

ÖZET**İSHALİN BASKIN OLDUĞU HASSAS BAĞIRSAK SENDROMUNUN TEDAVİSİNE
YÖNELİK YÖNTEM**

5 Mevcut buluş, d-IBS ile ilişkili ağrının tedavisinde veya d-IBS ile ilişkili karındaki rahatsızlık hissinin tedavisinde kullanılmak için günde 50 mg ile günde 750 mg şeklindeki bir dozajda uygulanmak üzere formüle edilen krofelemerle ilgilidir. Mevcut buluş ayrıca, d-IBS ile ilişkili ağrının veya karındaki rahatsızlık hissinin tedavisinde kullanılmaya yönelik, enterik olarak korumalı bir krofelemer miktarıyla ilgili olup burada, söz konusu miktar günde 50 mg ile günde 750 mg arasındadır ve ilaç, oral uygulamaya yönelik olarak formüle edilmektedir.

İSTEMLER

1. Krofelemer olup d-IBS ile ilişkili ağrının veya d-IBS ile ilişkili karındaki rahatsızlık hissini tedavisinde kullanılmak üzere günde 50 mg ile günde 750 mg aralığındaki bir dozajda uygulamaya yönelik olarak formüle edilmektedir.
- 5 2. İstem 1'e uygun kullanıma yönelik krofelemer olup burada, krofelemer bir *Croton spp.* veya bir *Calophyllum spp.*'den ekstrakt edilmektedir.
3. İstem 1 ile 2'den herhangi birine uygun kullanıma yönelik krofelemer olup burada, krofelemer enterik kaplamalı krofelemerdir.
4. İstem 3'e uygun kullanıma yönelik krofelemer olup burada, krofelemer günde 50 mg ile
10 günde 750 mg arasındaki bir miktarda oral uygulamaya yönelik olarak formüle edilmektedir.
5. İstem 4'e uygun kullanıma yönelik krofelemer olup burada, krofelemer günde 250 mg'lık bir miktarda uygulamaya yönelik olarak formüle edilmektedir.
6. İstem 4'e uygun kullanıma yönelik krofelemer olup burada, krofelemer 125 mg'lık bir miktarda uygulamaya yönelik olarak formüle edilmektedir.
- 15 7. d-IBS ile ilişkili ağrının veya karındaki rahatsızlık hissini tedavisinde kullanılmaya yönelik enterik korumalı bir krofelemer miktarı olup burada, miktar günde 50 mg ile günde 750 mg arasındadır ve ilaç oral uygulamaya yönelik olarak formüle edilmektedir.
8. İstem 7'ye uygun kullanıma yönelik miktar olup burada, krofelemer miktarı günde 250 mg'dır.
- 20 9. İstem 7'ye uygun kullanıma yönelik miktar olup burada, krofelemer 125 mg'lık bir miktarda uygulamaya yönelik olarak formüle edilmektedir.
10. İstem 1 veya 7'ye uygun kullanıma yönelik miktar olup burada, ilaç bir kadın insanın tedavisine yöneliktir.

TARİFNAME

İSHALİN BASKIN OLDUĞU HASSAS BAĞIRSAK SENDROMUNUN TEDAVİSİNE YÖNELİK YÖNTEM

BULUŞUN ALT YAPISI

- 5 Hassas bağırsak sendromu (IBS), yaşam kalitesi üzerinde belirgin bir etkiye sahip olan yaygın bir bağırsak işlev bozukluğudur. IBS'nin tanımlayıcı bir özelliği, karında rahatsızlık hissi veya karın ağrısıdır. IBS'ye yönelik Roma II Tanı Kriterleri (işlevsel mide-bağırsak rahatsızlıklarının semptomlar temel alınarak tanınmasına yönelik bir sistem) şu şekildedir: Geçmiş 12 ay içerisinde ardışık olması şart olmayan en az 12 hafta veya daha uzun bir süre
- 10 boyunca, aşağıdaki unsurlardan en az ikisinin eşlik ettiği karında rahatsızlık hissi veya karın ağrısının mevcut olması: (1) Rahatsızlığın dışkılama durumunda hafiflemesi ve/veya (2) rahatsızlık başlangıcının dışkı sıklığındaki bir değişiklik ile ilişkili olması ve/veya (3) rahatsızlık başlangıcının dışkı biçimindeki (görünüşündeki) bir değişiklik ile ilişkili olması.

- 15 IBS tanısını destekleyen diğer semptomlar arasında ağrı; anormal dışkı geçişi (zorlama, sıkıştırma veya tamamlanmamış boşaltım duygusu); mukus geçişi ve şişkinlik veya karındaki şişlik hissi yer almaktadır. Hastalar, altta yatan bağırsak alışkanlıklarına göre şu alt gruplara ayrılabilir: (i) İshalin baskın olduğu IBS, (ii) pekleğin baskın olduğu IBS ve (iii) ishale dönüşümlü peklik (dönüşümlü IBS).

- 20 Birleşik Krallık nüfusunun yaklaşık dörtte birinin semptomları göstermesinin söz konusu olabilmesi gerçeğine ve ABD'deki yetişkinlerin yaklaşık yüzde 15'inin IBS tanısıyla uyumlu semptomları rapor etmesi gerçeğine karşın, IBS'nin patofizyolojisi çok az anlaşılmıştır. IBS'li bireylerin yalnızca yüzde 25'inin tıbbi yardıma başvurduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca, IBS tanısının konulduğu hastalar fibromiyalji ve interstisyel sistit gibi mide-bağırsak işlevleriyle ilgili olmayan başka rahatsızlıklar anlamında da artan risk taşımaktadır.

- 25 IBS, ABD'de gastroenterologların en yaygın koyduğu tanıdır ve birinci basamak hekimliğine yapılan başvuruların yüzde 12'sini oluşturmaktadır. ABD'de her yıl IBS'nin tanınması ve tedavi edilmesi amacıyla direkt tıbbi giderler için yaklaşık 8 milyar dolar ve dolaylı masraflar için de 25 milyar dolar harcanmaktadır. Dolayısıyla IBS, ABD'deki yıllık sağlık bakım maliyetlerinin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır.

- 30 Temel IBS tedavisi, rehberlik ve beslenme rejimi değişikliğini içermektedir. İlaç tedavisinin, tek tek semptomları hedeflemesi durumunda yararlı olduğu kabul edilmektedir. İshalin baskın olduğu olgularda, loperamid gibi antidiyareik ilaçlar kullanılabilir olup bunlar karın ağrısını değil, ishali tedavi etmektedir. Karın ağrısı IBS için tanımlayıcı özelliklerden biri olduğundan, antidiyareik ilaçlar IBS'yi yeterli ölçüde tedavi etmemektedir (Jailwala ve

diğerleri, 2000, Ann Intern Med. 2000, 133: 136-147; Cremonini ve diğerleri, 2004, Minerva Med 95: 427-441). Pekliğin baskın olduğu olgularda, diyet posasının artırılması için ispagula sıklıkla kullanılmaktadır. Hastaların baskın semptom olarak ağrı ve şişlikten yakındığı durumlarda, antispazmolitikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu gibi olgularda mebeverin ve nane yağı sıklıkla kullanılmaktadır. IBS'nin tedavi edilmesi amacıyla denenmiş olan diğer maddeler arasında beta blokerler, nalokson, ondansetron, kalsiyum kanal blokerleri, simetikon, löprorelın, oktreotid ve kolesistokinın antagonistleri yer almakta olup bunlardan değişken sonuçlar elde edilmiştir (Martindale, The Extra Pharmacopoeia, 31. Baskı (1996) sf. 1197).

- 10 Seçici bir 5-hidroksitriptamin 3 (5-HT₃) antagonisti olan alosetron hidroklorür, yani Lotronex® adlı ilaç (GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, NC), şiddetli ishalin baskın olduğu hassas bağırsak sendromunun (d-IBS) mevcut olduğu ailelerin tedavisi için günümüzde onaylanmış durumda olan tek ilaçtır. İskemik kolit ve yaşamı tehdit edici şiddetli peklik gibi emniyetle ilgili endişelerden ötürü, mevcut olan bu tek ilacın bile sadece şiddetli d-IBS'den yakınan kadınlarda kullanılmasına onay verilmektedir. İshal tedavisine yönelik başka ilaçlar (örneğin loperamid, difenoksilat) mevcut olsa da, bu tür ilaçlar d-IBS'nin ağrı ve karında rahatsızlık hissi gibi çoklu semptomlarına çözüm getirmeyi hedeflememektedir ve dolayısıyla uzun vadeli birer seçenek değildirler (bakınız Wood, 2003, AJJ. NEMJ 349: 2136-2146). Ağrı ve karında rahatsızlık hissi dahil olmak üzere çoklu d-IBS semptomlarına çözüm getirecek olan, dIBS tedavisine yönelik iyileştirilmiş terapötiklere duyulan bir ihtiyaç söz konusudur.

- Tempesta'ya verilen 5,211,944 ve 5,494,661 sayılı ABD patentleri, viral enfeksiyonların tedavisine yönelik olarak Croton spp. veya Calophyllum spp.'den izole edilen bir proantosiyanidin polimerik bileşiminin kullanımını ifşa etmektedir. Rozhon ve diğerleri 2005/0019389 sayılı ABD patent yayımında, sekretuvar ishalin veya seyahat ishalinin tedavisine yönelik olarak Croton spp. veya Calophyllum spp.'den izole edilen bir proantosiyanidin polimerik bileşiminin kullanımını ifşa etmektedir. WO 00/47062 olarak yayımlanan PCT/US00/02687 sayılı PCT başvurusu, Croton spp. veya Calophyllum spp.'den izole edilen bir proantosiyanidin polimerik bileşiminin üretilmesine yönelik bir yöntemi ifşa etmektedir. Di Cesare ve diğerleri (2002, Am J Gastroenterol 10: 2585-2588), seyahat ishaline yönelik bir tedavi olarak plaseboyla kıyaslamalı bir krofelemer klinik denemesini ifşa etmektedir. Bu çalışmada kullanılan dozajlar, iki günlük bir süre boyunca 500 mg/gün (günde dört kez 125 mg); 1000 mg/gün (günde dört kez 250 mg) ve 2000 mg/gün (günde dört kez 500 mg) şeklinde olmuştur. Çalışma, bileşimin, seyahat ishalinden yakınan hastalarda dışkı frekansı ve mide-bağırsak semptomlarının iyileştirilmesinde yararlı olduğunu göstermiştir.

Bu başvurunun bu bölümünde veya başka herhangi bir bölümünde herhangi bir kaynağın zikredilmesi veya ifade edilmesi, söz konusu kaynağın mevcut başvuru için önceki teknik olarak mevcut bulunduğu kabulü olarak yorumlanmamalıdır.

5 Jafari ve diğerleri, "Black tea extract and its major polyphenolic pigment may ameliorate the gastrointestinal disorder in irritable bowel syndrome (siyah çay ekstresi ve ana polifenolik pigmenti, hassas bağırsak sendromundaki mide-bağırsak rahatsızlığını iyileştirebilir)" Medical Hypotheses, Eden Press, Cilt 67, No. 2; 1 Ocak 2006, sayfa 419 kaynağı, IBS-D'deki ishalin tedavisi için loperamid kullanımına yöneliktir ve d-IBS ile ilişkili ağrının veya karındaki rahatsızlık hissinin tedavisi için krofelemer kullanımını ifşa etmemekte, öğretmemekte veya 10 ileri sürmemektedir.

Lesbros-Pantoflickova ve diğerleri, "Meta-analysis: The treatment of irritable bowel syndrome (meta analiz: hassas bağırsak sendromunun tedavisi)" Alimentary Pharmacology & Therapeutics, Cilt 20, No. 11-12, Aralık 2004, sayfa 1253-1269 kaynağı, IBS-D'deki ishalin tedavisi için loperamid kullanımına yöneliktir ve d-IBS ile ilişkili ağrının veya karındaki 15 rahatsızlık hissinin tedavisi için krofelemer kullanımını ifşa etmemekte, öğretmemekte veya ileri sürmemektedir.

WO 00/47062 A2 sayılı belge, bir gıda takviyesi olarak kullanılmaya yönelik zenginleştirilmiş bir proantosiyanın polimer konsantresinin hazırlanmasına ilişkin yöntemlere yöneliktir ve seyahat ishali, ülseratif kolit, bağırsak hastalığı ve mide-bağırsak yolu kanserleri ve 20 neoplazileri gibi geniş bir yelpaze dahilindeki hastalık ve semptomları kapsayan sekretuar ishale ilgilidir. WO 00/47062 A2 sayılı belge, d-IBS ile ilişkili ağrının veya karındaki rahatsızlık hissinin tedavisi için krofelemer kullanımını ifşa etmemekte, öğretmemekte veya ileri sürmemektedir.

US 2005/100535 sayılı belge, spor oluşturan bir *Bacillus coagulans* laktik asit bakterisini 25 içeren bir bileşimin uygulanmasına yer veren tedavi yöntemlerine yöneliktir ve *Bacillus coagulans*'ın örneğin "tıbbi bir gıda" olarak uygulandığı zaman IBS ve karbonhidrat emilim bozukluğunun önlenmesi ve tedavisi konusundaki terapötik etkileriyle ilgilidir. US 2005/100535 sayılı belge, d-IBS ile ilişkili ağrının veya karındaki rahatsızlık hissinin tedavisi için krofelemer kullanımını ifşa etmemekte, öğretmemekte veya ileri sürmemektedir.

30 **BULUŞUN ÖZETİ**

Mevcut buluş, d-IBS ile ilişkili ağrının tedavisinde veya d-IBS ile ilişkili karındaki rahatsızlık hissinin tedavisinde kullanılmak için günde 50 mg ile günde 750 mg şeklindeki bir dozajda uygulanmak üzere formüle edilen krofelemerle ilgilidir. Mevcut buluş ayrıca, d-IBS ile ilişkili ağrının veya karındaki rahatsızlık hissinin tedavisinde kullanılmaya yönelik, enterik olarak

korumalı bir krofelemer miktarıyla ilgili olup burada, söz konusu miktar günde 50 mg ile günde 750 mg arasındadır ve ilaç, oral uygulamaya yönelik olarak formüle edilmektedir.

Özel bir yapılanmada krofelemer, COX-2'yi inhibe eden ve tercihen COX-1'e göre COX-2'yi seçmeli olarak inhibe eden ve tercihen sistemik olarak emilmeyen bir bileşikle birlikte uygulanmaktadır. Bu tür bileşikler arasında 5-ASA, sülfasalazin, mesalamin, APAZA ve ayrıca, selekoksib ve rofekoksib gibi piyasada mevcut diğer COX-2 inhibitörleri yer almaktadır.

İsteğe bağlı olarak, analjezik veya antienflamatuar maddeler krofelemerle birlikte uygulanabilmektedir. Özellikle söz konusu madde, sistemik olarak emilmeyecek şekilde formüle edilmekte veya modifiye edilmektedir.

ŞEKİLLERİN KISA AÇIKLAMASI

Şekil 1, 125 mg bid krofelemerin kadınlarda dışkı frekansı üzerindeki etkisini gösteren bir grafikdir.

Şekil 2, 125 mg bid krofelemerin kadınlarda sıkıştırma üzerindeki etkisini gösteren bir grafikdir.

Şekil 3, krofelemerin kadınlarda IBS semptomlarının yeterli ölçüde hafiflemesi üzerindeki etkilerini gösteren bir grafikdir.

Şekil 4, krofelemerin kadınlarda ağrı skoru üzerindeki etkisini gösteren bir grafikdir.

Şekil 5, krofelemerin kadınlarda ağrısız gün yüzdesi üzerindeki etkisini gösteren bir grafikdir.

Şekil 6, krofelemerin kadınlarda ağrı skoru üzerindeki etkisini gösteren bir grafikdir.

Şekil 7A-7H, mevcut buluşa uygun yöntemlerde kullanışlı olan örnek CFTR inhibitör molekülleri göstermektedir. Şekil 7A, 3-[(3-triflorometil)fenil]-5-[(3karboksifenil)metilen]-2-tiyokso-4-tiyazolidinon'dur. Şekil 7B ve 7F, glisin hidrazidlerdir. Şekil 7C, 7D, 7E, 7G ve 7H, malonik asit hidrazidlerdir. Aşağıda ele alınacağı üzere, bu moleküller isteğe bağlı olarak, bağırsakta emilemez hale getirilmeleri amacıyla pegile edilebilmektedir.

BULUŞUN AYRINTILI AÇIKLAMASI

Mevcut buluş, d-IBS ile ilişkili ağrının tedavisinde veya d-IBS ile ilişkili karındaki rahatsızlık hissinin tedavisinde kullanılmak için günde 50 mg ila günde 750 mg şeklindeki bir dozajda uygulanmak üzere formüle edilen krofelemerle ilgilidir.

Mevcut buluş kısmen, Croton spp. veya Calophyllum spp.'den izole edilen polimerik proantosiyanidin bileşimlerinin, örneğin krofelemerin, d-IBS ile ilişkili ağrıyı ve karındaki

- rahatsızlık hissini hafiflettiği yönündeki keşfi temel almaktadır. Ayrıca, epitelyel hücrelerde örneğin kistik fibrozis transmembran iletkenliğini düzenleyici klorür iyonu kanalı (CFTR) vasıtasıyla klorür iyonu taşınmasının sadece sekretuvar (akut) ishalde rol oynamakla kalmadığı, aynı zamanda ishalin baskın olduğu hassas bağırsak sendromunun (d-IBS) etiolojisinde de beklenmedik bir biçimde rol oynadığı yönündeki keşif açıklanmaktadır. Buna ek olarak mevcut buluş kısmen, *Croton* spp. veya *Calophyllum* spp.'den izole edilen polimerik proantosiyanın bileşimlerinin, örneğin krofelemerin, anormal dışkı frekansı, anormal dışkı kıvamı ve sıkıştırma durumunun varlığı gibi ishalle ilişkili d-IBS semptomlarını, sekretuvar ishalin tedavi edilmesi amacıyla önceden kullanılanlara kıyasla anlamlı ölçüde daha düşük dozajlarda hafiflettiği yönündeki keşfi temel almaktadır. Örneğin, sekretuvar ishalin tedavi edilmesinde etkili olduğu önceden öğretilen dozajlar iki gün süreyle oral yoldan uygulanan enterik olarak korumalı 5,500 mg krofelemeri içermekteyken, mevcut buluştaki örnek dozajlar oral yoldan uygulanan enterik olarak korumalı krofelemerin günde yaklaşık 50 mg ile günde yaklaşık 750 mg arasındaki bir miktarını içermektedir.
- Klorür iyonunun taşınması, bir dizi mekanizma vasıtasıyla inhibe edilebilmektedir. Örneğin kistik fibrozis transmembran iletkenliğini düzenleyici klorür iyonu kanalının (CFTR) işlevi etkiye maruz bırakılarak klorür iyonunun salgılanması inhibe edilebilmekte ve böylece klorür iyonunun taşınması inhibe edilebilmektedir. Klorür iyonunun salgılanması ayrıca, bir hücrede potasyum iyonu kanallarının açılması yoluyla da inhibe edilebilmektedir. Klorür iyonunun salgılanması ayrıca, cAMP'nin artış yönünde düzenlenmesinin bloke edilmesi yoluyla da inhibe edilebilmektedir.
- Kistik fibrozis transmembran iletkenliğini düzenleyici klorür iyonu kanalı (CFTR), çeşitli ökaryotik hücre tiplerinde klorür iletkenliğinin ekspresyonuyla ilişkilendirilmiş olan 1480 amino asitli bir proteindir. Bakınız Rommens ve diğerleri, 1989, *Science* 245: 1059; Riorden ve diğerleri, 1989, *Science* 245: 1066; Kerem ve diğerleri, 1989, *Science* 245: 1073; Drumm ve diğerleri, 1991, *Cell* 64: 681; Kartner ve diğerleri, 1991, *Cell* 64: 681; Gregory ve diğerleri, 1990, *Nature* 347: 382; Rich ve diğerleri, 1990, *Nature* 347: 358 ve Rommens ve diğerleri, 1991, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 88: 7500. CFTR'deki kusurlar hava yolları, ter bezleri, pankreas ve diğer dokulardaki epitelyel hücrelerin cAMP'nin arabuluculuk ettiği agonistlere yanıt olarak klorür iyonları salgılama yetisini yok etmekte veya azaltmakta ve apikal membran kanallarının cAMP'ye bağımlı protein kinaz A (PKA) tarafından aktivasyonuna zarar vermektedir. Bakınız Frizell ve diğerleri, 1987, *Trends Neurosci* 10: 190; Welsh, 1990, *FASEB J.* 4: 2718.

CFTR'nin nükleotid ve amino asit dizileri klonlanmıştır (Riordan ve diğerleri, 1989, Science 245: 1066-1073) ve GenBank'ta M28668 giriş kayıt numarasıyla ve SwissProt'ta P13569 giriş kayıt numarasıyla erişilebilir durumdadır.

Proantosiyanidinler, yoğunlaşmış tanenlere ait bir gruptur. Tanenler çok çeşitli bitkilerde bulunmakta ve hidrolizlenebilir veya yoğunlaşmış olarak sınıflandırılmaktadır. İshale yönelik tedavi veya profilaksi olarak geleneksel tıpta kullanılan birçok bitkinin tanenleri ve özellikle proantosiyanidinleri barındırdığı saptanmıştır (bakınız, örneğin Yoshida ve diğerleri, 1993, Phytochemistry 32: 1033; Yoshida ve diğerleri, 1992, Chem. Pharm. Bull., 40: 1997; Tamaka ve diğerleri, 1992, Chem. Pharm. Bull. 40: 2092). Örneğin *Pycanthus angolenis* ve *Baphia nitida* gibi tıbbi bitkilerden elde edilen ham ekstrelerin hayvan testlerinde antidiyareik niteliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Onwukaeme ve Anuforo, 1993, Discovery and Innovation, 5: 317; Onwukaeme ve Lot, 1991, Phytotherapy Res., 5: 254). Tanenleri barındıran ham ekstreler, özellikle keçiboynuzu zarflarından ve tatlı kestane ağacından elde edilen ekstreler, ishale yönelik tedavi veya profilaksi olarak önerilmiştir (5,043,160 sayılı ABD patenti; 481,396 sayılı Avrupa patenti).

