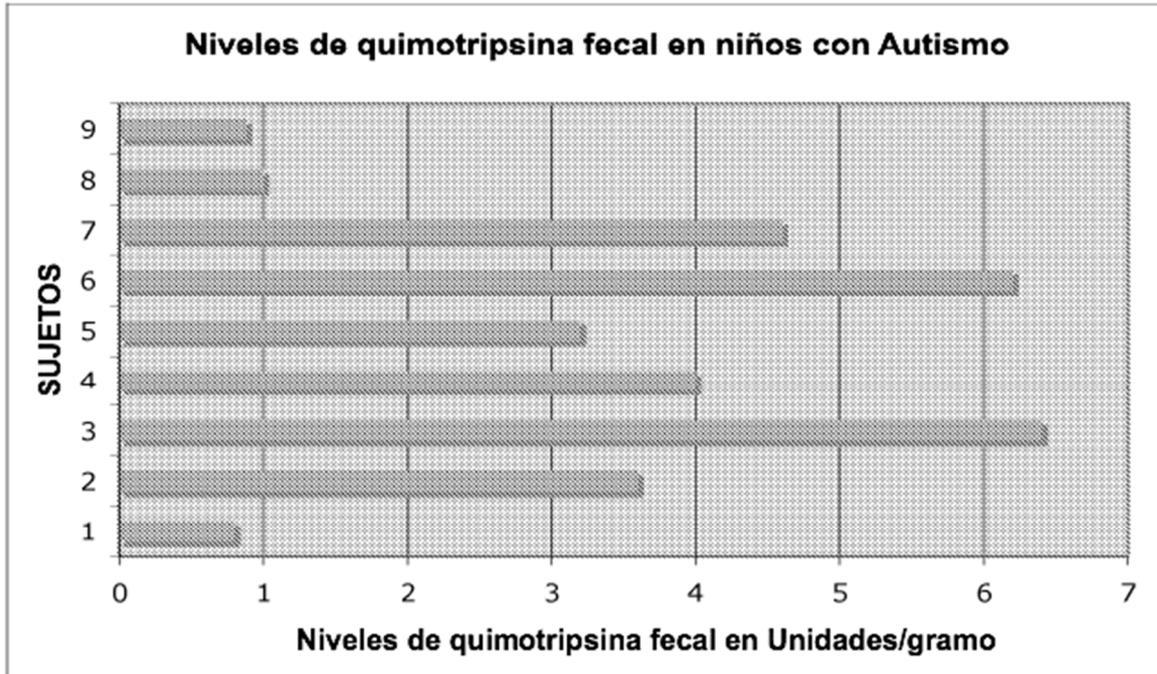


FIGURA 10



FIGURA 11

