

ÖZET
İNHALASYON İÇİN YÖNTEM VE FORMÜLASYON

5 Bu buluş ilaç aktarımıyla ve özellikle inhalasyon için kuru tozlar formunda biyolojik olarak aktif ajanların aktarılmasıyla ilgilidir. Buluş ayrıca, bu tip kuru toz formülasyonlarının hazırlanması için yöntemlerle ve bunların kullanılması için yöntemlerle de ilgilidir.

İSTEMLER

1. Doğum sonrası kanamanın tedavisinde veya engellenmesinde kullanım için bir solunabilir kuru toz olup, burada kuru toz, oksitosin veya karbetosin içeren püskürtülerek kurutulmuş partiküller, bir ya da daha fazla mono-, di- veya polisakkarit ve/veya amino asit ve L-lösin içeren bir amorf camsı anayapı içerir.
5
2. İstem 1'e göre kullanım için bir solunabilir kuru toz olup, burada solunabilir kuru toz nazal veriliş içindir.
10
3. İstem 1'e göre kullanım için bir solunabilir kuru toz olup, burada solunabilir kuru toz ağız yoluyla pulmoner sistemin içine soluma içindir.
4. İstemler 1 ila 3'ten herhangi birine göre kullanım için bir solunabilir kuru toz olup, burada L-lösinin en azından bir kısmı, kuru tozun partiküllerinin yüzeyinde yer alır.
15
5. İstemler 1 ila 4'ten herhangi birine göre kullanım için bir solunabilir kuru toz olup, burada kuru tozun partiküllerin %40'ından fazlası soluma üzerine 5 µm'den küçük bir aerodinamik çapa sahiptir.
20
6. İstemler 1 ila 5'ten herhangi birine göre kullanım için bir solunabilir kuru toz olup, burada solunabilir kuru toz aşağıdakileri içeren bir işlemlle hazırlanır:
oksitosin veya karbetosin, bir amorf camsı anayapı oluşturma kapasitesine sahip bir ya da daha fazla mono-, di- veya polisakkarit ve/veya amino asit ve L-lösin içeren bir sulu solüsyonun/süspansiyonun hazırlanması; ve
25 solunabilir kuru tozun üretilmesi için sulu solüsyonun/süspansiyonun püskürtülerek kurutulması.
7. İstem 6'ya göre kullanım için bir solunabilir kuru toz olup burada L-lösin, tozun kuru ağırlığına dayalı olarak ağırlıkça %5 ila 50 arasında bir miktarda mevcuttur.
30
8. İstem 7'ye göre kullanım için bir solunabilir kuru toz olup burada L-lösin ağırlıkça %10 ila 40 arasında bir miktarda mevcuttur.

9. İstemler 1 ila 8'den herhangi birine göre kullanım için bir solunabilir kuru toz olup burada bir amorf camsı anayapı oluşturma kapasitesine sahip bir ya da daha fazla mono-, di- veya polisakkarit ve/veya amino asit D-mannitol ve glisin içerir.
- 5 10. İstemler 6 ila 9'dan herhangi birine kullanım için bir solunabilir kuru toz olup burada püskürtmeli kurutma 80°C'nin altında bir sıcaklıkta gerçekleştirilir.
11. İstemler 1 ila 10'dan herhangi birine kullanım için bir solunabilir kuru toz olup burada amorf camsı anayapı trehaloz içerir.
- 10 12. İstemler 1 ila 10'dan herhangi birine kullanım için bir solunabilir kuru toz olup burada kuru tozun solunmasının ardından eylemin başlaması, rahim kasılmasıyla ölçüldüğü üzere, solumanın 200 saniyesi içerisinde elde edilir.
- 15 13. İstem 12'ye göre kullanım için bir solunabilir kuru toz olup burada eylemin başlaması solumanın 150 saniyesi içerisinde elde edilir.
14. İstem 12'ye göre kullanım için bir solunabilir kuru toz olup burada eylemin başlaması solumanın 100 saniyesi içerisinde elde edilir.
- 20 15. İstemler 1 ila 14'ten herhangi birine göre bir solunabilir kuru toz olup burada söz konusu solunabilir kuru toz ayrıca bir ya da daha fazla farmakolojik olarak kabul edilen ve pulmoner olarak kabul edilen bileşen, tercihen oksitosin bileşeni için bir stabilizör dahil olmak üzere bir pulmoner olarak kabul edilen taşıyıcı içerir.

TARİFNAME

İNHALASYON İÇİN YÖNTEM VE FORMÜLASYON

5 Bu buluş, inhalasyon için ilaç aktarımıyla ve özellikle kuru tozlar formunda oksitosin veya karbetosinin aktarılmasıyla ilgilidir. Buluş ayrıca, bunların kullanımı için yöntemlerle de ilgilidir.

10 Her sene, çoğunlukla gelişmekte olan ülkelerde 150.000'den fazla kadın doğum sonrası kanama nedeniyle ölmektedir. Bu durum, doğumun üçüncü aşamasında oksitosin gibi uterotonik ilaçların verilmesiyle büyük ölçüde engellenebilir. Dünya Sağlık Örgütü oksitosini, doğum sonrası kanamanın tedavisinde en etkili terapi olarak onaylamaktadır. Oksitosinin gelişmekte olan ülkelerdeki kullanımı çeşitli güçlükler ortaya koymaktadır. Oksitosin, solüsyonda nispeten zayıf stabilizeye sahip bir peptittir. Örneğin 2-8°C'de soğuk depolama gerektirmektedir ve bu da gelişmekte olan ülkelerde sorunludur. Oksitosin kullanımıyla ilgili ek bir etmen, verilmiş için sterilize iğneler ve 15 şiringalarla eğitimli personel gerektirmesidir ve bu da gelişmekte olan uluslarda garanti edilemeyen bir başka gerekliliktir. Dolayısıyla, çözülmesi gereken bir sorun, DSK nedeniyle çocuk doğurmadaki ölümleri engellemek amacıyla gelişmekte olan ülkelerde uygun kullanım için oksitosinin etkili ve pahalı olmayan aktarımı için bir sistem 20 geliştirmektir. Bu sorunun olası bir çözümü, gelişmekte olan ülkelerin ücra ve çevresel açıdan ilgi isteyen bölgelerinde kullanım için uygun olan oksitosinin veya diğer biyolojik olarak aktif peptitleri veya proteinlerin etkili ve ekonomik verilmesi için uygun bir kuru toz pulmoner aktarım sistemi yaratmak olabilir.