Proantosiyanidinler, aynı veya farklı monomerik yapıya sahip olabilen en az iki veya daha fazla monomer biriminden oluşmaktadır. Monomer birimleri (genellikle "lökantosiyanidin" olarak anılmaktadır) genellikle kateşinleri, epikateşinleri, gallokateşinleri, galloepikateşinleri, flavanoller, flavonoller ve flavan-3,4-dioller, lökosiyanidinleri ve antosiyanidinleri içeren monomerik flavonoidler şeklindedir. Dolayısıyla polimer zincirleri, polimerik proantosiyanidinlere ait geniş bir varyasyonu ve çok sayıda olası izomeri meydana getiren farklı yapısal birimleri temel almaktadır (Hemingway ve diğerleri, 1982, J.C.S. Perkin, 1: 1217). Flavonoid 3-ol birimlerine ait daha büyük polimerler çoğu bitkide baskın olarak yer almakta ve 2,000 dalton değerinin üzerindeki ortalama moleküler ağırlıklara sahip olarak ve 6 veya daha fazla birime yer verir şekilde mevcut bulunmaktadır (Newman ve diğerleri, 1987, Mag. Res. Chem., 25: 118).

Proantosiyanidin polimerleri çok çeşitli bitkilerde ve özellikle odunsu büyüme davranışına sahip olan bitkilerde (örneğin *Croton* spp. ve *Calophyllum* spp.) bulunmaktadır. Güney Amerika'da bulunan *Croton sakutaris*, *Croton gossypifolius*, *Croton palanostima*, *Croton lechleri*, *Croton erythrochilus* ve *Croton draconoides* gibi bir dizi farklı *Croton* ağacı türü, Sangre de Drago veya "Ejderha Kanı" olarak adlandırılan bir kırmızı viskoz lateks öz suyu üretmektedir. Bu kırmızı viskoz lateks, tıbbi özellikleri nedeniyle yaygın olarak bilinmektedir. Örneğin 5,211,944 sayılı ABD patenti, *Croton* spp.'den elde edilen suda çözünür bir proantosiyanidin polimer bileşimini ve bileşimin bir antiviral madde olarak kullanımını ilk kez açıklamıştır (bakınız, ayrıca Ubillas ve diğerleri, 1994, Phytomedicine, 1: 77).

Proantosiyanidin polimer bileşiminin solunum sinsisyal, influenza, parainfluenza ve herpes virüsleri dahil olmak üzere çeşitli virüslere karşı antiviral aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. 5,211,944 sayılı ABD patenti ayrıca, suda çözünür bir proantosiyanidin polimer bileşiminin Calophyllum inophyllum'dan izolasyonunu ve bu bileşimin bir antiviral madde olarak

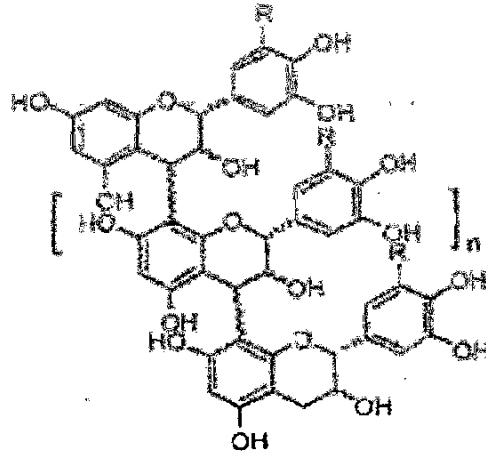
5

Örnek proantosiyanidin polimer bileşimleri tercihen bir Croton spp. veya Calophyllum spp.'den bu alandan bilinen herhangi bir yöntem vasıtasıyla izole edilmektedir. Örneğin proantosiyanidin polimer bileşimi bir Croton spp. veya Calophyllum spp.'den aşağıda Örnek 2'de ifşa edilen ya da 5,211,944 sayılı ABD patentinde ifşa edilen ya da Ubillas ve diğerleri, 1994, Phytomedicine, 1: 77-106 kaynağında ifşa edilen yöntem vasıtasıyla izole edilebilmektedir.

10

Buluşa uygun proantosiyanidin polimer bileşimi, krofelemerdir. Krofelemer (CAS 148465-45-6), Euphorbiaceae familyasına üye *Croton lechleri*'nin Ejderha Kanından türetilen, değişen zincir uzunluklarına sahip bir oligomerik proantosiyanidindir. Krofelemer, yaklaşık 1900 dalton ila yaklaşık 2700 dalton aralığındaki bir ortalama moleküler ağırlığa sahiptir. Krofelemer içeren monomerler arasında kateşin, epikateşin, gallokateşin ve epigallokateşin yer almaktadır. Krofelemerin zincir uzunluğu yaklaşık 3 ila yaklaşık 30 birim aralığında değişmekte olup ortalama zincir uzunluğu yaklaşık 8 birimdir. Krofelemerin yapısı aşağıda gösterilmektedir:

15



R = H veya OH

n = 3 - 30

20

Bu yapıda, ortalama n = 6 şeklindedir.

Krofelemerin izole edilmesine yönelik başka bir temsili yöntem, 200510019389 sayılı ABD patent yayımında bulunabilir.

Buluşun diğer yapılanmalarında, spesifik olarak polimerik proantosiyanidin bileşimleri şeklinde olmayan, bir Croton türünden veya bir Calophyllum türünden elde edilen bir ham lateks ya da bir Croton türünden veya bir Calophyllum türünden elde edilen bir ekstre, mevcut buluşa uygun yöntemlerde kullanışlıdır. Örnek ekstreler Persinos ve diğerleri, 1979, J. Pharma. Sci. 68: 124 ve Sethi, 1.977, Canadian J. Pharm. Sci. 12: 7 kaynaklarında açıklanmaktadır.

Tercih edilen bir yapılanmada, buluşa uygun yöntemlerde kullanılan moleküller oral yoldan uygulandıkları zaman büyük ölçüde sistemik olarak emilmemektedir. Oral yoldan iletildiği zaman sistemik olarak emilen küçük moleküller ve diğer ilaçlar, sistemik emilimin önlenmesi amacıyla modifiye edilebilmektedir. Bu tür modifikasyonlar bu alanda bilinmektedir. Örneğin buluşa uygun bir inhibitör molekül, mide-bağırsak yolunda büyük ölçüde inert (reaksiyon girmeyen) yapıda olan ve molekülün işlevine müdahalede bulunmayan, sistemik olarak emilmeyen bir bileşiğe kovalent olarak bağlanabilmektedir. Sistemik olarak emilmeyen bu tür bileşikler arasında çeşitli polimerler yer almaktadır. Buluşa uygun inhibitör molekülle birlikte tercihen kullanılan polimerler mide-bağırsak sisteminde bozunmaya ve emilime direnmekte, yani polimerler mide ve bağırsaklardaki fizyolojik koşullar altında, vücut dokuları tarafından emilebilen parçalara büyük ölçüde ayrılmamaktadır. Mide-bağırsak yolunda karşılaşılan koşullar altında büyük ölçüde inert olan hidrolizlenemeyen bir omurgaya sahip polimerler tercih edilmektedir. Bu tür polimerler tercihen, mide-bağırsak yolundan vücudun diğer bölümlerine emilime kısmen veya tamamen direnmelerini sağlamak için yeterince yüksek bir moleküler ağırlığa sahip olacaktır. Polimerler yaklaşık 500 Dalton ile yaklaşık 500,000 Dalton, tercihen yaklaşık 2,000 Dalton ile yaklaşık 150,000 Dalton aralığında değişen moleküler ağırlıklara sahip olabilmektedir. Uygun polimerlerin örnekleri arasında polisakkaridler, polietilen glikol polimerleri, selülozik polimerler, polistiren polimerleri, poliakrilat polimerleri ve poliamid polimerleri yer almaktadır.

Sistemik olarak emilebilir olmayan ve tolbutamid, glibenklamid, diazoksid, lemakalim, minoksidil sülfat, epikateşin, kateşin, kuersetin, morin, luteolin, baikalein, apigenin, floresin, 3[(3-triflorometil)fenil]-5-[(3-karboksifenil)metilen]-2-tiyokso-4-tiyazolidinon, verapamil, nifedipin, diltiazem, loperamid, difenilamin-2-karboksilat (DPC), 5-nitro-2(3-fenilpropilamino)benzoat (NPPB), antrasen-9-karboksilik asit (9-AC), flufenamik asit (FFA), 9-(tetrahidro-2-furil) adenin (SQ22536), 2',5'-dideoksiadenozin, spartein ve bunların türevleri, fragmanları ve/veya analogları içinden biri veya daha fazlasıyla değiştirilen krofelemer ve diğer proantosiyanidin polimer molekülleri, CFTR işlevini inhibe edici aktivite bakımından taranabilmektedir.

Krofelemerin erkek ve kadın insanlar dahil olmak üzere sıcakkanlı hayvanlarda ishalin baskın olduğu hassas bağırsak sendromuyla (dİBS) ilişkili bir veya daha fazla semptomun tedavi edilmesine ve/veya önlenmesine yönelik kullanımı açıklanmakta olup söz konusu semptomlar arasında ağrı, karındaki rahatsızlık hissi, ishal, sıkıştırmının varlığı, anormal dışkı sıklığı ve anormal dışkı kıvamı yer almaktadır. Tercih edilen bir yapılanmada, krofelemer oral yoldan uygulanmakta ve sistemik olarak emilmemektedir. Tercihen, hasta bir kadın insandır.

Belirli yapılanmalarda krofelemer, COX-2'yi inhibe eden ve tercihen COX-1'e göre COX-2'yi inhibe eden bir analjezik ve/veya antienflamatuar bileşikle birlikte uygulanmaktadır.

- 10 Belirli yapılanmalarda krofelemer, COX-2'yi inhibe eden ve tercihen COX-1'e göre COX-2'yi inhibe eden bir analjezik ve/veya antienflamatuar bileşikle birlikte uygulanmaktadır.

Buluşa uygun krofelemer tek veya bölünmüş bir dozaj halinde günde bir, iki, üç veya dört kez uygulanabilmektedir. Belirli bir yapılanmada, krofelemer günde iki kez uygulanmaktadır. Yine diğer bir yapılanmada, krofelemer birbirini takip eden en az iki gün süreyle günde iki kez uygulanmaktadır. Yine diğer bir yapılanmada, krofelemer 24 saat, 48 saat, 72 saat, 96 saat, bir hafta, iki hafta, bir ay, iki ay ve üç aydan oluşan gruptan seçilen en az bir süre boyunca uygulanmaktadır. Belirli yapılanmalarda, d-İBS kronik bir durumdur ve krofelemer süresiz olarak alınmaktadır.

- 20 Ağrı ve rahatsızlık hissi bu alanda bilinen herhangi bir yöntem vasıtasıyla, örneğin bir hastanın ağrı veya rahatsızlık hissini düzeyini 0 ile 5 aralığındaki bir skalaya göre belirlediği bir ağrı veya rahatsızlık hissi skalası temel alınarak ölçülebilmekte olup bu örnekte 0 değeri ağrı veya rahatsızlık hissini mevcut bulunmamasına karşılık gelmekte ve 5 değeri ağrı veya rahatsızlık hissi için en yüksek düzeye karşılık gelmektedir. Belirli yapılanmalarda, ağrı veya rahatsızlık hissindeki hafifleme, ağrı veya rahatsızlık hissini ortalama düzeyindeki azalmaya ve ağrı veya rahatsızlık hissini mevcut olmadığı günlerin sayısındaki artışa göre ölçülmektedir. Belirli yapılanmalarda, ağrı veya rahatsızlık hissini mevcut olmadığı günlerin sayısı tedavi öncesine kıyasla en az %5, %10, %15, %20, %25, %30, %35, %40, %45 veya en az %50 oranında artmaktadır. Diğer yapılanmalarda, ağrı veya rahatsızlık hissini düzeyi tedavi öncesine kıyasla en az 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 veya en az 0.5 birim azalmaktadır.

- 30 Başka bir yapılanmada mevcut buluş, d-İBS ile ilişkili ağrının veya karındaki rahatsızlık hissini tedavisinde kullanılmaya yönelik, enterik olarak korumalı bir krofelemer miktarını temin etmekte olup burada, söz konusu miktar günde 50 mg ile günde 750 mg arasındadır ve ilaç, oral uygulamaya yönelik olarak formüle edilmektedir.

Krofelemerin başka bir biçimde formüle edildiği (enterik olarak korumalı olmadığı) yapılanmalarda, uygulanan krofelemer dozajı, oral yoldan uygulanan enterik olarak korumalı krofelemerin günde yaklaşık 50 mg ila günde yaklaşık 750 mg aralığındaki dozajına biyoeşdeğerdir. Bu tür örnek bir formülasyon, bir kontrollü salım formülasyonudur.

- 5 Krofelemer şeklinde olan bir klorür iyonu taşınması inhibitörünün uygulanmasına ilişkin yöntemler arasında parenteral uygulama (örneğin intradermal, intramüsküler, intraperitoneal, intravenöz ve subkütanöz) ve mukozal uygulama (örneğin intranazal ve oral yollar) yer almaktadır. Özel bir yapılanmada, krofelemer intramüsküler, intravenöz veya subkütanöz yoldan uygulanmaktadır. Krofelemer içeren bileşimler herhangi bir kullanışlı yoldan, örneğin
- 10 infüzyon veya bolus enjeksiyonu yoluyla ve epitelyel veya mukokütanöz duvarlar (örneğin oral mukoza, rektal ve bağırsak mukozası, vs.) içinden emilim yoluyla uygulanabilmekte ve biyolojik olarak aktif başka maddelerle birlikte uygulanabilmektedir. Uygulama sistemik veya lokal olabilmektedir. Tercihen, krofelemer oral yoldan uygulanmaktadır.

- Mevcut buluş uyarınca, inhibitör molekül krofelemerdir (CAS 14846545-6). Tercih edilen
- 15 yapılanmalarda, inhibitör molekül oral yoldan uygulanmaktadır. Yine tercih edilen diğer yapılanmalarda, inhibitör molekül bileşimi mide ortamından, yani midede bulunan asidik ortamdan ve sindirim proteinlerinden koruyacak biçimde formüle edilmektedir. Tercih edilen bir yapılanmada, uygulama oral yoldan yapılmaktadır ve inhibitör molekül enterik korumalı krofelemerdir.

- 20 Tercih edilen belirli yapılanmalarda, krofelemer enterik korumalı formda (enterik kaplamalı) yaklaşık 750 mg/gün değerinden fazla olmayan bir toplam miktarda oral yoldan uygulanmaktadır. Burada kullanıldığı biçimiyle yaklaşık deyim, hata payı içerisinde anlamına gelmektedir. Özel yapılanmalarda, enterik kaplamalı krofelemer bir bireye yaklaşık 50 mg/gün ila 750 mg/gün aralığındaki bir miktarda oral yoldan uygulanmaktadır. Başka bir
- 25 yapılanmada, enterik kaplamalı krofelemer bir bireye yaklaşık 500 mg/gün değerinden fazla olmayan bir toplam miktarda oral yoldan uygulanmaktadır. Özel yapılanmalarda, enterik kaplamalı krofelemer bir bireye yaklaşık 50 mg/gün ila 500 mg/gün aralığındaki bir miktarda oral yoldan uygulanmaktadır. Diğer yapılanmalarda, enterik kaplamalı krofelemer bir bireye yaklaşık 700 mg/gün değerinden, yaklaşık 650 mg/gün değerinden, yaklaşık 600 mg/gün
- 30 değerinden, yaklaşık 550 mg/gün değerinden, yaklaşık 500 mg/gün değerinden, yaklaşık 450 mg/gün değerinden, yaklaşık 400 mg/gün değerinden, yaklaşık 350 mg/gün değerinden, yaklaşık 300 mg/gün değerinden, yaklaşık 250 mg/gün değerinden, yaklaşık 200 mg/gün değerinden, yaklaşık 150 mg/gün değerinden veya yaklaşık 100 mg/gün değerinden fazla olmayan bir toplam enterik kaplamalı krofelemer miktarında oral yoldan uygulanmaktadır.
- 35 Yine diğer bir yapılanmada, enterik kaplamalı krofelemer bir bireye yaklaşık 100 mg/gün ila

750 mg/gün aralığındaki bir miktarda oral yoldan uygulanmaktadır. Diğer yapılanmalarda, enterik kaplamalı krofelemer bir bireye yaklaşık 125 mg/gün ila yaklaşık 500 mg/gün aralığındaki bir miktarda, yaklaşık 250 mg/gün ila yaklaşık 500 mg/gün aralığındaki bir miktarda, yaklaşık 250 mg/gün ila yaklaşık 450 mg/gün aralığındaki bir miktarda, yaklaşık 5 250 mg/gün ila yaklaşık 400 mg/gün aralığındaki bir miktarda, yaklaşık 250 mg/gün ila yaklaşık 350 mg/gün aralığındaki bir miktarda ya da yaklaşık 250 mg/gün ila yaklaşık 300 mg/gün aralığındaki bir miktarda oral yoldan uygulanmaktadır. Diğer özel yapılanmalarda, bir bireye oral yoldan uygulanan enterik kaplamalı krofelemerin toplam dozajı, günde bir, iki veya üç kez olmak üzere yaklaşık 50 mg, yaklaşık 55 mg, yaklaşık 60 mg, yaklaşık 65 mg, 10 yaklaşık 70 mg, yaklaşık 75 mg, yaklaşık 80 mg, yaklaşık 85 mg, yaklaşık 90 mg, yaklaşık 95 mg, yaklaşık 100 mg, yaklaşık 105 mg, yaklaşık 110 mg, yaklaşık 115 mg, yaklaşık 120 mg, yaklaşık 125 mg, yaklaşık 130 mg, yaklaşık 135 mg, yaklaşık 140 mg, yaklaşık 145 mg, yaklaşık 150 mg, yaklaşık 155 mg, yaklaşık 160 mg, yaklaşık 165 mg, yaklaşık 170 mg, yaklaşık 175 mg, yaklaşık 180 mg, yaklaşık 185 mg, yaklaşık 190 mg, yaklaşık 195 mg, 15 yaklaşık 200 mg, yaklaşık 205 mg, yaklaşık 210 mg, yaklaşık 215 mg, yaklaşık 220 mg, yaklaşık 225 mg, yaklaşık 230 mg, yaklaşık 235 mg, yaklaşık 240 mg, yaklaşık 245 mg, yaklaşık 250 mg, yaklaşık 255 mg, yaklaşık 260 mg, yaklaşık 265 mg, yaklaşık 270 mg, yaklaşık 275 mg, yaklaşık 280 mg, yaklaşık 285 mg, yaklaşık 290 mg, yaklaşık 295 mg, yaklaşık 300 mg, yaklaşık 305 mg, yaklaşık 310 mg, yaklaşık 315 mg, yaklaşık 320 mg, 20 yaklaşık 325 mg, yaklaşık 330 mg, yaklaşık 335 mg, yaklaşık 340 mg, yaklaşık 345 mg, yaklaşık 350 mg, yaklaşık 355 mg, yaklaşık 360 mg, yaklaşık 365 mg, yaklaşık 370 mg, yaklaşık 375 mg, yaklaşık 380 mg, yaklaşık 385 mg, yaklaşık 390 mg, yaklaşık 395 mg, yaklaşık 400 mg, yaklaşık 405 mg, yaklaşık 410 mg, yaklaşık 415 mg, yaklaşık 420 mg, yaklaşık 425 mg, yaklaşık 430 mg, yaklaşık 435 mg, yaklaşık 440 mg, yaklaşık 445 mg, 25 yaklaşık 450 mg, yaklaşık 455 mg, yaklaşık 460 mg, yaklaşık 465 mg, yaklaşık 470 mg, yaklaşık 475 mg, yaklaşık 480 mg, yaklaşık 485 mg, yaklaşık 490 mg, yaklaşık 495 mg veya yaklaşık 500 mg şeklindedir.

Inhibitör molekül, yani krofelemer, günde yaklaşık 50 mg ila yaklaşık 750 mg/gün aralığındaki bir dozajda veya yukarıda sıralanan dozlardan herhangi birinde oral yoldan uygulanan 30 enterik kaplamalı krofelemer miktarına biyoeşdeğer olan bir dozajda verilebilmektedir. Bir yapılanmada biyoeşdeğerlik, başka bir inhibitör molekülle belirli bir dozajda, örneğin krofelemerle günde yaklaşık 50 mg ila günde yaklaşık 750 mg aralığındaki bir dozajda görülen benzer terapötik etkileri üretmek için yeterli bir inhibitör molekül dozudur. Başka bir yapılanmada biyoeşdeğerlik, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından tanımlandığı veya bu 35 daire tarafından onaylanan yöntemler uyarınca tayin edildiği gibidir.

Bir yapılanmada, krofelemer enterik kaplamalı yapılarak, yani enterik korumalı bir formülasyon halinde hazırlanarak, midedeki asidik koşullar neticesinde bozunmadan ve/veya midede bulunan pepsin gibi proteinlerle etkileşimden korunması sağlanmaktadır. Özel bir yapılanmada, krofelemer tablet formundadır. Diğer bir özel yapılanmada, tablet örneğin EUDRAGIT® şeklindeki enterik kaplamayla kaplanmaktadır. Tercih edilen bir yapılanmada, krofelemer enterik kaplamalı bir kapsül kabuğu içinde enterik kaplamalı bir tanecik veya granül olarak formüle edilmektedir. Başka bir yapılanmada, krofelemer bir gecikmeli salım bileşiminde, örneğin Merck GEM, Alza OROS, mum matrisi içeren bir bileşimde formüle edilmektedir (salım temel olarak, formülasyon mideden geçip bağırsağa ulaşınca kadar geciktirilmektedir).

Belirli yapılanmalarda, krofelemer mide asidini nötralize eden bir bileşikle veya bileşiklerle birlikte formüle edilmektedir. Alternatif olarak, krofelemeri barındıran farmasötik bileşim, mide asidini nötralize eden bir farmasötik bileşimin uygulanmasıyla eş zamanlı olarak veya bunu müteakip olarak veya bunun ardından uygulanmaktadır. Mide asidinin nötralize edilmesinde yararlı olan antasitler gibi bileşikler arasında alüminyum karbonat, alüminyum hidroksit, bizmut subnitrat, bizmut subsalisilat, kalsiyum karbonat, dihidroksialüminyum sodyum karbonat, magaldrat, magnezyum karbonat, magnezyum hidroksit, magnezyum oksit ve bunların karışımları yer almaktadır. Mide asidi salgısını azaltabilen ve/veya mide sıvısının asiditesini düşürebilen bileşikler bu alanda iyi bilinmekte olup bunlar arasında antasitler (alüminyum hidroksit, alüminyum karbonat, alüminyum glisinat, magnezyum oksit, magnezyum hidroksit, magnezyum karbonat, kalsiyum karbonat, sodyum bikarbonat), mide asidi blokerleri (simetidin (TagametTM), famotidin (MylantaTM, PepcidTM), nizatidin (AxidTM), ranitidin (ZantacTM), omeprazol (ZegeridTM)) ve yukarıdakilerden herhangi birine ait bir kombinasyon yer almaktadır. Genel olarak, ilgili devlet kurumu tarafından satışına onay verilmiş olan ve mide asidinin üretimini azaltabilen ve/veya mide sıvısının asiditesini düşürebilen herhangi bir ilacın, buluşa uygun yöntemlerde krofelemer gibi bir inhibitör moleküller kombinasyon halinde uygulanması mümkündür.