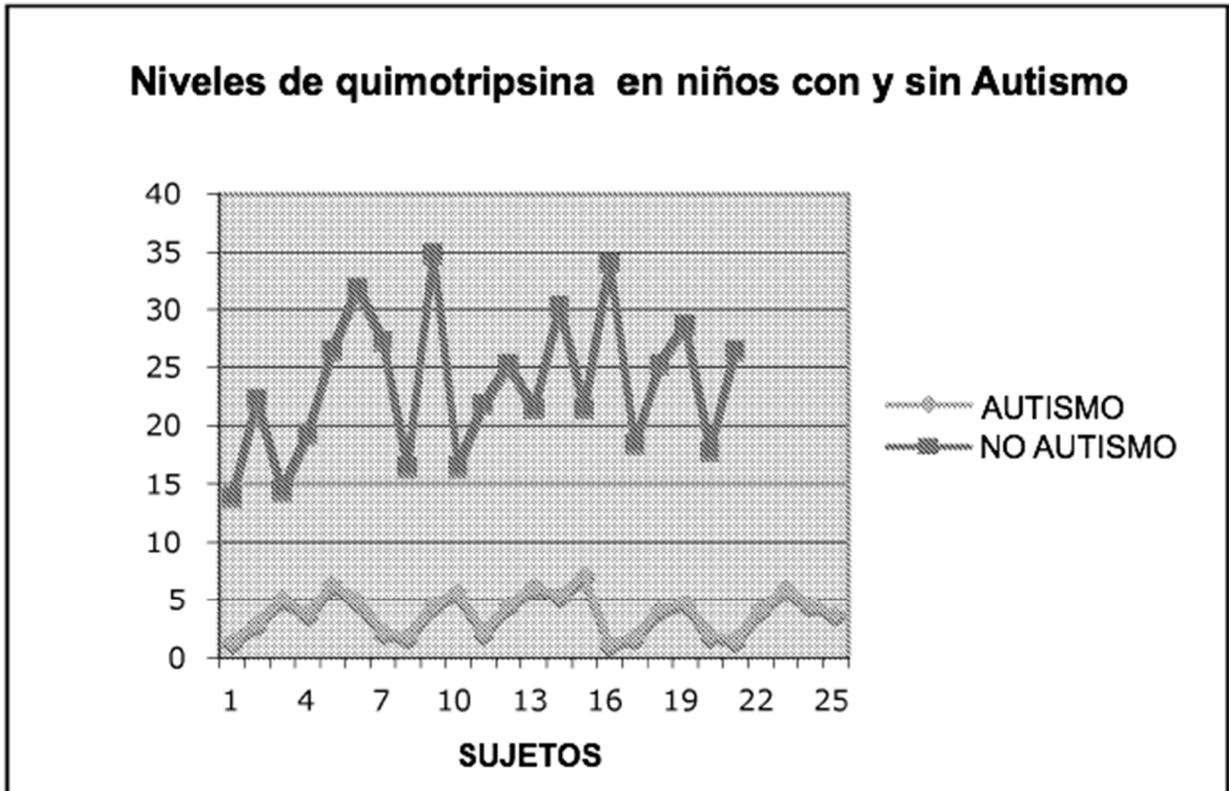
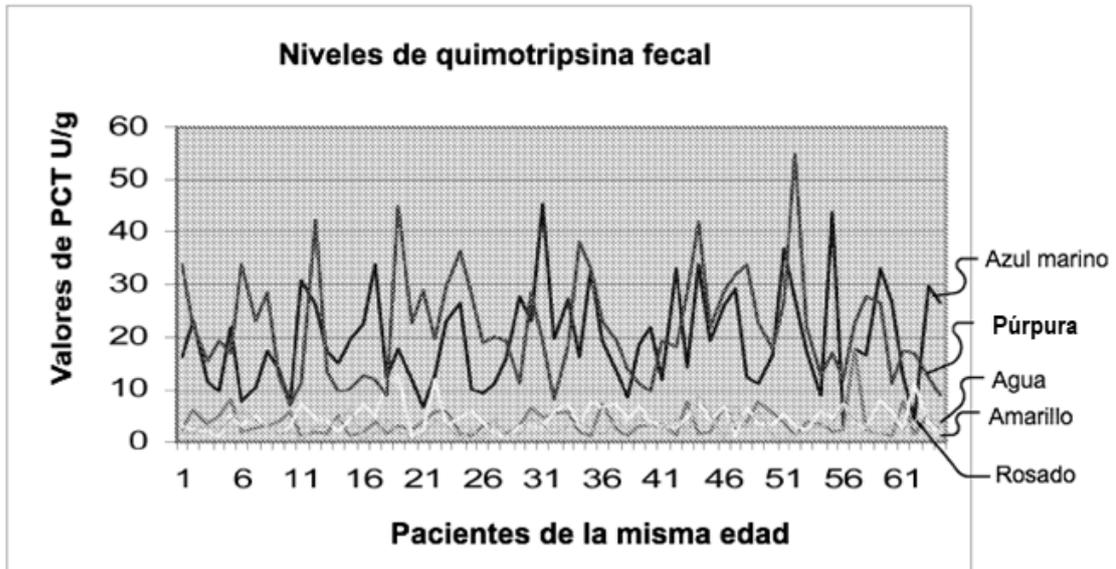