Diğer yapılanmalarda krofelemer, ishalin veya ağrının tedavi edilmesinde yararlı olan diğer bileşiklerle birlikte uygulanmaktadır. Bu tür bileşikler arasında 5-ASA, sülfasalazin, mesalamin ve APAZA gibi COX-2 inhibitörleri ve ayrıca, selekoksib ve rofekoksib gibi piyasada mevcut diğer COX-2 inhibitörleri yer almaktadır. Tercihen, bu tür bileşikler sistemik olarak emilmemekte veya sistemik olarak emilmeyecek biçimde modifiye edilmektedir.

Krofelemerin enterik kaplamalı olmadığı özel bir yapılanmada, krofelemer mide asidi salgısını azaltabilen ve/veya mide sıvısının asiditesini düşürebilen bir veya daha fazla bileşikle birlikte formüle edilmektedir. Tercihen bu formülasyonda verilecek olan krofelemer dozajı, oral

yoldan uygulanan enterik kaplamalı krofelemerin günde yaklaşık 50 mg ila günde yaklaşık 750 mg aralığındaki dozajına biyoeşdeğerdir. Örnek bir yapılanmada, krofelemer bir kontrollü salım (gecikmeli salım) bileşiminde formüle edilmektedir.

Diğer yapılanmalarda, krofelemer analjezik veya antienflamatuar maddelerle kombinasyon halinde uygulanabilmektedir. Tercih edilen bir yapılanmada, analjezik veya antienflamatuar madde büyük ölçüde sistemik olarak emilmeyecek, yani verilen dozajın yalnızca %20'si, %15'i, %10'u, %5'i, %4'ü, %3'ü, %2'si, %1'i veya %0.5'i emilecek şekilde formüle edilmekte veya modifiye edilmektedir.

Krofelemer farmasötik formülasyonları, farmasötik olarak kabul edilebilir bir taşıyıcıyla birlikte ve d-IBS ile ilişkili bir veya daha fazla semptomun tedavi edilmesinde ve/veya hafifletilmesinde terapötik olarak etkili olan bir dozda açıklanmaktadır. Bir yapılanmada, isteğe bağlı olarak magnezyum stearat gibi bir yağlayıcıyla birlikte bir tablet halinde sıkıştırılan doğrudan sıkıştırılabilir (yani ekspiyanler olmaksızın farmasötik olarak kabul edilebilir bir sertliğe ve ufalanırlığa sahip bir tablet halinde doğrudan sıkıştırılabilen) bir krofelemer bileşimi enterik olarak kaplanmaktadır. Başka bir yapılanmada, krofelemer içeren farmasötik bileşimler alternatif olarak, mide asidini ve/veya enzimlerini nötralize eden ya da mide asidi salgısını önleme konusunda aktif olan bir veya daha fazla maddeyi içermektedir. Bu formülasyonlar bu alanda bilinen yöntemler vasıtasıyla, örneğin Remington's Pharmaceutical Sciences, 18. Baskı, editör Alfonso R. Gennaro, Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990 kaynağında açıklanan yöntemler vasıtasıyla hazırlanabilmektedir.

Tercih edilen başka bir yapılanmada, farmasötik bileşim, dozajı günde 750 mg'ı ve tercihen 250 mg/gün oranını geçmeyen bir krofelemeri (CAS 148465-45-6) içermektedir.

Krofelemer terapötik olarak kabul edilebilir herhangi bir farmasötik formda temin edilebilmektedir. Farmasötik bileşim oral uygulamaya yönelik olarak örneğin ilaç tozları, kristaller, granüller, küçük parçacıklar (mikroküreler ve mikrokapsüller gibi mikrometre mertebesinde boyuta sahip parçacıklar bunlara dahildir), parçacıklar (milimetre mertebesinde boyuta sahip parçacıklar bunlara dahildir), tanecikler, mikrotanecikler, peletler, haplar, mikrotabletler, sıkıştırılmış tabletler veya tablet tritüratları, kalıplanmış tabletler veya tablet tritüratları olarak ve ayrıca, sert veya yumuşak olan ve bileşimi bir toz, parçacık, tanecik, çözelti veya süspansiyon halinde barındıran kapsüller içinde formüle edilebilmektedir. Farmasötik bileşim ayrıca oral uygulamaya yönelik olarak sulu bir sıvı içindeki bir çözelti veya süspansiyon halinde, bir jel kapsüle dahil edilmiş bir sıvı halinde ya da uygulama için kullanışlı olan başka herhangi bir formülasyon halinde ya da rektal uygulamaya yönelik olarak, bir supozituar, lavman veya başka bir kullanışlı formda formüle edilebilmektedir.

Buluşa uygun inhibitör molekül ayrıca, bir kontrollü salım sistemi olarak da temin edilebilmektedir (bakınız, örneğin Langer, 1990, Science 249: 1527-1533).

Farmasötik formülasyon ayrıca, herhangi bir tipte farmasötik olarak kabul edilebilir eksipiyeni, katkı maddesini veya taşıyıcıyı da içerebilmektedir. Örneğin, herhangi bir sınırlama söz konusu olmaksızın dekstratlar, dikalsiyum fosfat, kalsiyum sülfat, laktoz, selüloz, kaolin, mannitol, sodyum klorür, kuru nişasta, sorbitol, sükroz, inozitol, toz şeker, bentonit, mikrokristalin selüloz veya hidroksipropilmetilselüloz gibi seyrelticiler veya dolgu maddeleri, bileşimin büyüklüğünün artırılması amacıyla inhibitör moleküle ilave edilebilmektedir. Ayrıca nişasta, jelatin, sükroz, glikoz, dekstroza, melas, laktoz, akasya zamkı, sodyum alginat, İrlanda yosunu ekstresi, panwar zamkı, ghatti zamkı, isapgol zarflarının yapışkan sıvısı, karboksimetilselüloz, metilselüloz, polivinilpirrolidon, Vee zamkı ve nişasta arabogalakattan, polietilen glikol, etilselüloz ve mumlar gibi bağlayıcılar, birbirine tutunma niteliklerinin artırılması amacıyla formülasyona ilave edilebilmektedir. Ayrıca talk, magnezyum stearat, kalsiyum stearat, stearik asit, hidrojene bitkisel yağlar, polietilen glikol, sodyum benzoat, sodyum asetat, sodyum klorür, lösin, carbowax, sodyum lauril sülfat ve magnezyum lauril sülfat gibi yağlayıcılar, formülasyona ilave edilebilmektedir. Ayrıca, koloidal silisyum dioksit veya talk gibi kayganlaştırıcılar, toz halindeki bir formülasyonun akış özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla ilave edilebilmektedir. Son olarak nişastalar, killer, selülozlar, alginler, zamlar, çapraz bağlı polimerler (örneğin kroskarmeloz, krosopovidon ve sodyum nişasta glikolat), Vee zamkı, metilselüloz, agar, bentonit, selüloz ve ağaç ürünleri, doğal sünger, katyon değişimi reçineleri, alginik asit, guar zamkı, turuncgil posası, karboksimetilselüloz veya nişastayla birlikte sodyum lauril sülfat gibi parçalayıcılar, formülasyonun bağırsakta parçalanmasını kolaylaştırmak üzere ilave edilebilmektedir.

Bu yapılanmanın bir yönü çerçevesinde, krofelemer oral uygulamaya yönelik olarak formüle edilmektedir. Diğer yönler çerçevesinde, farmasötik dozaj formu inhibitör molekülü, yani örneğin krofelemeri, midedeki asidik koşullar neticesinde bozunmadan ve midede bulunan pepsin gibi proteinlerle etkileşimden koruyacak biçimde formüle edilmektedir. Dolayısıyla, tercih edilen bir yön çerçevesinde, formülasyon enterik kaplamalıdır. Örneğin enterik kaplamalı formülasyon enterik kaplamalı tabletler, tanecikler veya granüller şeklindedir ve bunlara isteğe bağlı olarak magnezyum stearat gibi bir yağlayıcıyı içermektedir. Enterik kaplamalı formülasyonlar arasında bir kapsül içindeki enterik kaplamalı tanecikler, bir kapsül içindeki enterik kaplamalı mikroküreler, bir süspansiyonda temin edilen veya gıdalarla karıştırılan ve özellikle pediatrik uygulama için elverişli olan enterik kaplamalı mikroküreler ve enterik kaplamalı tabletler yer almaktadır. Kapsül, sert kabuklu bir jelatin kapsül veya bir selüloz kapsül olabilmektedir. Özellikle, farmasötik bileşim enterik kaplamalı bir kapsül olarak formüle edilmektedir. Özel bir yön çerçevesinde, bir proantosiyanidin polimer bileşimi tablet

formunda uygulanmakta olup söz konusu tablet isteğe bağlı olarak mikrokristalin selülozla dolgulu yapılmaktadır.

Bir yapılanmada, krofelemer doğrudan sıkıştırılmakta, yani inhibitör molekül herhangi bir ekspiyeyle birlikte veya ekspiye olmaksızın, farmasötik olarak kabul edilebilir bir sertliğe ve ufanırlığa sahip bir tablet veya başka bir farmasötik formülasyon halinde sıkıştırılabilmektedir. Tercihen, doğrudan sıkıştırılabilir farmasötik bileşim 4 kp (kilopond) değerinden fazla bir sertliğe, tercihen 8 ila 14 kp aralığındaki bir sertliğe ve daha fazla tercih edilen durumda 10 ila 13 kp aralığındaki bir sertliğe sahip tabletler halinde sıkıştırılabilmektedir. Doğrudan sıkıştırılabilir bir farmasötik bileşim, %1'den fazla olmayan ağırlık kaybı, tercihen %0.8'den az ağırlık kaybı ve daha fazla tercih edilen durumda %0.5'ten az ağırlık kaybı şeklindeki bir ufanırlığa sahiptir.

Tercih edilen bir yapılanmada, doğrudan sıkıştırılabilir formülasyon %99.93 oranında krofelemer ve %0.07 oranında magnezyum stearattan oluşmakta ve bir metakrilik asit kopolimeriyle kaplanmaktadır. Tercih edilen başka bir yapılanmada, farmasötik formülasyon doğrudan sıkıştırılabilir bir inhibitör molekülü enterik bir kaplama dışında herhangi bir ekspiye, katkı maddesi veya taşıyıcı mevcut olmaksızın içermekte, ancak formülasyon magnezyum stearat gibi bir yağlayıcıya yer verebilmektedir. Tercihen, doğrudan sıkıştırılmış bir proantosiyonidin polimer bileşimi formülasyonu, farmasötik olarak kabul edilebilir sertliğe (4 kp değerinden fazla, tercihen 8-14 kp aralığında ve daha fazla tercih edilen durumda 10-13 kp aralığında) ve ufanırlığa (%1'den fazla olmayan ağırlık kaybı, tercihen %0.8'den az ağırlık kaybı ve daha fazla tercih edilen durumda %0.5'ten az ağırlık kaybı şeklindeki) sahip bir tablet halinde formüle edilmektedir.

Bir yapılanmada, krofelemer enterik kaplamalıdır. Enterik kaplamalar, midede sağlam kalan, ancak ince bağırsağa ulaştıklarında çözünecek ve dozaj formunun içeriğini salacak olan kaplamalardır. Asidik gruplara sahip içeriklerle birlikte çok sayıda enterik kaplama hazırlanmakta olup bu, midede mevcut olan çok düşük pH değerinde, yani 1.5 ila 2.5 aralığındaki pH değerinde, asidik grupların iyonize olmaması ve kaplamanın ayrışmamış çözünmez formda kalması sağlanacak şekilde yapılmaktadır. Bağırsak ortamındaki gibi daha yüksek pH düzeylerinde, enterik kaplama, çözünerek inhibitör molekülü salabilen iyonize forma dönüşmektedir. Diğer enterik kaplamalar ince bağırsaktaki enzimler tarafından parçalanıncaya kadar sağlam kalmakta ya da diğerleri tanımlanmış bir nem maruziyeti sonrasında parçalanmakta, böylece kaplamaların ince bağırsaklara geçiş sonrasında kadar sağlam kalması sağlanmaktadır.

Enterik kaplamaların hazırlanmasında kullanışlı olan polimerler arasında gomalak, nişasta ve amiloz asetat fitalatlar, stiren-maleik asit kopolimerleri, selüloz asetat suksinat, selüloz asetat

fitalat (CAP), polivinilasetat fitalat (PVAP), hidroksipropilmetilselüloz fitalat (HP-50 ve HP-55 tipleri), etilselüloz, yağlar, butil stearat ve asitle iyonlaştırılabilir gruplara sahip metakrilik asit-metakrilik asit ester kopolimerleri (örneğin "ACRYLEZE®" ve "EUDRAGIT®" ("EUDRAGIT® L 30D", "EUDRAGIT® RL 30D", "EUDRAGIT® RS 30D", "EUDRAGIT® L 100-55" ve "EUDRAGIT® L 30D-55" gibi)). Tercih edilen bir yapılanmada, farmasötik bileşim krofelemer gibi bir klorür iyonu taşınması inhibitörünü ve 250,000 Dalton değerindeki bir ortalama moleküler ağırlığa sahip bir metakrilik asit ve metil akrilat anyonik kopolimeri olan "EUDRAGIT® L 30D" enterik kaplama polimerini içermektedir. Tercih edilen başka bir yapılanmada, enterik kaplama polimeri "EUDRAGIT® L 30D-55" şeklindedir.

- 10 Enterik kaplamanın parçalanması, kullanılan kaplamanın tipine bağlı olarak, bağırsak enzimlerinin gerçekleştirdiği hidroliz yoluyla ya da safra tuzlarının gerçekleştirdiği emülsifikasyon ve dispersiyon yoluyla meydana gelmektedir. Örneğin, esterazlar esterbutil stearatı butanol ve stearik aside hidrolize etmekte ve butanol çözündükçe, stearik asit ince pullar halinde ilahtan dökülmektedir. Buna ek olarak, safra tuzları etilselüloz, hidroksipropilmetilselüloz, yağlar ve yağ türevlerini emülsifiye etmekte ve dispersiyonlaştırmaktadır. Diğer kaplama tipleri nemle temas süresine bağlı olarak uzaklaştırılmakta, örneğin tozlaştırılmış karnauba mumu, stearik asit ve bitkisel agar lifleri ve karaağaç kabuğundan hazırlanan kaplamalar, bitkisel lifler nemi emip kabardıktan sonra parçalanmaktadır. Parçalanma için gerekli olan süre, kaplamanın kalınlığına ve bitkisel liflerin muma oranına bağlıdır.

Enterik kaplamanın krofelemere uygulanması, bu alanda enterik kaplamaların uygulanmasına yönelik olarak bilinen herhangi bir yöntem vasıtasıyla gerçekleştirilebilmektedir. Örneğin enterik polimerler, sprey uygulamaları için ağırlıkça %5 ila %10 oranında polimer ve kazanda kaplama uygulamaları için ağırlıkça %30'a kadar oranda polimer içeren organik çözücü bazlı çözeltiler kullanılarak uygulanabilmektedir. Yaygın olarak kullanılan çözücüler arasında aseton, aseton/etil asetat karışımları, metilen klorür/metanol karışımları ve bu çözücüler içeren tersiyer karışımlar yer almaktadır. Metakrilik asit-metakrilik asit ester kopolimerleri gibi bazı enterik polimerler, dispersiyon yapıcı madde olarak suyun kullanılması yoluyla uygulanabilmektedir. Çözücü sisteminin uçuculuğu, yapışkanlıktan kaynaklanan tutunmayı önleyecek ve çözücü buharlaşırken spreyin zamanından önce kurumamasından veya polimerin çökmesinden kaynaklanan yüksek kaplama porozitesini önleyecek biçimde ayarlanmalıdır.

Ayrıca, kaplama filminin çatlamasının önlenmesi amacıyla enterik kaplamaya plastikleştiriciler eklenebilmektedir. Uygun plastikleştiriciler arasında düşük moleküler ağırlık fitalat esterler, örneğin dietil fitalat, asetillenmiş monogliseridler, trietil sitrat, polietil

glikoltributil sitrat ve triasetin yer almaktadır. Genel olarak plastikleştiriciler, enterik kaplama polimerinin ağırlığına göre ağırlıkça %10'luk bir konsantrasyonda ilave edilmektedir. Diğer katkı maddeleri, örneğin deterjanlar ve simetikon gibi emülgatörler ve örneğin talk gibi tozlar, kaplamanın mukavemetinin ve pürüzsüzlüğünün artırılması amacıyla kaplamaya ilave edilebilmektedir. Ayrıca, farmasötik formülasyona renk eklenmesi amacıyla kaplamaya pigmentler ilave edilebilmektedir.

Tercih edilen yapılanmalarda, bir krofelemer farmasötik bileşimi, sert kabuklu jelatin kapsüller içinde enterik kaplamalı tanecikler halinde temin edilmektedir. Tercih edilen bir yapılanmada, proantosiyanidin polimer tanecikleri, krofelemerin hidroksipropilmetilselülozla karıştırılması ve karışımın tablet şekerleme tohumları (şeker küreleri) üzerine tabaka halinde uygulanması yoluyla hazırlanmaktadır. Daha fazla tercih edilen bir yapılanmada, enterik bir kaplama dışında herhangi bir ekspiyen, katkı maddesi veya taşıyıcı olmaksızın doğrudan sıkıştırılabilir olan krofelemer, öğütülmekte ve tanecikler halinde (yani tablet şekerleme tohumları içermeyen tanecikler halinde) parçalanmaktadır. Tanecikler, bir Opadry Saydam (suyla karıştırılan) sızdırmazlık kaplamasıyla kaplanabilmektedir. Taneciklere ait tercih edilen bir enterik kaplama ağırlıkça %20-%30 oranında kuru polimer maddesi içeren sulu bir dispersiyon halinde uygulanan "EUDRAGIT® L 30D" veya "EUDRAGIT® L 30D-55" olup emülgatör olarak %0.7 oranında sodyum lauril sülfat NF (SLS) ve %2.3 oranında polisorbit 80 NF (Tween™ 20) ile birlikte temin edilmekte ve buna, kaplamanın elastisitesinin artırılmasına yönelik polietilen glikol ve/veya sitrik asit esterler gibi plastikleştiriciler ilave edilmekte ve uygulama prosesi sırasında enterik kaplama polimerinin birleşme eğiliminin azaltılması ve film kaplamanın pürüzsüzlüğünün artırılması amacıyla, talk ilave edilebilmektedir.

Tercih edilen bir formülasyonda, tablet şekerleme tohumları içeren enterik kaplamalı krofelemer taneciklerine ait nihai bileşim ağırlıkça %17.3 oranında tablet şekerleme tohumları, ağırlıkça %64.5 oranında proantosiyanidin polimer bileşimi, ağırlıkça %1.5 oranında hidroksipropilmetilselüloz, ağırlıkça %0.5 oranında Opadry Saydam, ağırlıkça %14.5 oranında "EUDRAGIT® L 30D", ağırlıkça %1.45 oranında trietil sitrat ve ağırlıkça %0.25 oranında gliseril monostearat şeklindedir. Bu farmasötik formülasyon, bu alanda bilinen herhangi bir yöntem ya da aşağıda Örnek 1'de açıklanan yöntem vasıtasıyla hazırlanabilmektedir.

Krofelemer taneciklerine ait tablet şekerleme tohumları içermeyen tercih edilen bir formülasyon ağırlıkça %78 oranında doğrudan sıkıştırılabilir proantosiyanidin polimer bileşimi (örneğin Örneklerde açıklanan yöntemler vasıtasıyla izole edilmektedir), ağırlıkça %0.76 oranında Opadry Saydam, ağırlıkça %19 oranında "EUDRAGIT® L 30D-55", ağırlıkça %1.9

oranında trietil sitrat ve ağırlıkça %0.34 oranında gliseril monostearat şeklindedir. Bu farmasötik formülasyon, bu alanda bilinen herhangi bir yöntem ya da aşağıda Örnek 2'de açıklanan yöntem vasıtasıyla hazırlanabilmektedir.

5 Tercih edilen başka bir formülasyon ağırlıkça %54.58 oranında krofelemer taneciklerini (tablett şekerleme tohumları içermeyen ve doğrudan sıkıştırılabilir bir proantosiyanidin polimer bileşiminden yapılan), ağırlıkça %1.78 oranında Opadry Saydam, ağırlıkça %39 oranında "EUDRAGIT® L 30D-55", ağırlıkça %3.9 oranında trietil sitrat ve ağırlıkça %0.74 oranında gliseril monostearat içermektedir.

10 Başka bir yapılanmada, krofelemer içeren farmasötik bileşim, pediatrik uygulama için sert kabuklu jelatin kapsüller içinde temin edilen ya da bir oral çözelti içinde süspansiyon haline getirilen enterik kaplamalı granüller veya toz (300-500 p. değerindeki bir çapa sahip mikroküreler) olarak formüle edilmektedir. Enterik kaplamalı toz veya granüller ayrıca, özellikle pediatrik uygulamaya yönelik olarak gıdayla karıştırılabilir. Bu preparat, bu alanda iyi bilinen teknikler, örneğin aşağıda Örnek 1C'de açıklanan yöntem vasıtasıyla
15 hazırlanabilmektedir.

Genel olarak, granüller ve toz bu alanda bilinen herhangi bir yöntem, örneğin kristalizasyon, spreyle kurutma veya tercihen yüksek hızlı bir mikserin/granülleştiricinin kullanıldığı herhangi bir ufalama yöntemi kullanılarak hazırlanabilmektedir. Yüksek hızlı mikser/granülleştirici örnekleri arasında "LITTLEFORD LODIGETM" mikseri, "LITTLEFORD LODIGETM" MGT
20 mikser/granülleştiricisi ve "GRALTM" mikser/granülleştiricisi yer almaktadır. Yüksek kesmeli toz karıştırma sırasında, bağlayıcı olarak adlandırılan granülleştirici maddelere ait çözeltiler, toz parçacıklarının bir araya toplanmasına yol açılması ve böylece daha büyük parçacıklar veya granüllerin oluşturulması amacıyla tozun üzerine püskürtülmektedir. Granüllerin hazırlanmasında yararlı olan granülleştirici maddeler arasında selüloz türevleri
25 (karboksimetilselüloz, metilselüloz ve etilselüloz dahil olmak üzere), jelatin, glikoz, polivinilpirrolidon (PVP), nişasta kolası, sorbitol, sükroz, dekstroz, melas, laktoz, akasya zamkı, sodyum alginat, İrlanda yosunu ekstresi, panwar zamkı, ghatti zamkı, isapol zarflarının yapışkan sıvısı, Vee zamkı ve karaçam arabogalakları, polietilen glikol ve mumlar yer almaktadır. Granülleştirici maddeler, parçacıkların veya granüllerin kütlesinin %1 ila
30 %30'u aralığında değişen konsantrasyonlarda ilave edilebilmektedir.

Toz veya granüller tercihen, akışkan yataklı ekipman kullanılarak kaplanmaktadır. Granüller veya toz daha sonra, bir Opadry Saydam (suyla karıştırılan) sızdırmazlık kaplamasıyla kaplanabilmektedir. Tercih edilen bir enterik kaplama ağırlıkça %30 oranında kuru polimer maddesi içeren sulu bir dispersiyon halinde uygulanan "EUDRAGIT® L 30D" olup emülgatör
35 olarak %0.7 oranında sodyum lauril sülfat NF (SLS) ve %2.3 oranında polisorbitat 80 NF

(TweenTM 20) ile birlikte temin edilmekte ve buna, kaplamanın elastisitesinin artırılmasına yönelik polietilen glikol ve sitrik asit esterler gibi plastikleştiriciler ilave edilmekte ve uygulama prosesi sırasında enterik kaplama polimerinin birleşme eğiliminin azaltılması ve film kaplamanın pürüzsüzlüğünün artırılması amacıyla, talk ilave edilmektedir. Tercih edilen bir yapılanmada, enterik kaplamalı bir tozun nihai bileşimi ağırlıkça %81.8 oranında krofelemer, ağırlıkça %1.5 oranında hidroksipropilmetilselüloz, ağırlıkça %0.5 oranında Opadry Saydam, ağırlıkça %14.5 oranında “EUDRAGIT® L 30D”, ağırlıkça %1.45 oranında trietil sitrat ve ağırlıkça %0.25 oranında gliseril monostearat şeklindedir. Enterik kaplamalı granüllerin nihai bileşimi ağırlıkça %81.8 oranında krofelemer proantosiyonidin polimer bileşimi, ağırlıkça %10 oranında polivinilpirrolidon, ağırlıkça %1.5 oranında hidroksipropilmetilselüloz, ağırlıkça %0.5 oranında Opadry Saydam, ağırlıkça %14.5 oranında “EUDRAGIT® L 30D”, ağırlıkça %1.45 oranında trietil sitrat ve ağırlıkça %0.25 oranında gliseril monostearat şeklindedir.

Enterik kaplamalı granüller veya toz parçacıkları ayrıca, özellikle pediatrik uygulamaya yönelik olarak oral uygulamaya yönelik bir çözelti içinde süspansiyon haline getirilebilmektedir. Süspansiyon, çözeltinin viskozitesinin artırılması ve böylece kaplamalı toz parçacıkları veya granüllerin hızlı çökmesinin önlenmesi amacıyla kıvam artırıcıların ve koruyucu koloidlerin eklendiği sulu çözeltilerden hazırlanabilmektedir. Moleküler etkileşimler vasıtasıyla askıdaki parçacıkların etrafında oluşan hidrasyon tabakasının mukavemetini artıran ve inhibitör molekülle farmasötik olarak uyumlu olan herhangi bir malzeme kıvam artırıcı olarak kullanılabilir olup bunlara aşağıdakiler dahil olmakla birlikte tamamı bunlarla sınırlı değildir: Jelatin, doğal zamlar (örneğin kitre, ksantan, guar, akasya, panwar, ghatti, vs.) ve selüloz türevleri (örneğin sodyum karboksimetilselüloz, hidroksipropilselüloz ve hidroksipropilmetilselüloz, vs.). İsteğe bağlı olarak, kıvam artırıcı maddenin etkisinin artırılması amacıyla TweenTM gibi bir yüzey aktif madde ilave edilebilmektedir. Tercih edilen bir süspansiyon çözeltisi, %0.2 oranında TweenTM barındıran su içinde ağırlıkça %2’lik bir hidroksipropilmetilselüloz çözeltisidir.

Inhibitör molekül ayrıca, enterik kaplamalı tabletler halinde formüle edilebilmektedir. Tercih edilen bir yapılanmada bir krofelemer, yukarıda granüllerin hazırlanmasıyla ilgili olarak açıklanan yöntemler vasıtasıyla herhangi bir farmasötik olarak kabul edilebilir seyrelticiyle (yukarıda sıralananlar gibi) birlikte granüleştirilmektedir. Daha sonra granüller bu alanda iyi bilinen herhangi bir yöntem, örneğin yaş granülasyon yöntemi, kuru granülasyon yöntemi veya doğrudan sıkıştırma yöntemi kullanılarak tabletler halinde sıkıştırılmaktadır. Tercih edilen seyrelticiler arasında mikrokristalin selüloz (“AVICELTM PH 200/300”) ve dekstratlar (“EMDEXTM”) yer almaktadır. Buna ek olarak, yukarıda açıklananlar gibi parçalayıcılar ve yukarıda açıklananlar gibi yağlayıcılar da tablet formülasyonuna ilave edilebilmektedir. Tercih edilen bir tablet formülasyonu 250 mg krofelemer, 7 mg parçalayıcı “AC-DI-SOLTM” (çapraz

bağlı sodyum karboksimetilselüloz), 1.75 mg yağlayıcı magnezyum stearat ve karışımın 350 mg'a tamamlanması için gerekli ağırlıkta "AVICEL™ PH 200/300" içermektedir. Tabletler 250 gram "EUDRAGIT® L 30D-55", 7.5 gram trietil sitrat, 37.5 gram talk ve 205 gram sudan hazırlanan bir enterik kaplama karışımıyla kaplanmaktadır. Bu formülasyon, bu alanda iyi bilinen herhangi bir yöntem vasıtasıyla hazırlanabilmektedir.

Tercih edilen bir yapılanmada, doğrudan sıkıştırılabilir bir krofelemer bileşimi, büyüklük azaltma yoluyla (örneğin yukarıda açıklandığı gibi) granüller haline getirilmekte ve bir yağlayıcıyla, tercihen magnezyum stearatla karıştırılmaktadır. Daha sonra, yağlanmış granüller bu alanda iyi bilinen herhangi bir yöntem, örneğin doğrudan sıkıştırma yöntemi vasıtasıyla tabletler halinde sıkıştırılmaktadır. Tercihen her bir tablet 125 mg ağırlığında olup ağırlıkça %99.6 oranında doğrudan sıkıştırılabilir krofelemer ve ağırlıkça %0.40 oranında magnezyum stearat içermektedir. Daha sonra tabletler tercihen, tabletin 100 gramı başına %30'luk süspansiyon halindeki (22.22 g'da 6.66 g) "EUDRAGIT® L 30D-55", 0.67 g trietil sitrat, 1.67 g talk ve 20.44 g saf su içeren bir enterik kaplama karışımıyla kaplanmaktadır. Tabletler, bu alanda bilinen herhangi bir yöntem ya da aşağıda Örnek 1E'de açıklanan yöntem vasıtasıyla hazırlanabilmektedir.

Daha fazla tercih edilen bir yapılanmada, doğrudan sıkıştırılabilir bir krofelemer bileşimi ağırlıkça %99.6 oranında doğrudan sıkıştırılabilir krofelemer ve ağırlıkça %0.40 oranında magnezyum stearat içeren 125 mg, 250 mg veya 500 mg'lık çekirdek tabletler halinde formüle edilmektedir. Tabletler daha sonra tercihen bir enterik kaplama karışımıyla kaplanmaktadır. Tabletlerin nihai bileşimi ağırlıkça %86.6 oranında doğrudan sıkıştırılabilir krofelemer proantosyanidin polimer bileşimi, ağırlıkça %0.4 oranında magnezyum stearat, ağırlıkça %6.5 oranında "EUDRAGIT® L 30D-55", ağırlıkça %0.9 oranında trietil sitrat, ağırlıkça %2.87 oranında talk ve ağırlıkça %2.74 oranında beyaz dispersiyon şeklindedir. Tabletler, bu alanda bilinen herhangi bir yöntem, örneğin aşağıda açıklanan yöntem vasıtasıyla hazırlanabilmektedir.

Küçük parçacıklar (mikroküreler ve mikrokapsüller gibi mikrometre mertebesinde boyuta sahip parçacıklar bunlara dahildir), parçacıklar (milimetre mertebesinde boyuta sahip parçacıklar bunlara dahildir), ilaç kristalleri, peletler, haplar ve mikrotanecikler halinde oluşturulan bileşimler, bir akışkan yatak prosesi kullanılarak kaplanabilmektedir. Bu proses "GLATTTM", "AEROMATICTM", "WURSTERTM" veya diğer şirketler tarafından temin edilenler gibi akışkan yataklı ekipmanlardan yararlanmakta olup bu ekipmanlar sayesinde, bileşim çekirdekleri alt taraftan verilen bir hava akımı vasıtasıyla kapalı silindir şeklindeki bir kabın içerisinde yukarı doğru döndürülmekte ve enterik kaplama, akışkanlaştırma süresi esnasında çekirdekler üzerine spreyle kurutularak oluşturulmaktadır. Tablet veya

kapsüllerin kaplanması için, Accela-Cota kaplama ekipmanının ("MANESTYTM") kullanılması mümkündür. Bu proseste, tabletler veya kapsüller delikli bir kılıfa sahip döner bir silindirik kaplama kazanı içine konulmakta ve sprey üniteleri kazanın içerisine tesis edilmekte ve dönen tablet veya kapsüller içerisinden kuru hava içeri çekilmektedir. "COMPU-LABTM" kazanı, Hi-coates "GLATTTM" daldırma kılıcı prosesi, "DRIAMTM" Dricoater, "STEINBERGTM" ekipmanı, "PELLEGRINITM" ekipmanı veya "WALTHERTM" ekipmanı gibi başka herhangi bir kaplama kazanı tipinin kullanılması da mümkündür.

Buluşa uygun farmasötik formülasyonların insan dışı hayvanlarda, özellikle çiftlik hayvanlarında, örneğin büyükbaş hayvanlarda, domuzlarda, küçükbaş hayvanlarda, kümes hayvanlarında (tavuk gibi) ve at cinsi hayvanlarda ve diğer evcilleştirilmiş hayvanlarda, örneğin köpek cinsi ve kedi cinsi hayvanlarda dİBS'nin tedavi edilmesi amacıyla kullanılması da mümkündür. Özellikle, buluşa uygun farmasötik formülasyonlar insan dışı hayvanlarda, özellikle büyükbaş hayvanlar, küçükbaş hayvanlar ve domuzlar gibi eti için beslenen hayvanlarda, buluşa uygun farmasötik bileşimlerin hayvanların yemine eklenmesi yoluyla d-IBS hastalığının tedavi edilmesinde kullanılabilir.

Mevcut buluşa uygun yöntemlere göre, krofelemer içeren farmasötik bileşimler bir bireye, oral yoldan uygulanan enterik korumalı krofelemerin 750 mg/gün değerinden daha fazla olmayan bir miktarına biyoeşdeğer olan bir toplam miktarda uygulanmaktadır. Özel yapılanmalarda, krofelemer içeren farmasötik bileşimler bir bireye, günde yaklaşık 50 mg ile yaklaşık 250 mg/gün arasındaki bir miktarda uygulanmaktadır.

Bir bireyde ishalin baskın olduğu İBS'nin mevcut olup olmadığının belirlenmesinde, hassas bağırsak sendromunun tanısına yönelik Roma II kriterleri (Thompson ve diğerleri, 1999, Gut 45 (Ek II): 1h43-1147) dahil olmak üzere, bu alanda bir bireye tanı konulması amacıyla kullanılan herhangi bir yöntemden yararlanılması mümkündür. Kısaca ifade etmek gerekirse Roma II tanı kriterleri, geçmiş 12 ay içerisinde ardışık olması şart olmayan en az 12 haftalık bir süre boyunca, aşağıdaki üç özellikten ikisine yer veren karında rahatsızlık hissi veya karın ağrısının mevcut olması gerektiğini belirtmektedir: (1) Rahatsızlığın dışkılama durumunda hafiflemesi ve/veya (2) rahatsızlık başlangıcının dışkı sıklığındaki bir değişiklik ile ilişkili olması ve/veya (3) rahatsızlık başlangıcının dışkı biçimindeki (görünüşündeki) bir değişiklik ile ilişkili olması. Aşağıdaki semptomlar, BIBS tanısını kümülatif olarak desteklemektedir: (i) Anormal dışkı frekansı, örneğin günde 3 kereden fazla; (ii) anormal dışkı biçimi, örneğin gevşek/sulu dışkı; (iii) sıkıştırma durumunun varlığı (bir bağırsak hareketinin gerçekleşmesiyle ilgili sıkışıklık ve aciliyet haline sahip olunması).

TANIMLAR

Başka türlü tanımlanmadıkları sürece, burada kullanılan bütün teknik terimler, gösterim biçimleri ve diğer bilimsel terimler ve terminolojinin, bu buluşun ait olduğu alanda deneyim sahibi kişilerce olağan olarak anlaşılan anlamları taşıması amaçlanmıştır. Bazı durumlarda, olağan olarak anlaşılan anlamlara sahip terimler açıklamanın belirginleştirilmesi ve/veya kolaylık atıfta bulunulmasının sağlanması amacıyla burada tanımlanmıştır ve burada bu tür tanımlara yer verilmesinin, bu alanda genel olarak anlaşılanlara göre önemli bir farklılığı temsil ettiği şeklinde bir yorum yapılması şart değildir. Mevcut buluşun uygulamaya konulmasında, aksi belirtilmediği sürece, bu alanda sahip olunan becerilerin kapsamına dahil bulunan klasik moleküler biyoloji (rekombinant teknikler dahil olmak üzere), mikrobiyoloji, hücre biyolojisi, biyokimya, nükleik asit kimyası ve immünoloji tekniklerinden yararlanılacaktır. Bu teknikler literatürde örneğin aşağıdaki kaynaklarda daha etraflıca izah edilmektedir: Current Protocols in Immunology (immünolojide güncel protokoller) (J. E. Coligan ve diğerleri, editörler, 1999, 2001'e kadar olan ekleri dahil); Current Protocols in Molecular Biology (moleküler biyolojide güncel protokoller) (F. M. Ausubel ve diğerleri, editörler, 1987, 2001'e kadar olan ekleri dahil); Molecular Cloning: A Laboratory Manual (moleküler klonlama: laboratuvar el kitabı), üçüncü baskı (Sambrook ve Russel, 2001); PCR: The Polymerase Chain Reaction (PCR: polimeraz zincir reaksiyonu) (Mullis ve diğerleri, editörler, 1994); The Immunoassay Handbook (immünolojik test el kitabı) (D. Wild, editör, Stockton Press NY, 1994); Bioconjugate Techniques (biyokonjüge teknikleri) (Greg T. Hermanson, editör, Academic Press, 1996); Methods of Immunological Analysis (immünolojik analiz yöntemleri) (R. Masseyeff, W. H. Albert ve N. A. Staines, editörler, Weinheim: VCH Verlags gesellschaft mbH, 1993), Harlow ve Lane, Using Antibodies: A Laboratory Manual (antikorların kullanılması: laboratuvar el kitabı), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1999) ve Beaucage ve diğerleri, editörler, Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry (nükleik asit kimyasında güncel protokoller) John Wiley & Sons, Inc., New York, 2000).

Burada kullanıldığı biçimiyle, polipeptidler veya proteinler bağlamındaki "türev" terimi amino asit artığı değiştirmeleri, delesyonları veya eklemelerinin dahil edilmesi yoluyla değiştirilmiş olan bir amino asit dizisini içeren bir polipeptidi veya proteini ifade etmektedir. Burada kullanıldığı biçimiyle "türev" terimi ayrıca, modifiye edilmiş olan, yani herhangi bir molekül tipinin polipeptide veya proteine kovalent bağlanması yoluyla modifiye edilmiş olan bir polipeptidi veya proteini de ifade etmektedir. Örneğin bir antikör örneğin glikozilasyon, asetilasyon, pegilasyon, fosforilasyon, amidasyon, bilinen koruma/bloke etme gruplarıyla derivatizasyon, proteolitik yarıma, hücresel bir liganda veya diğer bir proteine bağlama, vs. vasıtasıyla modifiye edilebilmektedir. Türev halindeki bir polipeptid veya protein spesifik kimyasal yarıma, asetilasyon, formilasyon, tunikamisin metabolik sentezi, vs. dahil olmak üzere bu alanda deneyim sahibi kişilerce bilinen teknikler kullanılarak kimyasal

modifikasyonlar vasıtasıyla üretilmektedir. Ayrıca, türev halindeki bir polipeptid veya bir protein türevi, türetilmiş olduğu polipeptidinkine veya proteininkine benzer veya özdeş en az bir biyolojik işleve sahip bulunmaktadır.

5 Burada kullanıldığı biçimiyle, proteinsiz bir türev bağlamındaki “türev” terimi, birinci bir organik veya inorganik molekülün yapısı temel alınarak oluşturulan ikinci bir organik veya inorganik molekülü ifade etmektedir. Organik bir molekülün bir türevi örneğin bir hidroksil, metil, etil, karboksil ve amin grubunun eklenmesi veya kaldırılması, esterifikasyon, alkilasyon veya fosforilasyon, hareketsizleştirme veya bir polimerin eklenmesi yoluyla modifiye edilmiş olan bir molekülü içermektedir.

10 Burada kullanıldığı biçimiyle, “polimer” terimi, aynı veya farklı olabilen üç veya daha fazla monomerik birimi içeren bileşikler ifade etmektedir. Dolayısıyla “polimer” terimi, yüksek moleküler ağırlığa sahip olan ve/veya çözünmez olan polimerleri ve ayrıca, düşük moleküler ağırlığa sahip olan ve/veya çözünebilir olan oligomerleri ifade etmektedir.

15 Burada kullanıldığı biçimiyle, “fragman” terimi, en az 5 tane bitişik amino asit artığından oluşan bir amino asit dizisini içeren bir peptidi veya polipeptidi ifade etmektedir. Bir yapılanmada, bir polipeptide ait bir fragman, polipeptidin en az bir fonksiyonunu muhafaza etmektedir.

20 Burada kullanıldığı biçimiyle, “CFTR fonksiyonunun inhibe edilmesi” terimi, bir CFTR molekülünün herhangi bir fonksiyonunun, klorür iyonu taşınmasının inhibe edilmesi ve CFTR molekülünün ekspresyonunun inhibe edilmesi dahil olmak üzere herhangi bir yoldan inhibe edilmesini ifade etmektedir.

25 Burada kullanıldığı biçimiyle, “nükleik asitler” ve “nükleotid dizileri” terimleri, DNA moleküllerini (örneğin cDNA veya genomik DNA), RNA moleküllerini (örneğin mRNA), DNA ve RNA moleküllerinin kombinasyonlarını veya hibrid DNA/RNA moleküllerini ve DNA veya RNA moleküllerinin analoglarını kapsamaktadır.

30 Burada kullanıldığı biçimiyle, “birey” ve “hasta” terimleri birbirinin yerine geçebilecek şekilde kullanılmaktadır. Burada kullanıldığı biçimiyle, “birey” ve “bireyler” terimleri bir hayvanı, tercihen bir memeliyi ve buna dahil olmak üzere primat olmayan bir memeliyi (örneğin inek, domuz, at, kedi, köpek, sıçan ve fareyi) ve bir primatı (örneğin sinomolgus maymunu gibi bir maymunu ve insanı) ve daha fazla tercih edilen durumda bir insanı ifade etmektedir. Tercih edilen bir yapılanmada, birey bir insandır. Bir yapılanmada “birey” terimi, sekretuar (akut) ishalden yakınan veya bu rahatsızlığı taşıdıkları yönünde tanı konulmuş olan bireyleri dışarıda bırakmaktadır.

Burada kullanıldığı biçimiyle, “tedavi etmek”, “tedavi” ve “tedavi etme” terimleri, bir d-IBS semptomunun veya komplikasyonunun önlenmesini, azaltılmasını, hafifletilmesini veya ortadan kaldırılmasını ifade etmektedir. Mevcut buluş bağlamında “bir d-IBS semptomunun önlenmesi, azaltılması, hafifletilmesi veya ortadan kaldırılması” terimi, aşağıdakilerden en az birine karşılık gelmektedir: Örneğin geçmişte d-IBS’den yakınmış olan ancak şu anda hastalıksız bir dönemde bulunan hastalarda d-IBS’nin meydana gelmeden önce önlenmesi; meydana gelmiş olan d-IBS’nin ortadan kaldırılması (örneğin normal dışkı frekansına geri dönüşle belirlendiği şekliyle); d-IBS ile ilişkili ağrının ortadan kaldırılması; mevcut bir d-IBS durumunun şiddetindeki bir azalmayla ortaya çıktığı üzere, hastalığın istenmeyen bir semptomunun azaltılması; bireyin tedavi edilmesinde kullanılan bir veya daha fazla ilacın kullanımının iptal edilmesi veya azaltılması. İstenmeyen semptomdaki azalma örneğin, tedavi öncesine kıyasla dışkı frekansının ölçülmesi, dışkı kıvamının belirlenmesi, sıkıştırma durumunun varlığının belirlenmesi, d-IBS ile ilişkili ağrının belirlenmesi yoluyla saptanabilmektedir. Semptomun bir kısmı daha düşük ve daha kabul edilebilir bir düzeyde geriye kalsa bile (“yönetim”), bir semptomun şiddetindeki herhangi bir azalma miktarı, burada tanımlanan terimin kapsamına dahil bulunmaktadır. Bu tür bir iyileşme dışkı sıklığında azalma, dışkı kıvamında artış, sıkıştırma durumunda azalma ve ağrının azalması şeklinde ortaya çıkabilmektedir.

d-IBS’ye karındaki rahatsızlık hissi, ağrı, şişkinlik, yorgunluk, uyku bozuklukları, cinsel işlev bozukluğu, baş ağrısı, fibromiyalji (kas ağrısı), dispepsi (üst karın bölgesinde rahatsızlık hissi veya ağrı), göğüs ağrısı, üriner veya jinekolojik semptomlar, anksiyete ve depresyon gibi ishale ilişkili olmayan diğer semptomlar her zaman eşlik ettiği için, bu semptomların en az birindeki azalma da, “bir d-IBS semptomunun veya komplikasyonunun önlenmesi, azaltılması, yönetimi veya ortadan kaldırılması” teriminin kapsamına dahil bulunmaktadır.