FIGURA 12

**MEDICIONES DEL NIVEL DE QUIMOTRIPSINA EN
CINCO GRUPOS DE NIÑOS DE 6-18 AÑOS**



Leyenda

- PÚRPURA** - NORMALES (NIÑOS SIN ALGUNA CONDICIÓN CONOCIDA)
- AZUL MARINO** - NIÑOS CON CONDICIÓN CONOCIDA (GENÉTICA Y OTROS)
- AGUA** - NIÑOS AUTISTAS
- AMARILLO** - NIÑOS ADD
- ROSADO** - NIÑOS ADHD

FIGURA 13

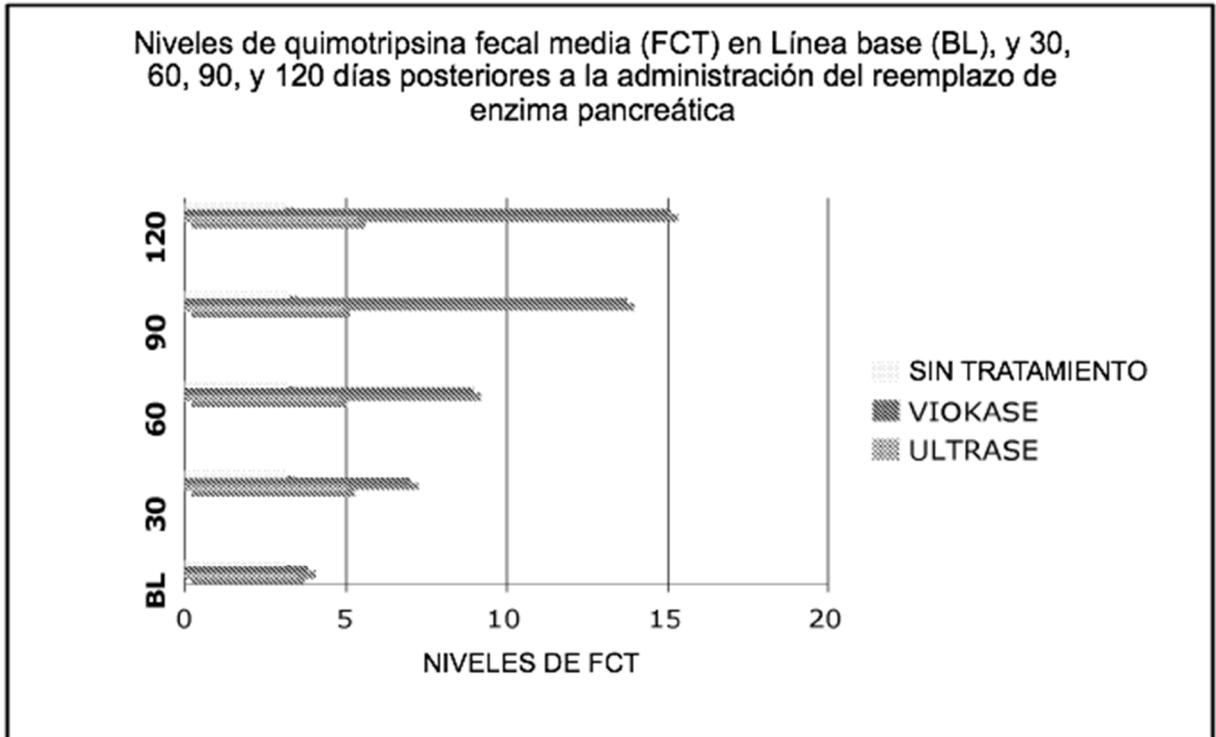


FIGURA 14