Burada kullanıldığı biçimiyle, “terapötik olarak etkili miktar” terimi, terapötik maddenin d-IBS’nin tedavisiyle sonuçlanmak, d-IBS’nin ilerlemesini önlemek, d-IBS’nin gerilemesine yol açmak ya da d-IBS’nin tedavi edilmesi veya önlenmesi amacıyla uygulanan başka bir terapötik maddenin terapötik etkisini (etkilerini) geliştirmek veya artırmak için yeterli olan miktarını ifade etmektedir.

Aşağıdaki Örnek dizisi, anlatım amacıyla sunulmaktadır.

ÖRNEKLER

ÖRNEK 1: FARMASÖTİK FORMÜLASYONLARIN HAZIRLANIŞI

Aşağıda, mevcut buluşa uygun, C. lechleri'den elde edilen proantosiyanidin polimer bileşiminin tercih edilen farklı farmasötik formülasyonlarının üretimine ve ambalajlanmasına yönelik temsili örnekler açıklanmaktadır.

1A. KAPSÜLLENMİŞ ENTERİK KAPLAMALI TANECİKLER

- 5 Şeker kürelerini temel alan kapsüllenmiş enterik kaplamalı proantosiyanidin polimer bileşimi tanecik formülasyonunun hazırlanmasında kullanılan harman formülünün ve yöntemlerin ayrıntılı açıklamaları aşağıda sunulmaktadır. Her bir sert kabuklu jelatin kapsülü, 250 mg proantosiyanidin polimer bileşimi enterik kaplamalı taneciklerini içermiştir. Kapsüller, her biri on altı (16) adet 250 mg kapsül içeren HDPE şişelerde ambalajlanmıştır. Enterik kaplamalı
- 10 proantosiyanidin polimer bileşimi taneciklerine ait formülasyon (ağırlıkça) %17.3 oranında tablet şekerleme tohumları (40/60 gözenek büyüklüğüne sahip, Paulaur, parti #60084060 şeker küreleri), %64.5 oranında C. lechleri'den elde edilen proantosiyanidin polimer bileşimi, %1.5 oranında hidroksipropilmetilselüloz (Methocel E5 Premium, Dow Chemical Co., parti #MM9410162E), %0.5 oranında Opadry Saydam (Colorcon, parti #S83563), %14.5 oranında
- 15 "EUDRAGIT® L 30D" (Rohm Tech., parti #1250514132), %1.45 oranında trietil sitrat (Morfex, parti #N5X291), gliseril monostearat (Imwitor-900, Rohm Tech, parti #502-229) ve saf su (USP) içermiştir.

- Proantosiyanidin polimer bileşimini içeren tabaka halinde kaplama çözeltisi, hidroksipropilmetilselüloz ve proantosiyanidin polimer bileşiminin saf suya (USP) ilave edilmesi ve çözününceye kadar karıştırılması yoluyla hazırlanmıştır. Tablet şekerleme tohumları, akışkan yataklı işlemcinin (NiorPrecision Coater) ürün teknesi içine yüklenmiştir. Daha sonra, çözeltinin akışkanlaştırılmış tablet şekerleme tohumları üzerine 30-35°C'lik bir hedef yatak sıcaklığında püskürtülmesi yoluyla, polimer çözeltisi tablet şekerleme tohumları üzerine tabaka halinde uygulanmıştır. Proantosiyanidin polimer tabakası uygulaması
- 25 tamamlanınca, Opadry Saydam'ın kullanıldığı bir sızdırmazlık kaplaması (Opadry Saydam'ın Saf Su (USP) ile karıştırılması yoluyla hazırlanmıştır), 30-35°C'lik bir hedef yatak sıcaklığında uygulanmıştır. Sızdırmazlık tabakası uygulandıktan sonra, peletler deşarj edilmiş ve 1000 µ ve 425 µ elekler içinden elenmiş ve 425 µ'dan büyük ve 1000 µ'dan küçük olan tabakalanmış küreler akışkan yataklı işlemciye geri yüklenmiştir. Bu arada, enterik kaplama çözeltisi, trietil
- 30 sitrat ve gliseril monostearatın 65°C'ye ısıtılmış olan suya karıştırılması ve bu çözeltinin "EUDRAGIT® L 30D-55" ile karıştırılması yoluyla hazırlanmıştır. Daha sonra, ortaya çıkan enterik kaplama çözeltisi, akışkan yataklı işlemcideki tabakalanmış kürelerin üzerine 30-35°C'lik bir yatak sıcaklığında, bütün enterik kaplama çözeltisi tanecikler üzerine tabaka halinde uygulanıncaya kadar püskürtülmüştür. Proantosiyanidin polimer bileşiminin %52.9'luk
- 35 bir konsantrasyonda mevcut bulunduğunu gösteren HPLC deneyi sonuçları temel alınarak,

enterik kaplamalı tanecikler #0 Büyüklüğünde bir sert kabuklu jelatin kapsülün içine 250 mg'lık bir dozaj elde edilecek biçimde elle doldurulmuş ve ardından, ısı endüksiyonuyla kaplanmış bir kapağa sahip uygun HDPE şişelerin içinde ambalajlanmıştır.

TABLO 1: HARMAN FORMÜLÜ

Ürün: Proantosiyanidin Polimer Enterik Kaplamalı Tanecikleri	
Harman Boyutu: 578.0 gm	
Ham Madde	Harman Başına Kullanılan Miktar
Tablet Şekerleme Küreleri, NF (40/60)	100.0 gm
Proantosiyanidin Polimer Bileşimi	372.8 gm
Hidroksipropilmetilselüloz E5, USP (K29/32)	8.7 gm
Opadry Saydam (YS-1-19025A)	2.9 gm
"EUDRAGIT® L 30D-55" (%30 katı)	279.4 gm
Trietil Sitrat, NF	8.4 gm
Gliserol Monostearat	1.4 gm
Su, USP (işlem sırasında uzaklaştırılmaktadır)	1284.8 gm

5

1B. KAPSÜLLENMİŞ ENTERİK KAPLAMALI TANECİKLER

Aşağıda, tablet şeker kürelerini içermeyen kapsüllenmiş enterik kaplamalı tanecik formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılan formül ve yöntemler açıklanmaktadır. Bir formülasyon ağırlıkça %83.3 oranında proantosiyanidin polimer bileşimi, ağırlıkça %0.5 oranında Opadry Saydam, ağırlıkça %14.5 oranında "EUDRAGIT® L 30D-55", ağırlıkça %1.9 oranında trietil sitrat ve ağırlıkça %0.34 oranında gliseril monostearat içermektedir.

10

Tanecikler ilk olarak, 50 mm bir Wurster kolonuna sahip 16 litrelik bir Aeromatic MP-1 akışkan yataklı işlemcisinde %5'lik bir Opadry Saydam çözeltisiyle sızdırmazlık kaplamasına tabi tutulmuştur. Sızdırmazlık kaplamasının uygulanmasına yönelik kaplama parametreleri 50°C ila 60°C aralığındaki bir giriş sıcaklığı, 25°C ila 40°C aralığındaki bir çıkış sıcaklığı, 30 ila 40 CMH aralığındaki bir hava hacmi, dakikada 6 ila 12 gram aralığındaki bir sprej hızı ve 2.5 Bar değerindeki bir hava basıncı şeklinde olmuştur. Sızdırmazlık amaçlı kaplama uygulandıktan sonra, tanecikler deşarj edilmiş ve 425 µ'den büyük ve 1000 µ'den küçük taneciklere yönelik olarak elekten geçirilmiştir. Daha sonra uygun büyüklüğe sahip tanecikler, enterik kaplama için akış yataklı proseslere geri yüklenmiştir. Proantosiyanidin polimer bileşimi taneciklerinin her 1000 gramı için, enterik kaplama süspansiyonu 811.97 gram "EUDRAGIT® L 30D-55", 24.36 gram trietil sitrat, 4.36 gram gliseril monostearat ve 248.55 gram saf sudan hazırlanmıştır. Bu süspansiyon, "EUDRAGIT® L 30D-55" süspansiyonunun

15

20

sürekli olarak hafifçe karıştırılması ve ayrı bir kaptaki trietil sitrat ile talkın saf su içinde süspansiyon haline getirilmesi ve homojenleştirilmesi yoluyla hazırlanmıştır. Daha sonra, trietil sitrat/talk karışımı “EUDRAGIT® L 30D-55” süspansiyonuna ilave edilmiş ve ortaya çıkan kaplama dispersiyonu, çökmesinden kaçınılması amacıyla püskürtme prosesi sırasında karıştırılmıştır. Daha sonra tanecikler, akışkan yataklı işlemcide aşağıdaki parametrelere göre kaplanmıştır: Giriş sıcaklığı 42°C ila 47°C aralığında olmuştur; çıkış sıcaklığı 28°C ila 34°C aralığında olmuştur; hava hacmi 30-40 CMH olmuştur; spreysel hızı 612 gram/dakika olmuştur ve hava basıncı 2.5 Bar olmuştur. Ortaya çıkan enterik kaplamalı tanecikler daha sonra, #0 büyüklüğünde bir sert kabuklu jelatin kapsül içine doldurulmuştur.

10 **1C. ENTERİK KAPLAMALI GRANÜLLER VE TOZ PARÇACIKLARI**

Aşağıda, proantosiyanidin polimer bileşiminin enterik kaplamalı granüller veya toz (300-500 µ şeklindeki bir çapa sahip mikroküreler) halinde sert kabuklu jelatin kapsüllerde veya oral bir çözeltide süspansiyon halinde formüle edilmesine yönelik bir yöntem açıklanmaktadır. Proantosiyanidin polimer bileşimi toz parçacıkları, proantosiyanidin polimer bileşimi ile hidroksipropilmetilselülozun yüksek hızlı bir mikser/granüleleştirici içinde yüksek kesmeli toz karıştırma aşamasına tabi tutulması yoluyla hazırlanmaktadır. Proantosiyanidin polimer bileşimi granülleri, yüksek hızlı mikser/granüleleştirici içindeki tozun üzerine polivinilpirrolidonun püskürtülmesi ve böyle, toz parçacıklarının bir araya toplanarak daha büyük granülleri oluşturmalarının sağlanması yoluyla hazırlanmaktadır. Daha sonra, akışkan yataklı ekipman kullanılarak granüller veya toz bir Opadry Saydam (suyla karıştırılmaktadır) sızdırmazlık kaplamasıyla kaplanmakta ve ardından, ağırlıkça %30 oranında kuru metakrilat polimer maddesi içeren sulu bir dispersiyon halinde uygulanan “EUDRAGIT® L 30D” enterik kaplamasıyla kaplanmakta, bu enterik kaplama emülgatör olarak %0.7 oranında sodyum lauril sülfat NF (SLS) ve %2.3 oranında polisorbata 80 NF (Tween™ 20) ile birlikte temin edilmekte ve buna, kaplamanın elastisitesinin artırılmasına yönelik plastikleştiriciler, yani trietil sitrat ve gliseril monostearat ilave edilmektedir. Enterik kaplamalı tozun nihai bileşimi ağırlıkça %81.8 oranında proantosiyanidin polimer bileşimi, ağırlıkça %1.5 oranında hidroksipropilmetilselüloz, ağırlıkça %0.5 oranında Opadry Saydam, ağırlıkça %14.5 oranında “EUDRAGIT® L 30D”, ağırlıkça %1.45 oranında trietil sitrat ve ağırlıkça %0.25 oranında gliseril monostearat şeklindedir. Enterik kaplamalı granüllerin nihai bileşimi ağırlıkça %81.8 oranında proantosiyanidin polimer bileşimi, ağırlıkça %10 oranında polivinilpirrolidon, ağırlıkça %1.5 oranında hidroksipropilmetilselüloz, ağırlıkça %0.5 oranında Opadry Saydam, ağırlıkça %14.5 oranında “EUDRAGIT® L 30D”, ağırlıkça %1.45 oranında trietil sitrat ve ağırlıkça %0.25 oranında gliseril monostearat şeklindedir.

Enterik kaplamalı proantosiyanın polimer bileşimi granülleri veya tanecikleri sert kabuklu bir jelatin kapsüle uygun bir dozajı temin eden bir miktarda doldurulabilmektedir.

Enterik kaplamalı proantosiyanın polimer bileşimi granülleri veya toz parçacıkları ayrıca, özellikle pediatrik uygulamaya yönelik olarak oral uygulamaya yönelik bir çözelti içinde süspansiyon haline getirilebilmektedir. Süspansiyon çözeltisi 2 gram hidroksipropilmetilselülozun 97.8 ml distile su ve 0.2 gram Tween™ 80 içinde ısıtılması; bu preparatın sonikasyon yoluyla homojenlik derecesine kadar karıştırılması; çözeltinin 40°C'ye ısıtılması ve üç saat süreyle karıştırılması ve daha sonra, enterik kaplamalı proantosiyanın polimer bileşimi toz parçacıkları veya granüllerinin homojen çözeltiye ilave edilmesi yoluyla hazırlanmaktadır.

1D. ENTERİK KAPLAMALI SIKIŞTIRILMIŞ TABLETLER

Proantosiyanın polimer bileşiminin bir seyrelticiyle birlikte enterik kaplamalı tabletler halinde formüle edilmesine ilişkin bir yöntem aşağıda açıklanmaktadır. 350 mg'lık her bir tablet için, 250 mg proantosiyanın polimer bileşimi 7 mg çapraz bağlı sodyum karboksimetilselüloz ("AC-DI-SOLTM") ve toplam kütlenin 350 mg'a tamamlanması için yeterli kütleye sahip mikrokristalin selüloz ("AVICELTM PH 200/300") ile granüle edilmektedir. Bu içerikler, bir V karıştırıcıda 20 ila 30 dakika süreyle karıştırılmaktadır. 20 ila 30 dakika süreli karıştırmanın ardından, 1.75 mg magnezyum stearat ilave edilmekte ve karışım 4 ila 5 dakikalık ek bir süre boyunca karıştırılmaktadır. Ortaya çıkan granüller, 5/16 inç standart içbükey zimbaların kullanıldığı bir döner tablet presi üzerinde sıkıştırılmaktadır. Tabletler 250 gram "EUDRAGIT® L 30D-55", 7.5 gram trietil sitrat, 37.5 gram talk ve 205 gram sudan hazırlanan bir enterik kaplama karışımıyla kaplanmaktadır. Tabletler daha sonra delikli kazan içeren bir kaplayıcıya (örneğin "ACCELACOTATM" sistemi) konulmakta ve 40°C'de 15 rpm'de döndürülmektedir. Enterik kaplama formülasyonu, aşağıdaki koşullar kullanılarak püskürtülmektedir: 44°C-48°C'lik giriş havası sıcaklığı, 29°C-32°C'lik egzoz havası sıcaklığı, 26°C-30°C'lik ürün sıcaklığı, 1 mm sprej ağızlığı, 30 ila 32 rpm kazan hızı, 30-32 CFM hava akışı ve 20 PSI sprej basıncı. Tabletler son olarak, kazanın 60°C'lik bir giriş havası sıcaklığında 15 rpm'de dönmesi esnasında 30 dakika süreyle kürlenmekte ve daha sonra, ısının kaldırılmasının ardından, tabletler oda sıcaklığına soğuyuncaya kadar 15 rpm'de döndürülmektedir.

1E. ENTERİK KAPLAMALI DOĞRUDAN SIKIŞTIRILMIŞ TABLETLER

Proantosiyanın polimer bileşiminin bir seyreltici olmaksızın enterik kaplamalı tabletler halinde formüle edilmesine ilişkin bir yöntem aşağıda açıklandığı gibi gerçekleştirilmiştir. Doğrudan sıkıştırılabilir proantosiyanın polimer bileşimi, aşağıda Örnek 1F'de açıklanan yöntem uyarınca üretilmiştir. 125 mg'lık tabletler, ağırlıkça %99.6 oranında doğrudan

sıkıştırılabilir proantosiyanidin polimer bileşiminin ağırlıkça %0.40 oranında magnezyum stearatla iki dakika boyunca harmanlanması ve daha sonra, 1/4 inç çapında yuvarlak standart içbükey zimbaların kullanıldığı bir döner pres üzerinde 4-10 Kp'lik bir tablet sertliğine uygun şekilde 125 mg'lık tabletler halinde doğrudan sıkıştırılması yoluyla hazırlanmıştır.

- 5 Çekirdek tabletler test edilmiş ve 4-10 Kp'lik bir ortalama sertliğe ($n = 10$), %0.7'den düşük bir ufalanırlığa ($n = 20$), $125 \text{ mg} \pm 7 \text{ mg}$ 'lık bir ortalama tablet ağırlığına ($n = 10$), 3.9 ila 4.1 mm aralığındaki bir ortalama kalınlığa ($n = 10$) ve 20 dakikadan fazla olmayan bir parçalanma süresine ($n = 6$) sahip olduğu bulunmuştur.

- 10 Kaplama dispersiyonu, tabletlerin 100 gramı başına, hafifçe karıştırılır durumda tutulan 22.22 gram ağırlıkça %30'luk "EUDRAGIT® L 30D-55" süspansiyonunun 0.67 gram trietil sitrat, 1.67 gram talk ve 20.44 gram saf su içeren ve homojen hale gelinceye kadar karıştırılmış olan bir karışımla karıştırılması yoluyla hazırlanmıştır. Kaplama dispersiyonu, çökmesinden kaçınılması amacıyla sürekli olarak karıştırılmıştır.

- 15 Tabletler (100,000'lik harmanlar halinde), bir Compu-Lab 24 inç/30 L kazanında kaplama dispersiyonuyla kaplanmıştır. Tabletler kazan içinde 3-5 rpm'lik bir hızda yavaşça hareketlendirilmiş ve 35°C ila 40°C'lik bir sıcaklığa önceden ısıtılmıştır. Tabletler daha sonra enterik kaplama dispersiyonuyla, %6 ila %8'lik bir ağırlık artışına ve aşağıdaki parametrelere göre kaplanmıştır: 45°C ila 65°C'lik bir giriş sıcaklığı; 27°C ila 34°C'lik bir egzoz hava sıcaklığı; 28°C ila 32°C'lik bir ürün sıcaklığı; 8-14 rpm'lik bir kazan hızı; 180 ila 240 CHM'lik
20 bir hava akışı, 10-20 psi'lik (pound bölü inç kare) bir hava sprey basıncı; 3 ila 4 gram/dak/kg değerindeki bir başlangıç sprey hızı ve 4 ila 8 gram/dak/kg değerindeki bir son sprey hızı. Daha sonra tabletler kazan içinde 30 dakika süreyle 45°C ila 50°C'lik bir giriş sıcaklığı ve 3 ila 5 rpm'lik bir kazan hızına göre kürlenmiştir. Son olarak, tabletlerin kazan içinde 3 ila 5 rpm'lik bir kazan hızında oda sıcaklığına soğumasına izin verilmiştir. Daha sonra, dört adet 125
25 mg'lık tablet, sıfır boyutlu, opak bir İsveç turuncu renkli jelatin kapsülü içine doldurulmuştur.

- Enterik kaplamalı proantosiyanidin polimer bileşimi tabletleri içeriğin birörnekliği, ilaç salımı, mikrobiyolojik testler ve stabilite anlamında test edilmiş ve bazı analitik proses içi testler de yapılmıştır. Stabilite çalışmalarında, proantosiyanidin polimer bileşimi oda sıcaklığında altı ay depolama ardından ve ayrıca hızlandırılmış sıcaklık ve nem koşullarında stabil kalmıştır. Son
30 olarak, çekirdek tabletler test edilmiş ve 4-10 Kp'lik bir ortalama sertliğe ($n = 10$), %0.7'den düşük bir ufalanırlığa ($n = 20$), $125 \text{ mg} \pm 7 \text{ mg}$ 'lık bir ortalama tablet ağırlığına ($n = 10$), 3.9 ila 4.1 mm aralığındaki bir ortalama kalınlığa ($n = 10$) ve 20 dakikadan fazla olmayan bir parçalanma süresine ($n = 6$) sahip olduğu bulunmuştur.

1F. ENTERİK KAPLAMALI DOĞRUDAN SIKIŞTIRILMIŞ TABLETLER

Proantosiyanidin polimer bileşiminin bir seyreltici olmaksızın enterik kaplamalı tabletler halinde formülasyonu aşağıda açıklandığı gibi gerçekleştirilmiştir. Doğrudan sıkıştırılabilir proantosiyanidin polimer bileşimi, aşağıda Örnek 2'de açıklandığı gibi izole edilmiştir. Çekirdek tabletler, tablet başına 250 mg proantosiyanidin polimer bileşiminin (toplam yaklaşık 16 kg), 024R (gözenek büyüklüğü ölçüsü 30) elek içeren bir Quadro Comil'de öğütülmesi ve ardından öğütülmüş bileşimin bir Patterson Kelley 2 feet küp ikiz kabuklu karıştırıcısında harmanlanması yoluyla hazırlanmıştır. Daha sonra, karıştırıcıdaki bileşime tablet başına 1 mg magnezyum stearat (Spectrum Quality Products, Inc., New Brunswick, N. J.) ilave edilmiş ve 2 dakika süreyle harmanlanmıştır. Harman daha sonra, döner bir tablet presi üzerinde 8-15 Kp'lik bir tablet sertliğine ve %0.5'ten az bir ufalanırlığa göre 251 mg'lık tabletler (250 mg proantosiyanidin polimer bileşimi içermiştir) halinde sıkıştırılmıştır.

Kaplama dispersiyonu, ilk olarak 25 g (7.5 g katı) "EUDRAGIT® L 30D-55" (Huls America, Inc., Somerset, N. J.) (ağırlık, 115 gram kaplamalı tablet başına verilmektedir) dispersiyonunun birinci bir kap içinde karıştırılması yoluyla hazırlanmıştır. Pigment dispersiyonu 39.59 g saf su, 3.30 gram talk (Alphafilt 500) (Whittaker, Clark & Daniels, Inc., South Plainfield, N. J.), 6.06 g (3.15 g katı) Beyaz Dispersiyon (pigment) (Warner-Jenkinson, Inc., St. Louis, Mo.) ve ardından 1.05 g trietil sitratın (Morflex, Inc., Greensboro, N. C.) ikinci bir kaba sabit karıştırma altında sırayla eklenmesi yoluyla hazırlanmıştır. Daha sonra karışım, 15 dakika süreyle veya homojen hale gelinceye kadar homojenleştirilmiştir. Yavaşça karıştırma altında, pigment dispersiyonu "EUDRAGIT® L 30D-55" dispersiyonuna ilave edilmiş ve ardından, püskürtme öncesinde 30 dakika süreyle karıştırılmıştır. Çökmeden kaçınılması amacıyla, karıştırma püskürtme prosesi sırasında da devam ettirilmiştir.

Tabletler, aşağıdaki ayarlara sahip bir Compu-Lab 24 inç/30 L kazanında 50,000'lik harmanlar halinde kaplanmıştır: 10-20 psi atomize edici hava basıncı, 35°C-60°C kazan giriş havası sıcaklığı; 5 ila 6 inç değerindeki ağızlık ucu ile tablet yatağı arası mesafe ve 4/2 saptırıcı/ağızlık. Tabletlerin kazana eklenmesinin ardından, kazan 3 ila 5 rpm'lik bir hızda yavaşça hareketlendirilmiş ve 40°C'ye ısıtılmıştır. Tabletler daha sonra, %11 ila %13'lük bir ağırlık artışına ve aşağıdaki parametrelere göre püskürtmeye tabi tutulmuştur: 27°C-33°C hedef egzoz sıcaklığı (on dakikalık püskürtme süresi içinde ulaşılacaktır); 8 ila 12 rpm kazan hızı; 180-240 CFM hava akışı ve 2-5 g/dak/kg sprey hızı. Arzu edilen ağırlık artışının elde edilmesinin ardından, ısı uygulaması iptal edilmiş ve tabletler 30°C'nin altına soğuyuncaya kadar kazan 3-5 rpm'de yavaşça hareket ettirilmiştir.

Tabletler, AA boyutlu opak İsveç turuncu renkli DB jelatin kapsülleri (Capsugel, Greenwood, S. C.) içinde kapsüllenmiştir.

Kaplamanın 25,000 tabletlik harmanlar üzerinde %8 ila %10'luk bir ağırlık artışına göre yapılması hariç olmak üzere, 500 mg'lık tabletler de yukarıda açıklanan şekilde üretilmiştir.

ÖRNEK 2: DOĞRUDAN SIKIŞTIRILABİLİR PROANTOSİYANİDİN POLİMER BİLEŞİMİNİN İZOLASYONU

- 5 Doğrudan sıkıştırılabilir bir proantosiyanidin polimer bileşimi (yukarıda Örnek 1E ve 1F'deki formülasyonların hazırlanmasında kullanılan), Croton lechleri bitkisinin lateksinden aşağıdaki şekilde izole edilmiştir:

460 litre Croton lechleri lateksi 940 litre saf suyla on dakika karıştırılmış ve daha sonra, gece boyunca (12 saat) 4°C'de beklemeye bırakılmıştır. Üstte kalan kırmızı sıvı bir bekleme tankına pompalanmış ve tortu atılmıştır. Üstteki sıvı daha sonra, on dakika karıştırma ve ardından fazların ayrılmasına izin verilmesi yoluyla, 200 litre n-butanol ile ekstrakt edilmiştir. n-butanol fazı atılmış ve sulu faz her defasında 200 litre olmak üzere n-butanol ile iki kez daha ekstrakt edilmiştir. Ekstraksiyonun ardından, sulu faz 1 kD kesme noktasına sahip bir membran (düşük protein bağlanmalı bir selüloz membranı) kullanılarak ultrafiltrasyon yoluyla konsantre edilmiş ve daha sonra, filtreden geçmeyen kısım bir tepsili kurutucuda yaklaşık 37°C'de ($\pm 2^\circ\text{C}$) kurutulmuştur.

Kolon kromatografisi vasıtasıyla saflaştırma için, kurutulan ekstrenin 6 kg'ı 75 litre saf su içinde çözdürülmüş ve 90 dakika süreyle karıştırılmıştır. Çözünen malzeme, seri olarak bağlı 35 litrelik CM-Sefaroz kolonu (zayıf bir katyon değişimi reçinesi) ve 70 litrelik LH-20 kolonundan (boyut dışlama reçinesi) oluşan iki kolonlu bir kromatografi sistemi üzerinde kromatografiye tabi tutulmuştur. Malzeme CM-Sefaroz kolonu üzerine yüklenmiş, 140 litre saf suyla yıkanmış ve daha sonra 375 litre %30'luk asetonla LH-20 kolonu üzerine ayrıştırılmıştır. Bu noktada, iki kolon birbirinden ayrılmış ve proantosiyanidin polimer bileşimi 250 litre %45'lik asetonla LH-20 kolonundan ayrıştırılmıştır. Fraksiyonlar 10 litrelik şişelerde toplanmış ve bir UV detektörüyle 460 nm'de takip edilmiştir. 460 nm'de algılanabilir absorbansa sahip malzemeyi içeren fraksiyonlar birleştirilmiş ve 1 kD kesme noktasına sahip bir membran (düşük protein bağlanmalı bir selüloz membranı) kullanılarak ultrafiltrasyon yoluyla konsantre edilmiştir. Filtreden geçmeyen kısım, bir su banyosunda döner bir buharlaştırıcı kullanılarak yaklaşık 37°C'de ($\pm 2^\circ\text{C}$) kurutulmuştur.

- 30 Proantosiyanidin polimer bileşimi, doğrudan sıkıştırılabilirlik bakımından test edilmiştir. Proantosiyanidin polimer bileşiminin herhangi bir bağlayıcı veya ekscipiyenin yokluğundaki 250 mg'lık parçaları bir tabletleme makinesine yerleştirilmiş ve daha sonra, değişen kalınlıklarda tabletler halinde preslenmiştir (yani, bileşim üzerine bir tablet haline getirilmesi amacıyla uygulanan basınç ne kadar fazla olursa, ortaya çıkan tablet de o kadar ince

olmuştur). Daha sonra tabletlerin sertliği, klasik bir sertlik test cihazında tayin edilmiştir. 8-15 kp'lik bir sertliğe sahip olan tabletlerin ufalanırlığı, USP 23 <1216>'da açıklanan şekilde tayin edilmiştir. Ufalanırlık, %0.5'ten az ağırlık kaybı şeklinde olmuştur.

ÖRNEK 3: BİR İLAÇ ÜRÜNÜNÜN BİLEŞENLERİ, BİLEŞİMİ VE ÜRETİMİ

5 3A. İLAÇ ÜRÜNÜ

İlaç ürünü olan krofelemer, 00 Boyutlu opak İsveç turuncu jelatin kapsül içinde kapsüllenen ve mikrokristalin selülozla arkası doldurulan enterik kaplamalı 125 mg'lık tablet(ler)den oluşmaktadır. Her bir kapsül 1, 2 veya 4 enterik kaplamalı tablet içermektedir. Tablet çekirdeği %99.93 oranında krofelemer ve %0.07 oranında magnezyum stearattan oluşmakta ve bir metakrilik asit kopolimeriyle kaplanmaktadır.

3B. İLAÇ ÜRÜNÜNÜN BİLEŞENLERİ

Krofelemer, Napo Pharmaceuticals, Inc. tarafından temin edilmekte ve yürürlükteki İyi Üretim Uygulamaları (cGMP) kapsamında üretilmektedir. Magnezyum stearat Mallinckrodt (veya eşdeğeri) tarafından üretilmekte ve 27 USP/NF'de açıklanan magnezyum stearata yönelik şartları karşılamaktadır. Magnezyum stearatın üreticisi, bitkisel kaynaklardan türetildiğini tasdik etmektedir. Mikrokristalin selüloz FMC (veya eşdeğeri) tarafından üretilmekte ve 27 USP/NF'de açıklanan mikrokristalin selüloza yönelik şartları karşılamaktadır. Hem yüksek yoğunluklu hem de düşük yoğunluklu mikrokristalin selüloz kullanılmaktadır. Metakrilik asit kopolimeri DeGussa tarafından Eudragit® (L30-D55) ticari adı altında üretilmekte ve 27 USP/NF'de açıklanan metakrilik asit kopolimeri Tip C'ye yönelik şartları karşılamaktadır. Trietil sitrat Morflex (veya eşdeğeri) tarafından üretilmekte ve 27 USP/NF'de açıklanan trietil sitrata yönelik şartları karşılamaktadır. Talk Whittaker, Clark ve Daniels (veya eşdeğeri) tarafından üretilmekte ve 27 USP/NF'de açıklanan talka yönelik şartları karşılamaktadır. Saf su ilaç ürünü üreticisi tarafından temin edilmekte ve 27 USP/NF'de açıklanan saf suya yönelik şartları karşılamaktadır. İsveç turuncu opak, 00 Boyutlu sert jelatin kapsül gövde ve kapakları Capsugel, Inc. (Greenwood, SC) tarafından temin edilmektedir. Üretici, kapsüllerin cGMP kapsamında jelatine yönelik yürürlükteki Ulusal İlaç Rehberindeki (NF) şartları karşılayan jelatinlerden yapıldığını tasdik etmektedir.

3C. İLAÇ ÜRÜNÜNÜN BİLEŞİMİ

Tablet çekirdekleri ve enterik kaplamalı tabletlerin bileşimi sırasıyla Tablo 2 ve Tablo 3'te açıklanmaktadır. Krofelemer ve magnezyum stearat miktarı, krofelemerin nem içeriğine yönelik düzeltme yapan ilaç maddesi anhidroz etkinliği temel alınarak ayarlanmaktadır. Kaplama sonrasındaki ağırlık artış miktarı yaklaşık %10'dur. Klinik harman büyüklüğü 100,000 ila 150,000 enterik kaplamalı tablet aralığında değişmektedir. Daha sonra, 1, 2 veya

4 adet enterik kaplamalı tablet 00 Boyutlu bir kapsüle konulmakta ve her bir kapsül mukavemeti ve plasebo ağırlıklarıyla eşleşecek biçimde mikrokristalin selülozla arkası doldurulmaktadır.

Tablo 2: İlaç Ürününün Bileşimi, 125 mg Tablet Çekirdekleri

İçerik	Tip	Amaç	Nicel Bileşimi	Teorik mg/birim doz
Krofelemer	cGMP	Etken madde	%99.93	125 mg
Magnezyum stearat	27 USP/NF	Yağlayıcı	%0.07	0.13 mg
Toplam			%100	125.13 mg

5

Tablo 3: İlaç Ürününün Bileşimi, Enterik Kaplamalı 125 mg Tabletler

İçerik	Tip	Amaç	Nicel Bileşimi	Teorik mg/birim doz
Krofelemer tablet	cGMP	Etken madde	%90.0	125.13 mg
Eudragit® L-30 D55	27 USP/NF	Kaplama	%7.4	34.5 mg (10.4)
Trietil sitrat	27 USP/NF	Plastikleştirici	%0.8	1.05 mg
Talk	27 USP/NF	Dispersiyon yapıcı	%1.8	2.6 mg
Saf su*	27 USP/NF	Çözücü	N/A*	21.9 mg
Toplam			%100	136.4 mg
* Saf su, proses esnasında uzaklaştırılmaktadır.				

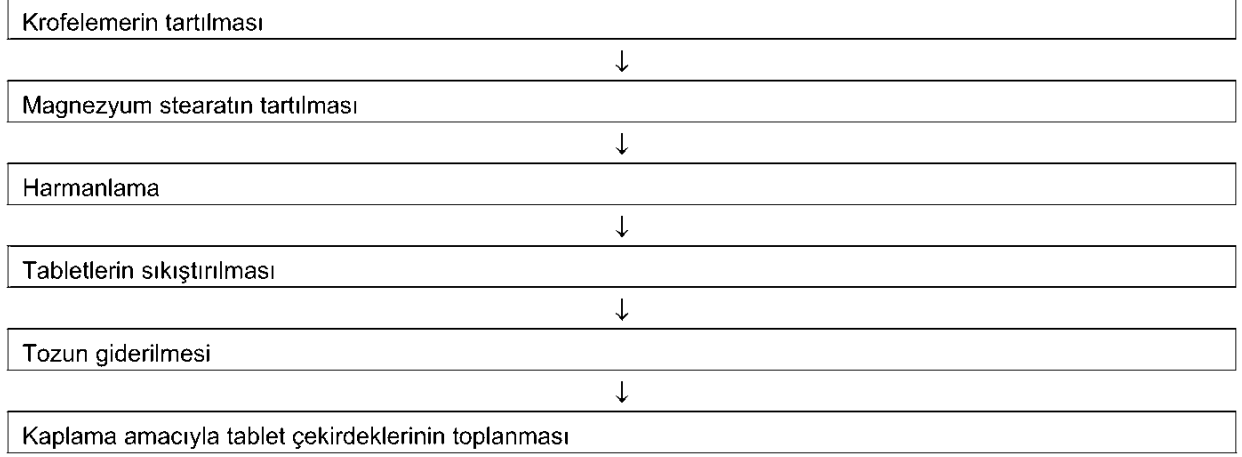
3D. İLAÇ ÜRÜNÜNÜN ÜRETİMİNE YÖNELİK YÖNTEM

I. TABLET ÇEKİRDEĞİNİN ÜRETİMİ

- 10 Nem miktarını ayarlayan anhidroz bazdaki krofelemer etkinliğine göre yeterli miktarda krofelemer ve magnezyum stearat, üretim öncesinde hazırlanmaktadır. Krofelemer karıştırıcıya eklenmekte ve magnezyum stearat elekten geçirilmekte ve krofelemere ilave edilmektedir. Krofelemer ve magnezyum stearat harmanlanmakta, temsili bir harman numunesi alınmakta ve verim belirlenmektedir. Verimin 100 ± 3 düzeyinde olması gereklidir.
- 15 Harman %99.9 oranında etken madde olduğu için, ihtiyaç duyulmadığı sürece harmanın birörnekliliği belirlenmemektedir. Harman, 1/a inç yuvarlak içbükey zımbaların kullanıldığı bir döner tablet presi üzerinde doğrudan sıkıştırılmaktadır. Mamul tablet çekirdeklerinin tozu giderilmekte ve kaplanmayı beklemek üzere bir kaba konulmaktadır. Üretim seyrinin başlangıcı öncesinde, hedeflenen tablet çekirdeği ağırlığı, kalınlığı ve sertliğinin karşılanması amacıyla presin hızının ve sıkıştırmasının ayarlanmasına yönelik üretim öncesi aşamalar gerçekleştirilmektedir. Ayrıca, ufalanırlık ve parçalanma ölçülmektedir. Üretim seyri esnasında, tablet çekirdeği numuneleri periyodik aralıklarla alınarak tabletlerin hedeflenen tablet ağırlığını, kalınlığını ve sertliğini karşılamaya devam ettiğinden emin olunmaktadır. Üretim seyrinin başlangıcında, ortasında ve sonunda sertlik, kalınlık, ağırlık, ufalanırlık ve

- parçalanmaya yönelik ek testler yapılması için temsili tablet çekirdekleri alınmaktadır. Ortalama tablet çekirdeği ağırlığının, hedeflenen tablet çekirdeği ağırlığına göre $\pm\%5$ 'lik bir pay dahilinde bulunması gereklidir. Tablet çekirdeklerinin, numune tablet çekirdeklerinin, tablet çekirdeği israfının ve harman israfının sayısı karşılaştırılmakta ve hesap verebilirlik yüzdesi hesaplanmaktadır. Hesap verebilirlik yüzdesi $\%95$ 'ten az ve $\%103$ 'ten fazla olmamalıdır. Tablet çekirdeği üretim prosesinin şematik bir gösterimi aşağıda sunulmaktadır.

Tablet Çekirdeği Üretim Prosesinin Şematik Gösterimi



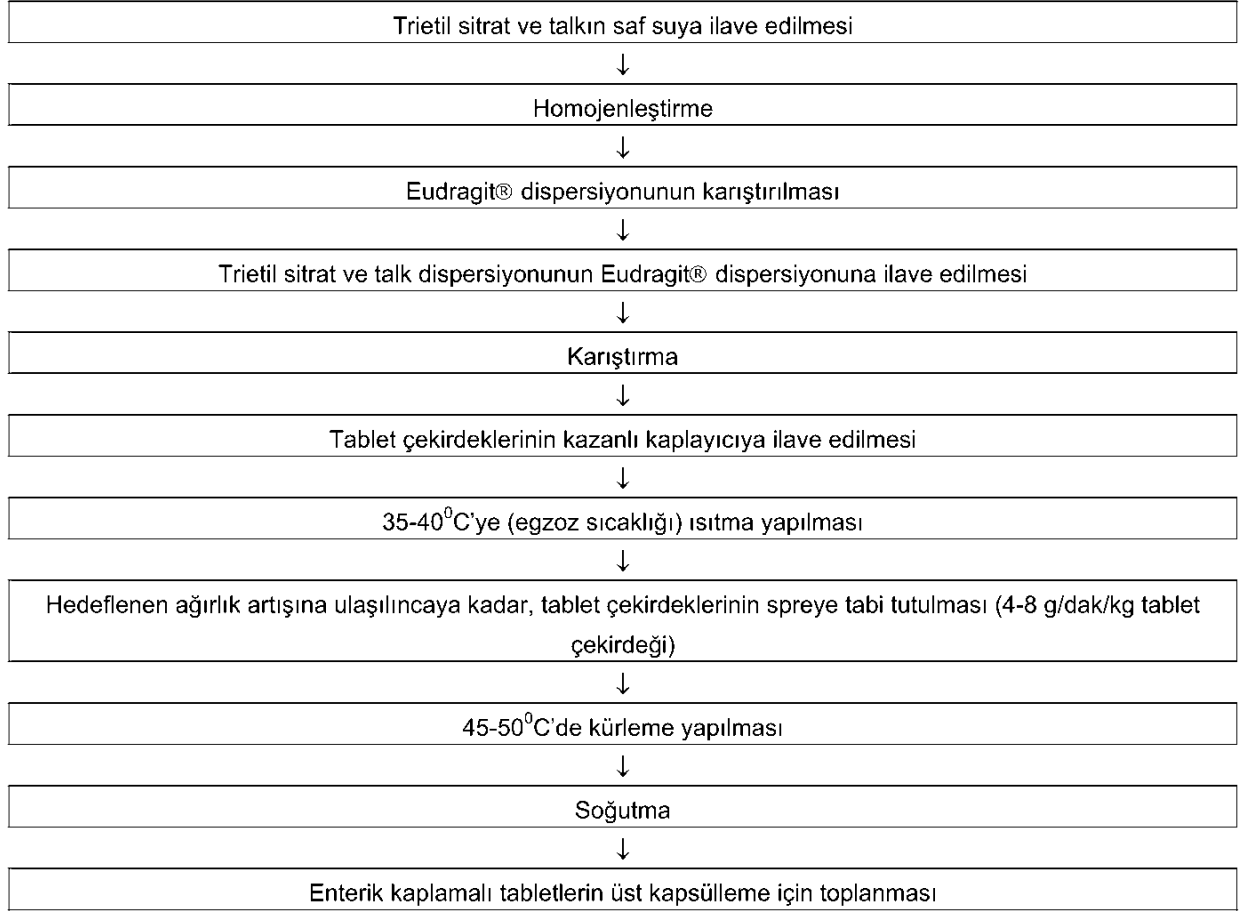
II. TABLET ÇEKİRDEĞİNİN KAPLANMASI

- 10 Eudragit®, trietil sitrat, talk ve saf su miktarı hesaplanmakta ve $\%10$ 'luk bir nominal tablet çekirdeği ağırlık artışı temel alınarak hazırlanmaktadır. Saf su yüksek parçalama etkili bir karıştırıcıyla donatılmış uygun bir kaba yüklenmektedir. Trietil sitrat ve talk kaba eklenmekte ve homojen hale gelinceye kadar karıştırılmaktadır. Pervaneli bir karıştırıcıyla donatılmış olan ayrı bir kaba Eudragit® dispersiyonu yüklenmekte ve karıştırılmaktadır. Trietil sitrat ve talk
- 15 dispersiyonu Eudragit® dispersiyonuna ilave edilmekte ve püskürtme prosesinin tamamı boyunca sürekli olarak karıştırılmaktadır. Kazanlı kaplayıcı makine parametreleri uygun şekilde ayarlanmakta ve hatlar kaplama dispersiyonuyla yüklenmektedir. Tablet çekirdekleri bir kaplama kazanına yüklenmekte ve kaplama kazanının yavaş bir biçimde hareket ettirilmesiyle birlikte 35 ila 40°C 'ye ısıtılmaktadır. Hedef sıcaklığa ulaşıncaya, tablet
- 20 çekirdeklerinin ortalama ağırlığı kaydedilmekte ve hedeflenen kaplamalı tablet ağırlığı hesaplanmaktadır. Daha sonra, tablet çekirdekleri püskürtülmeye tabi tutulmakta ve hedeflenen ağırlık artışı karşılanıncaya kadar ağırlıkları periyodik olarak kontrol edilmektedir. Hedeflenen sprej hızı (4 ila 8 g/dak/kg tablet çekirdeği), hedeflenen egzoz sıcaklığı (35 ila 40°C) ve giriş sıcaklığı sık aralıklarla takip edilmektedir. Tabletler 30 dakika süreyle 45 ila
- 25 50°C 'de kürlenmekte ve daha sonra soğutulmaktadır. Temsili enterik kaplamalı numuneler

test için alınmaktadır. Ortalama enterik kaplamalı tablet ağırlığının, hedeflenen enterik kaplamalı tablet ağırlığına göre $\pm\%5$ 'lik bir pay dahilinde bulunması gereklidir.

Enterik kaplamalı tabletlerin ve enterik kaplamalı tablet numunelerinin ağırlığı ve enterik kaplamalı tabletlerin teorik miktarı belirlenmekte ve hesap verebilir verim yüzdesi hesaplanmaktadır. Hesap verebilir verim yüzdesi, %95'ten az ve %103'ten fazla olmamalıdır. Tablet çekirdeği spreyle kaplama prosesi aşağıda gösterilmektedir.

Tablet Çekirdeği Spreyle Kaplama Prosesinin Şematik Gösterimi

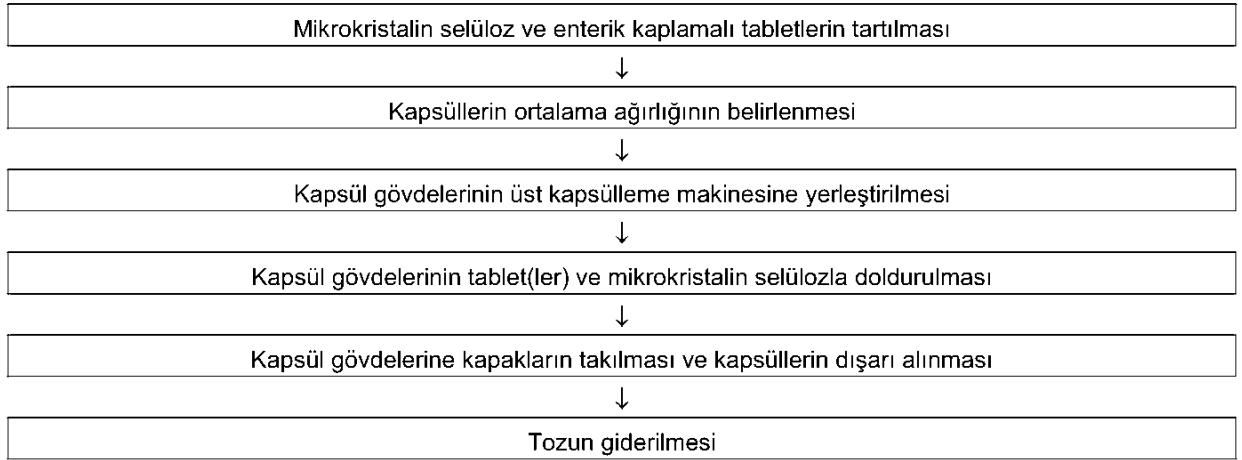


III. ÜST KAPSÜLLEMELİ ENTERİK KAPLAMALI TABLETLERİN ÜRETİMİ

- 10 Enterik kaplamalı tabletler ve mikrokristalin selüloz, her bir kapsül mukavemetine göre üst kapsülleme uygulanması için ayrı ayrı hazırlanmaktadır. Kapsüllenecek mikrokristalin selüloz miktarı, tam dozaj formuna (125 mg, 250 mg veya 500 mg) bağlı olarak 600 ila 800 mg'lık bir nominal kapsül ağırlığının elde edilmesi sağlanacak biçimde hesaplanmaktadır. Kapsüllerin ortalama ağırlığı, ortalama 100 kapsül temel alınarak hesaplanmaktadır. Kapsüller, 00
- 15 Boyutlu değiştirme parçalarıyla donatılmış ve tabletlere ve mikrokristalin selüloza ait uygun miktarı iletecek şekilde ayarlanmış olan yarı otomatik bir üst kapsülleme makinesi kullanılarak doldurulmaktadır. Hedeflenen brüt kapsül ağırlığının (kapsül kabuğu artı tabletler

ve mikrokristalin selüloz) elde edilmesi amacıyla tepsi dolum ağırlığının, tokmak üzerindeki dönüş sayısının ve tokmaktama eylemlerinin sayısının ayarlanması için üretim öncesi aşamalar gerçekleştirilmektedir. Her bir tepsi, kapsül gövdelerinin kapsül tepsisine yerleştirilmesi yoluyla hazırlanmaktadır. Her bir kapsül gövdesi, hedeflenmiş dolumun gerçekleştirilmesini sağlayacak hedeflenmiş tablet ve mikrokristalin selüloz miktarıyla doldurulmaktadır. Kapaklar gövdelerin üzerine yerleştirilmekte ve kapatılmaktadır. Kapsüller tepsiden alınmakta ve tozları giderilmektedir. Her bir tepsiden bir kapsül kompoziti toplanmakta ve proses içi ve salım testine yönelik olarak tartılmaktadır. Ortalama kapsül ağırlığı, hedeflenen kapsül ağırlığına göre $\pm\%5$ 'lik bir pay dahilindedir. Daha sonra proses, arzu edilen sayıda kapsül dolduruluncaya kadar tekrar edilmektedir. Hasarlı kapsüller, enterik kaplamalı tablet israfı ve mikrokristalin selüloz israfı mamul ürün karşılaştırmasına yönelik olarak toplanmaktadır. Mamul kapsüllere ait bir kompozit, salım testine gönderilmektedir. Mamul kapsüllerin, numune kapsüllerin, hasarlı kapsüllerin ve ilaç maddesi israfının sayısı karşılaştırılmakta ve hesap verebilirlik yüzdesi hesaplanmaktadır. Hesap verebilirlik yüzdesi %95'ten az ve %103'ten fazla olmamalıdır. Enterik kaplamalı tabletlerin üst kapsüllemesine ilişkin bir şematik gösterim aşağıda sunulmaktadır.

Enterik Kaplamalı Tabletlerin Üst Kapsüllemesinin Şematik Gösterimi



ÖRNEK 4: ENTERİK KAPLAMALI PROANTOSİYANİDİN POLİMER BİLEŞİMİNİN İSHALİN BASKIN OLDUĞU HASSAS BAĞIRSAK SENDROMUNDAN YAKINAN HASTALAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

4A. TEDAVİ

Çalışma, ishalin baskın olduğu hassas bağırsak sendromlu (d-IBS) deneklerde gerçekleştirilen 16 haftalık, çok merkezli, Faz 2, randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışma şeklinde olmuştur. IBS Tanısına Yönelik Roma II Kriterlerince desteklendiği biçimiyle d-IBS tanımını karşılayan iki yüz kırk altı (246) denek, şu dört gruba rastgele dağıtılmıştır:

Plasebo, 125 mg bid, 250 mg bid ve 500 mg bid. Çalışma tedavinin söz konusu olmadığı 2 haftalık bir tarama döneminden, 12 haftalık körleştirilmiş bir tedavi döneminden ve bunu izleyen, tedavinin söz konusu olmadığı 2 haftalık bir takip döneminden oluşmuştur.

2 haftalık tarama dönemi sırasında, denekler bir tuşlu telefon günlüğü vasıtasıyla d-IBS semptomlarının durumuna dair günlük bilgileri kendileri rapor etmiştir. Bunlara karın ağrısı ve karındaki rahatsızlık hissi, dışkı frekansı, dışkı kıvamı ve sıkıştırmaya dair bilgiler dahil olmuştur. Tarama döneminin sonunda deneğin dahil etme kriterlerini karşılamaya devam etmesi ve tarama dönemi sırasında günlükte toplanan bilgilerin deneklerin aktif d-IBS taşıdığını göstermesi durumunda [ortalama günlük dışkı frekansı ≥ 2 ; ağrı skoru ≥ 1 ; dışkı kıvamı ≥ 3 (ağrı ve kıvama yönelik 5 puanlı Lickert skalası)], denekler bilgisayar tarafından üretilen merkezi bir randomizasyon şemasına göre dört gruptan birine rastgele kaydedilmiştir.

12 haftalık çift kör tedavi dönemi sırasında, denekler verilen talimatlara uygun şekilde bir tuşlu telefon günlük sistemi vasıtasıyla günlük ve haftalık değerlendirmelerini kaydetmeyi sürdürmüştür. Denekler tedavi dönemi sırasında 4 haftada bir, çalışma değerlendirme vizitleri kapsamında görülmüş ve bu vizitler sırasında ek çalışma ilaçlarını almışlardır.

Tedavinin söz konusu olmadığı 2 haftalık takip dönemi sırasında, denekler günlük ve haftalık değerlendirmelerini kaydetmeyi sürdürmüştür.

Sonuçlar:

İlaçla ilişkili herhangi bir ciddi olumsuz olay söz konusu olmamıştır. Olumsuz olay oranları, Tablo 4'te gösterildiği gibi bütün doz gruplarında benzer olmuştur. Peklikte ilaçla veya dozla ilişkili herhangi bir farklılık söz konusu olmamıştır.

Tablo 4: Olumsuz Olayların (AE) Özeti¹

	Plasebo	125 mg bid	250 mg bid	500 mg bid
Grup başına denek sayısı	61	62	59	62
≥ 1 AE olan denek sayısı	14	12	15	15
GI (mide-bağırsak) AE'lerinin sayısı		10	10	10
GI Olayı				
Karında şişlik	0	1	0	1
Karın ağrısı	1	2	1	2
Karın hassasiyeti	0	0	1	0
Peklik	1	3	2	1
İshal	1	2	1	0
Ağız kuruluğu	0	0	0	2
Geğirme	0	0	0	1

Flatülans	1	1	3	1
Hematokezi	0	0	1	0
Basur	0	1	0	0
Bulantı	3	0	1	1
Sıkıştırma	0	0	0	1
Diğer AE'lerin sayısı	11	12	15	14
Diğer olaylar (> 1 AE/grup)				
Baş dönmesi	1	0	3	0
Baş ağrısı	2	2	1	3
Anksiyete	2	0	0	1
Uyuyamama	0	0	2	1
Cilt döküntüsü	1	2	0	0
¹ ilişkili olması olası, muhtemel veya kuvvetle muhtemel.				

Genel olarak, Tablo 5'te gösterildiği gibi krofelemer 125 mg bid, kadınlardaki en etkili uç noktaları arasında tutarlı bir yanıtı sergilemiştir. Erkeklerde çok az etki gözükümüştür, ancak grup büyüklüğü ayrıca analiz edilemeyecek kadar küçük olmuştur (13-16/grup). Krofelemer herhangi bir peklik durumu üretmediği için, dışkı kıvamı skorları normale yaklaşmış ve plasebo skorlarından farklı olmamıştır. Diğer bütün uç noktalarında (sıklık, sıkıştırma, yeterli rahatlama ve ağrı), birbirini izleyen her ay aktivitede bir iyileşme söz konusu olmuş ve tedavinin söz konusu olmadığı 2 haftalık takip dönemi sırasında, semptomlar beklendiği gibi başlangıçtaki düzeylere yaklaştırmaya başlamıştır. Krofelemer 500 mg bid de ağrı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olmuştur (ağrı skorunda 0.48 azalma; ağrısız gün sayısında %22.44 artış). Bu çalışmada kullanılan d-IBS popülasyonunu temsil etmeyen ve bu özetle sunulan bütün analizlerin dışında bırakılan 5 tane kadın hastalık aykırı durumu söz konusu olmuştur (bu denekler başlangıçta >9 dışkı/gün şeklindeki sıklığa ve bütün randomize kadın deneklerin ortalama dışkı sıklığına göre >3 standart sapmaya sahip olmuştur).

Tablo 6'da gösterildiği gibi, 250 mg ve 500 mg bid şeklindeki dozlardaki krofelemer, plasebo grubuna kıyasla sıklık ve kıvam üzerinde daha az bir etkiye sahip olmuştur. Krofelemer 500 mg bid ile tedavi edilen denekler dışkı sıklığında plaseboya kıyasla, günde yarım dışkıdan fazla bir ortalama artışa sahip olmuş, burada ortalama dışkı kıvamı plaseboya kıyasla 0.22 puan daha yüksek olmuştur (gevşek kıvama daha yakın).

Tablo 5: Krofelemer 125 mg bid'nin Kadınlardaki Etkisi

Uç Noktası (Plaseboda İtibaren Δ)	Sonuçlar ¹
Kıvam skoru	-0.03
Sıklık (dışkı/gün)	-0.7
Sıkıştırmanın mevcut olmadığı günler	%11.2

Ağrı skoru	-0.42
Ağrısız günler	%12.76*
Yeterli rahatlama	%16
¹ Ay 3 sonuçları; hastalık aykırı durumlarının (ortalama başlangıç sıklığı >9 dışkı/gün) bütün grupların dışında bırakıldığı gözlenmiş vaka analizi. * p<0.05'te istatistiksel olarak anlamlı.	

Tablo 6: Krofelemer 250 ve 500 mg bid'nin Dışkı Kıvamı ve Sıklığı Üzerindeki Etkileri

Uç Noktası (Plaseboda İtibaren Δ)	250 mg bid ¹	500 mg bid ¹
Kıvam skoru	0.19	0.22
Sıklık (dışkı/gün)	0.24	0.60
¹ Ay 3 sonuçları; hastalık aykırı durumlarının (ortalama başlangıç sıklığı >9 dışkı/gün) bütün grupların dışında bırakıldığı gözlenmiş vaka analizi.		

Şekil 4'te görüldüğü gibi, krofelemer 125 mg bid ile tedavi edilen kadın denekler, dışkı sıklığında klinik açıdan anlamlı bir azalmaya sahip olmuştur. Krofelemerin kullanılması, günde bir bağırsak hareketinden fazla bir azalmaya yol açmıştır. Dışkı sıklığındaki aydan aya iyileşme, değerlerin başlangıçtaki duruma yaklaşılmaya başlamasıyla birlikte ikinci ayda azalan plasebo etkisinin aksine bir durumu ortaya koymuştur. Tedavinin söz konusu olmadığı dönem üçüncü ayın sonunda başladığı zaman, denekler krofelemer almayı bırakmış ve etki beklendiği gibi kaybolmaya başlamıştır.

Şekil 5'te görüldüğü gibi, krofelemer sıkıştırmanın mevcut olmadığı günlerde bir artışı üretmiştir. 3. Ayda, plasebo grubunda gözlenen sıkıştırmanın mevcut olmadığı günlerde söz konusu %23.9'luk artışa karşı, krofelemer grubunda sıkıştırmanın mevcut olmadığı günlerde %35.1'lik bir artış söz konusu olmuştur. Yaygın olarak görüldüğü gibi, aydan aya bir iyileşme söz konusu olmuştur. Plasebo etkisi ikinci ayda en yüksek düzeyine ulaşmış ve değerlerin başlangıç düzeyine yaklaşılmaya başlamasıyla birlikte keskin bir azalma göstermiştir. Tedavinin söz konusu olmadığı dönem üçüncü ayın sonunda başladığı zaman, denekler krofelemer almayı bırakmış ve etki beklendiği gibi kaybolmaya başlamıştır.

Şekil 6'da görüldüğü gibi, krofelemer uygulaması d-IBS semptomlarında yeterli rahatlama rapor eden deneklerin yüzdesinde bir artışı üretmiştir. d-IBS semptomlara ait bir gruptan oluştuğu için, yeterli rahatlama uç noktası, tedavinin d-IBS semptomlarının çözümüne yönelmedeki başarısı konusunda hastaların yaptığı genel bir değerlendirme şeklindedir. 125 mg bid dozundaki krofelemer, d-IBS semptomlarında yeterli rahatlama konusunda plasebo grubuna kıyasla %16'luk bir artışa neden olmuştur. Gözlenen analize göre, krofelemer aktivitesinde aydan aya bir iyileşme söz konusu olmuş, yani hastanın krofelemeri alma süresi ne kadar uzun olursa, semptomlarda da daha büyük bir rahatlama söz konusu olmuştur.

Diğer uç noktalarında daha önce görüldüğü gibi, plasebo etkisi ikinci ayda en yüksek seviyesine ulaşmış ve ardından azalmıştır.

İshalin baskın olduğu IBS, ağrının bağırsak alışkanlıklarındaki değişikliklerle yakın ilişkisi anlamında, birçok işlevsel bağırsak hastalığına göre farklılık göstermektedir. IBS Tanısına Yönelik Roma II Kriterleriyle tanımlandığı üzere, ağrı anormal bağırsak alışkanlıklarıyla ilişkili olmalı ve bağırsak alışkanlıklarındaki iyileşme ağrıdaki iyileşmeyle ilişkili olmalıdır. Bu çalışmada buluş sahipleri, 0'ın ağrı bulunmaması durumuna ve 5'in şiddetli ağrıya karşılık geldiği 5 puanlı bir skalayla ağrı skorunu ve ağrısız günlerin varlığını ölçmüştür. Şekil 4 ve Şekil 5'te gösterildiği gibi, krofelemerle (125 ve 500 mg bid) tedavi edilen kadın denekler, hem ağrı skorunda hem de ağrısız günlerde klinik ve istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0.05$) azalmalar göstermiştir. Etki, Şekil 6'da gösterilen haftalık ağrı skoru sonuçlarında gözlendiği üzere oldukça tutarlıdır. Ağrının hafiflemesi üzerindeki bu etki beklenmedik ve şaşırtıcı bir durum olmuştur.

Sonuç olarak, 125 mg bid dozundaki krofelemer güvenli olmuş ve uygulanması kadınlarda ağrı, yeterli rahatlama, sıklık ve sıkıştırma etki uç noktalarında iyileşmeyle sonuçlanmıştır. 250 ve 500 mg bid dozundaki krofelemer güvenli olmuş ve plaseboyla kıyaslandığında, ishalle ilişkili kıvam ve sıklık semptomlarını kötüleştirir gözükümüştür. 125 ve 500 mg bid dozundaki krofelemer, d-IBS'li kadın deneklerde hem ağrı skorunda hem de ağrısız günlerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmayı üretmiştir.

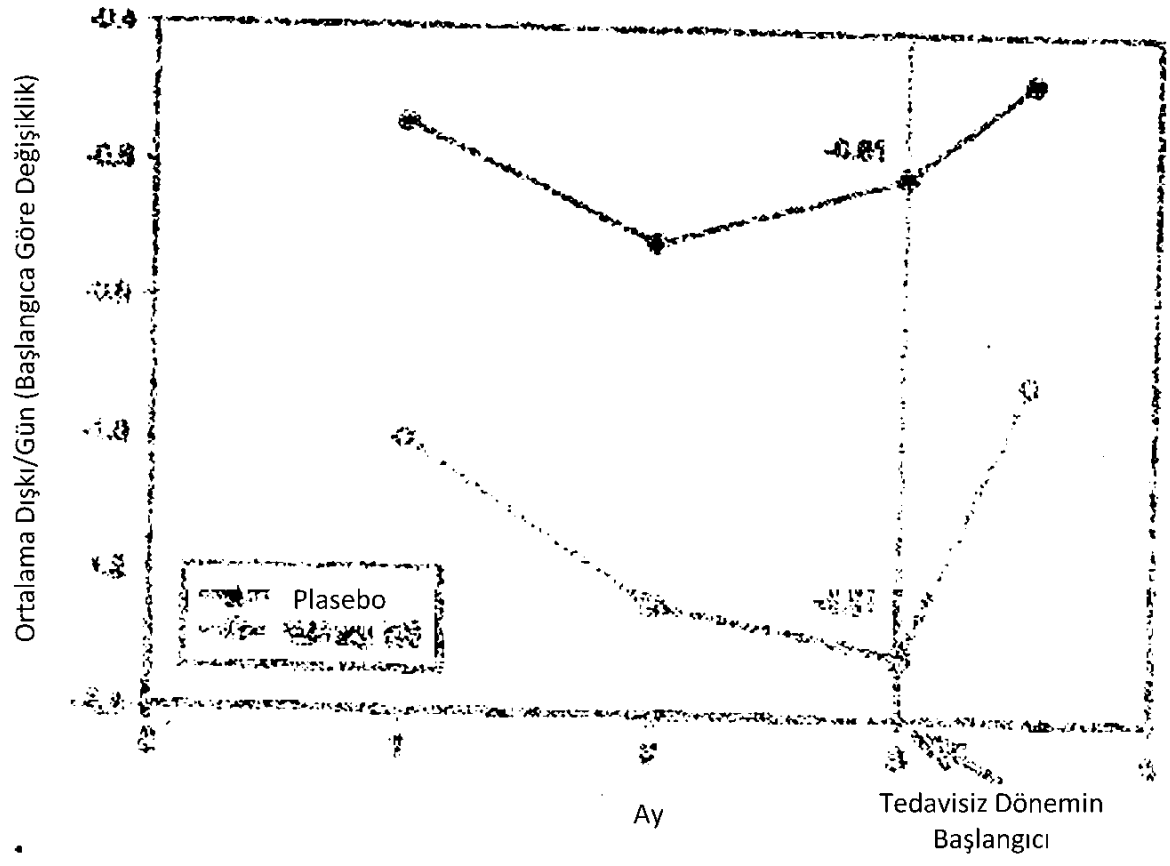
ÖRNEK 5: KROFELEMER ETKİ MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI

Krofelemerin etki mekanizmasının daha etraflıca araştırılması amacıyla, 10 ve 100 $\mu\text{g/mL}$ oranındaki krofelemer, hücresel sitokin salımı deneylerine (IL-1 α ; TNF- α 'nın neden olduğu ve IL-1'in neden olduğu PGE2 salımı; IFN- γ ; IL-2, IL-4; IL-5; IL-6; IL-8; IL-10 ve TNF- α) ve moleküler deneylere (COX-1 ve COX-2 enzim deneyleri ve glukokortikoid, serotonin 5HT3, δ -opioid, κ -opioid, μ -opioid ve seçici olmayan opioid reseptörü bağlanma deneyleri) ilişkin seçilmiş bir panelde değerlendirilmiştir. Krofelemer ayrıca, ConA'nın ve LPS'nin neden olduğu sitokin salımı deneylerine karşılık gelen ve ayrıca TNF- α 'nın ve IL-1'in neden olduğu PGE salımı deneylerine karşılık gelen sitotoksik deneylerinde test edilmiştir.

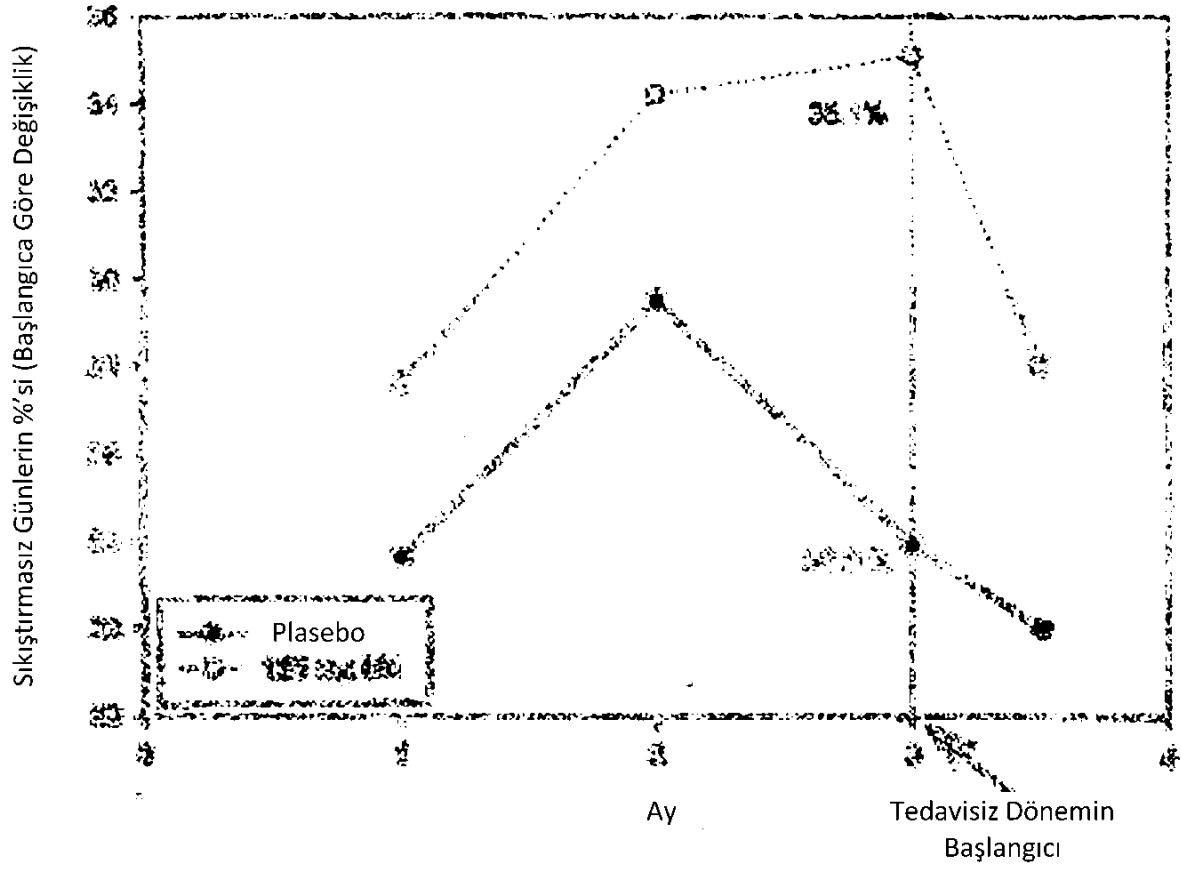
Krofelemer IFN- γ ; IL-2, IL-4; IL-6; IL-8; IL-10 ve TNF- α sitokin salımı deneylerinde ve ayrıca TNF- α 'nın neden olduğu ve IL-1'in neden olduğu PGE2 salımı deneylerinde (yani IL-5 dışındaki bütün sitokin salımı deneylerinde) 10 ve 100 $\mu\text{g/mL}$ 'lik oranlarda anlamlı ($>50\%$) bir inhibisyon sergilemiştir. Krofelemer ayrıca ConA'nın ve IL-1'in neden olduğu PGE2 sitotoksik deneylerinde anlamlı sitotoksik aktivite sergilemiş olup bu durum, ConA'nın arabuluculuk ettiği sitokin salımı deneylerindeki (IFN- γ , IL-2, IL-4 ve IL-10) ve IL-1'in neden

olduğu PGE2 salımı deneyindeki durumun genel sitotoksisiteden kaynaklanıyor olabileceğini düşündürmektedir.

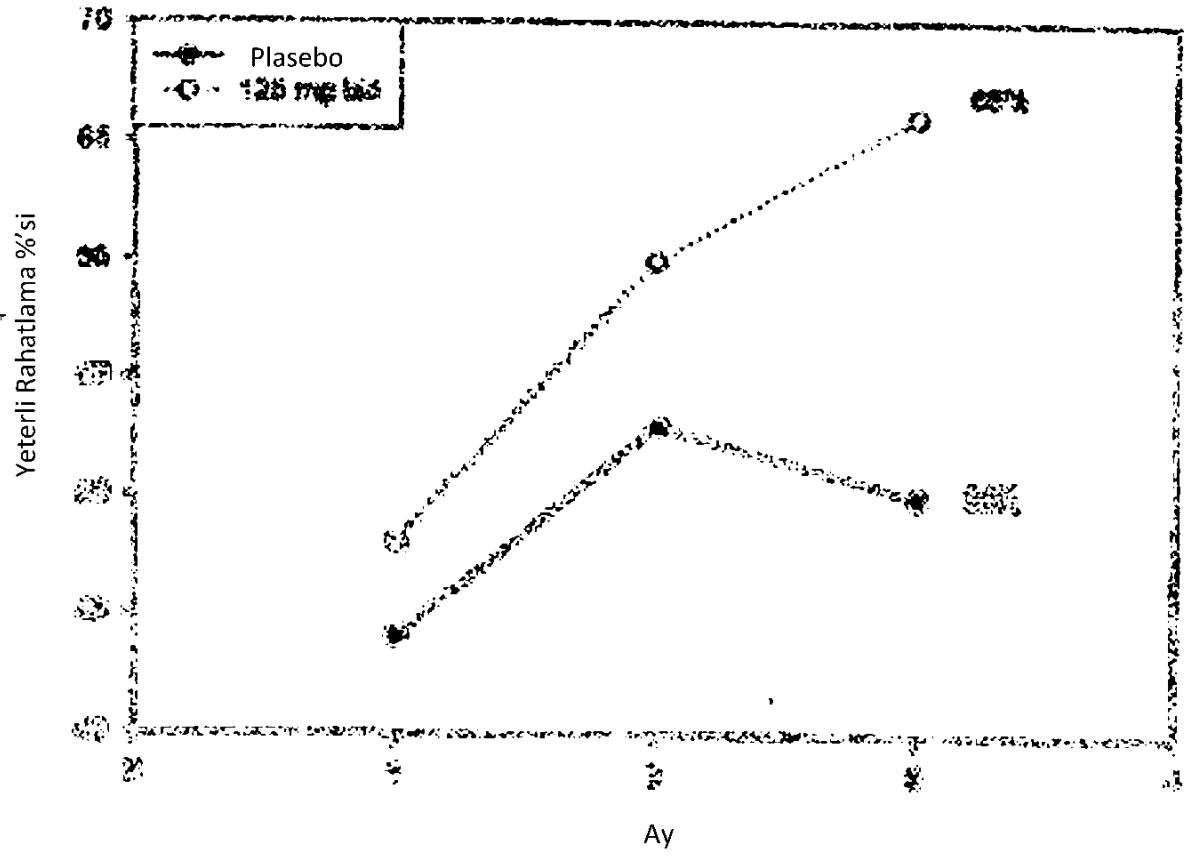
Ayrıca, krofelemer hem 10 hem de 100 µg/mL'lik oranda, COX1 ve COX2 enzim deneylerinde sırasıyla %73 ve %100'lük bir inhibisyona neden olmuştur.



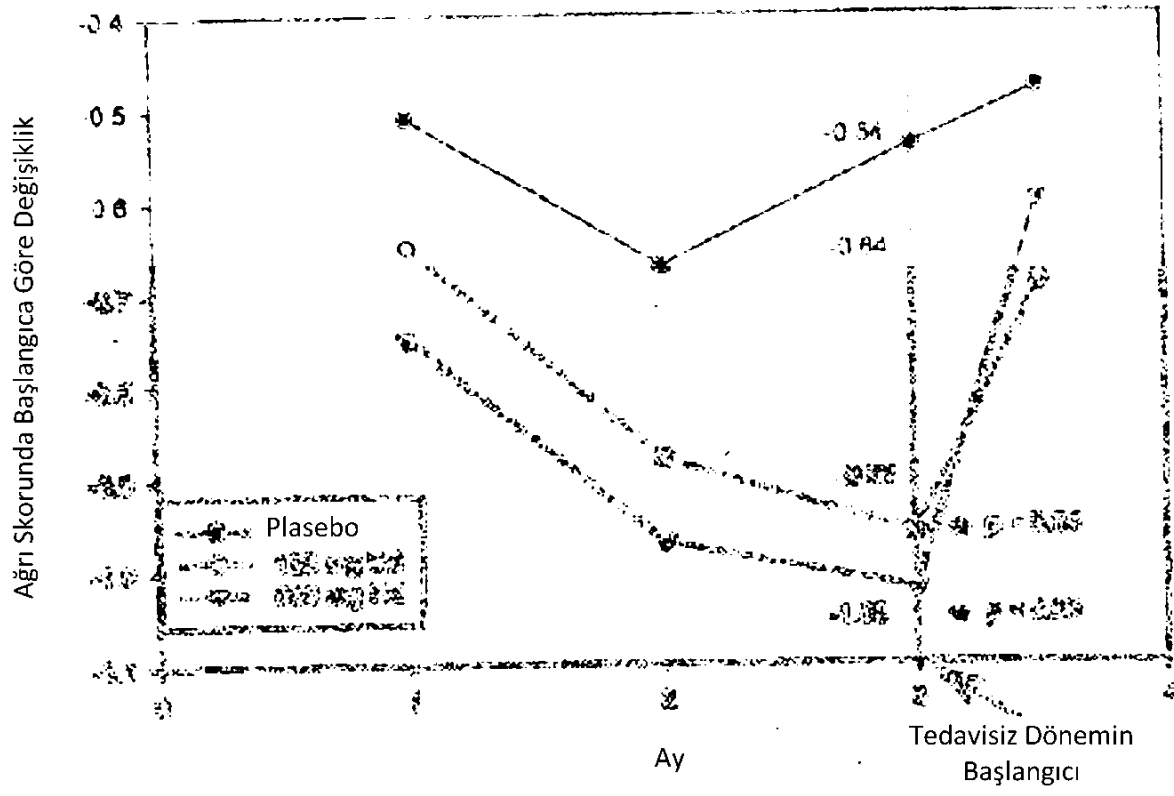
ŞEKİL 1



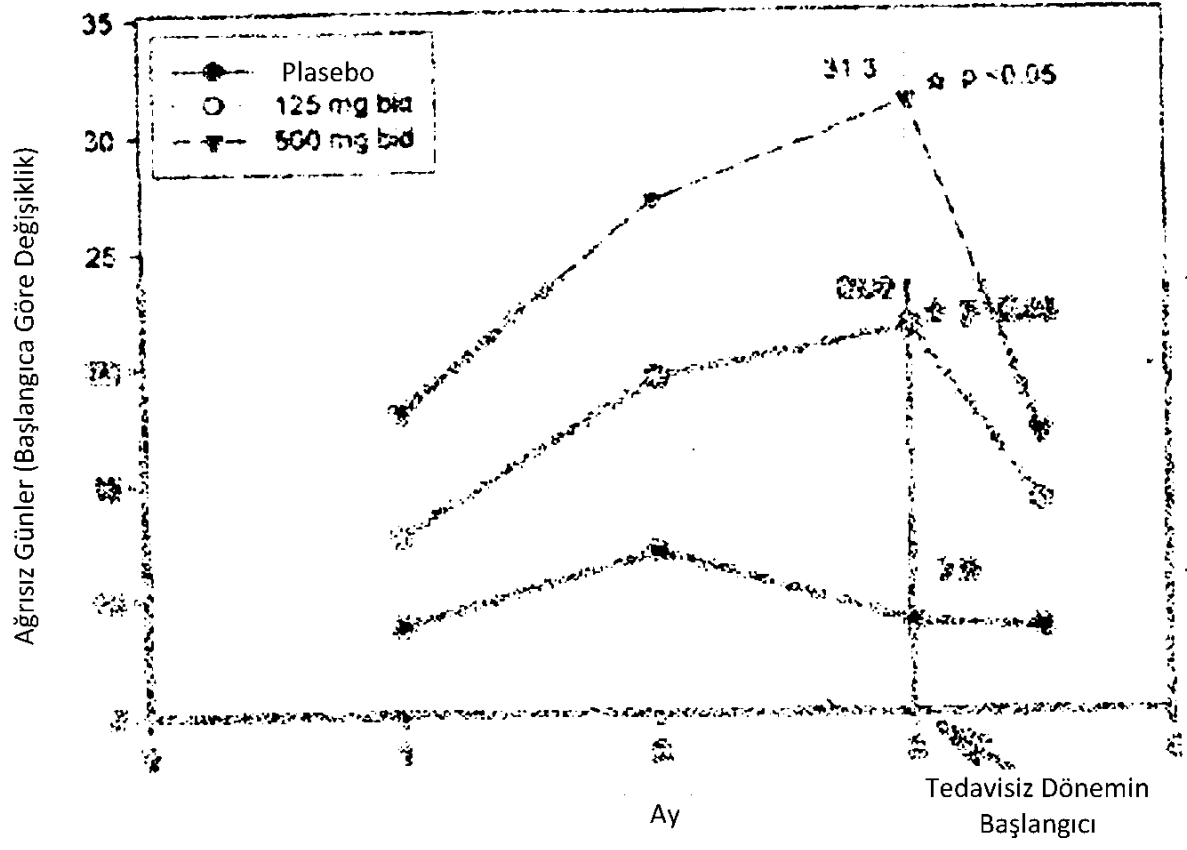
ŞEKİL 2



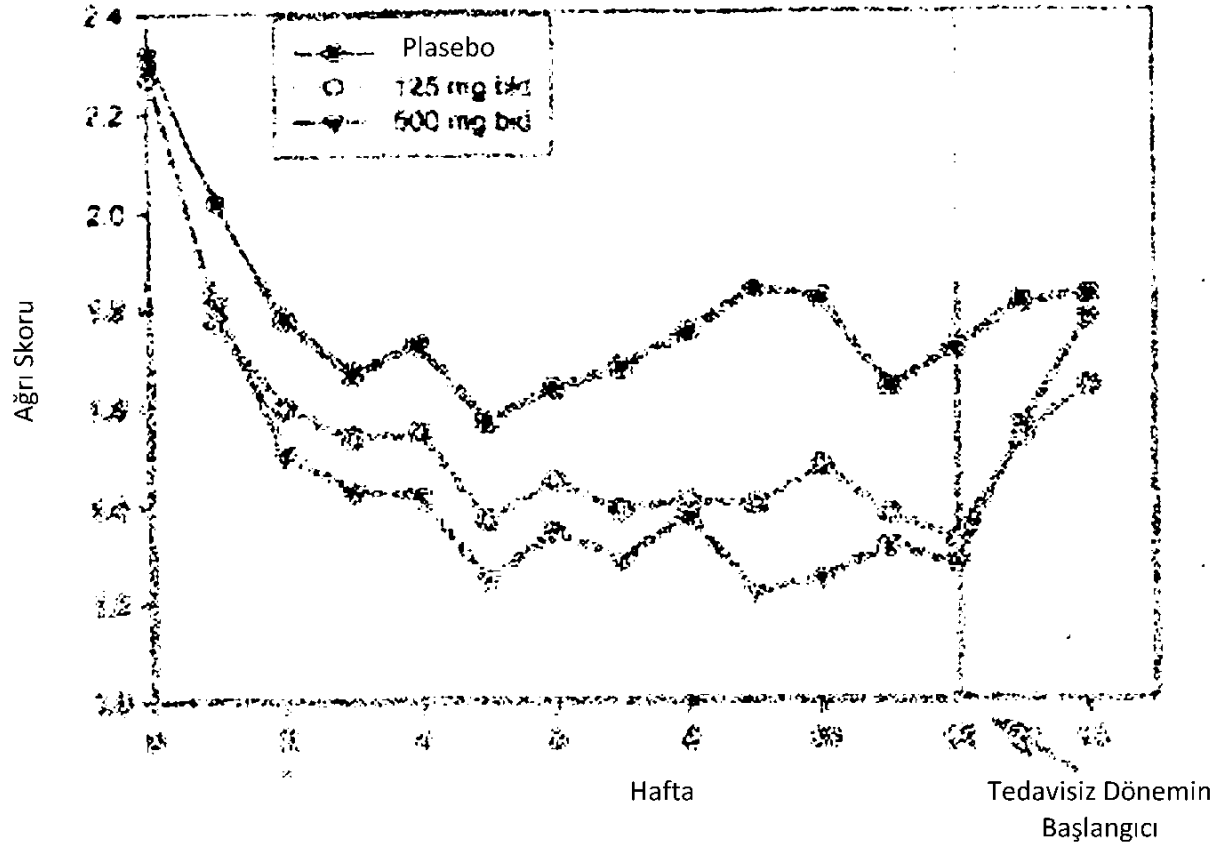
ŞEKİL 3



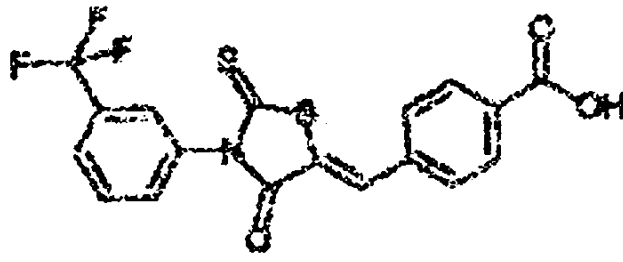
ŞEKİL 4



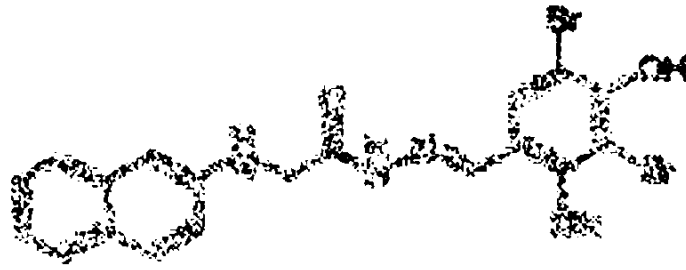
ŞEKİL 5



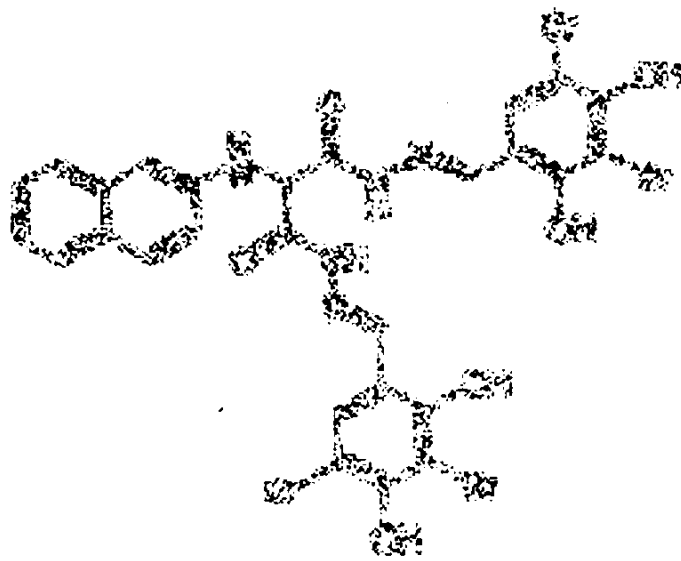
ŞEKİL 6



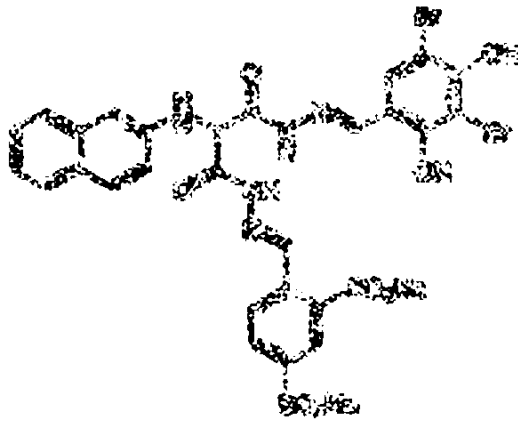
Şekil 7A



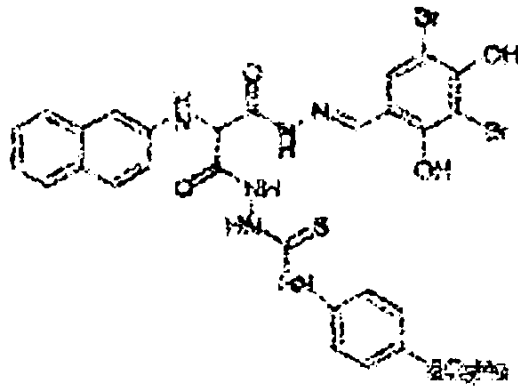
Şekil 7B



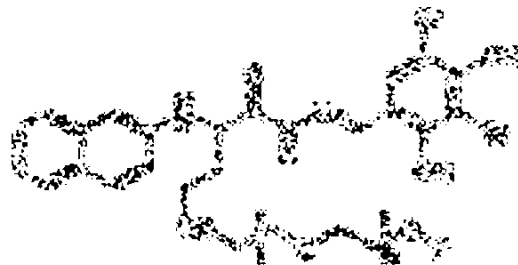
Şekil 7C



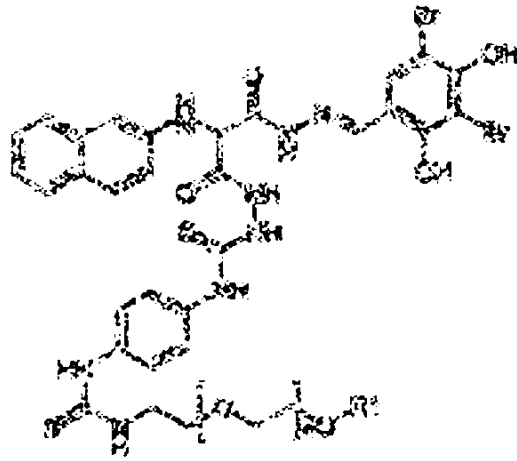
Şekil 7D



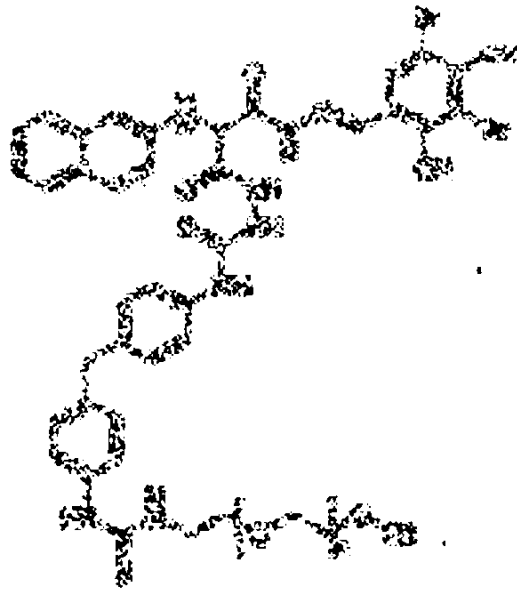
Şekil 7E



Şekil 7F



Şekil 7G



Şekil 7H