25 Pulmoner aktarım, peptitler, proteinler, aşılarda ve nükleik asit tabanlı ajanlar gibi biyolojik maddeler için uygun bir sistemik yol olarak önerilmiştir. Bu tip büyük makromoleküllerin aktarılmasındaki güçlükler önemlidir ve başarı ihtimaliyle ilgili olarak geniş ve önemli bir belirsizlik ve riskle sonuçlanır. Güçlükler, etkili ve tutarlı derin akciğer aktarımı için uygun olan bir dozda bir aerosol üretilmesiyle başlar. Bu tip uygun aktarım elde 30 edilebilirse, materyal çözündürülmelidir veya biyolojik membranlar ve sürfaktan ve mukozal arayüzler gibi diğer bariyerler üzerinden geçebilen bir form haline getirilmelidir. O'Donnel ve Smythe tarafından, Springer tarafından 2011'de yayınlanan 978-1-4419-9744-9 ISBN numaralı "Controlled Pulmonary Drug Delivery" yayınında ana hatları belirlendiği üzere, çözünme kinetikleri çözünürleşmenin derecesini belirleyecektir ve 35 bunun hidrofob formülasyonlar tarafından engellenmesi ve dolayısıyla materyalin

sistemik olarak alınmasından önce pulmoner klirens zaman eksenlerine maruz kalması beklenebilir. Bir makromolekül sistemik dolaşım içine taşınabilmeden önce, mukosilyer eskalatörden, peptidazlardan ve makrofajlardan gelenler dahil olmak üzere vücut savunma mekanizmalarından gelen bir saldırıdan sağ çıkmalıdır. Bu güçlükler, Springer tarafından 2011’de yayınlanan 978-1-4419-9744-9 ISBN numaralı “Controlled Pulmonary Drug Delivery” isimli güncel uzman yazısında net bir şekilde incelenmiş ve özetlenmiştir. Örneğin, Olsson et al tarafından, “peptitlerin ve proteinlerin sistemik hedefleri için güçlük, emilimi, yeterli biyoyararlanımı emniyete almak amacıyla klirens mekanizmalarının hızına göre rekabetçi bir hızda elde etmek gibi görünmekte” ve “her bir belirli vakadaki optimal karakteristikleri oluşturanlar ve bunların özetlenmiş özelliklerden nasıl öngörülebileceği, mevcut anlayışımı doğrultusunda net olmaktan çok uzaktır” sonucuna ulaşılmıştır. Pulmoner aktarım için eylemin, birincil olarak hidrofil olan seçili küçük moleküllerin oral aktarımına göre, 781Da’dan az gibi hızlı başlaması önerilmiştir. Ancak, tipik olarak 1000 Da ve üstü seviyesinde moleküler ağırlığa sahip peptitler ve proteinler gibi makromoleküller için, eylemin başlaması oldukça belirsizdir ve büyük olasılıkla hücreler arası difüzyon mekanizmaları için bir ihtiyaç tarafından engellenmektedir. Akciğer epitelyumunun bu tip membranlar vasıtasıyla kan içine uzaklaştırılması için yarı ömür oldukça değişken ve belirsizdir, ama Sakagami ve Gumbleton tarafından yazılan Springer tarafından yayınlanan 2011 tarihli 978-1-4419-9744-9 ISBN numaralı “Controlled Pulmonary Drug Delivery” yayınında özetlendiği üzere tipik olarak çok dakika ve hatta yüzlerce dakikanın üzerinde bir süre gerektiriyor gibi görünmektedir. Dolayısıyla, pulmoner aktarılan bir makromolekülden, 1000Da ve daha büyük seviyede bir peptit için bir ya da iki dakika seviyesinde bariz olarak hızlı bir farmakokinetik alım ve farmakodinamik başlama varsayılmayabilir ancak şaşırtıcı olacaktır. Özellikle, pulmoner aktarım sisteminin çözünme gerektiren bir toz içermesi ve hatta o partikülün hidrofob bir yüzeye sahip olması şaşırtıcı olacaktır.

Bu bağlamda ilave güçlükler, üretim, depolama ve nakliye ve kullanım esnasında muhafaza edilen fiziksel ve kimyasal olarak stabil bir üretmek dahildir. Ayrıca, ajanların bronkokonstriksiyona neden olmaması da önemlidir. Rahim kasılmalarına neden olan oksitosin gibi bir peptit, pulmoner sistemde mevcut olan reseptörlerle etkileşebilir ve dolayısıyla bronkokonstriksiyona neden olabilir. Ayrıca, ajanların akciğerde metabolize edilmemesi de önemlidir. Bu birden fazla ve çok önemli güçlüklerin üstesinden gelinebilirse, pulmoner aktarım, iğnelerin kullanılmasının önlenmesi, oral yol üzerinden

ilk geçiş metabolizmasının önlenmesi ve toz haline getirilen formülasyonların sunduğu ekstra stabilite dahil olmak üzere benzersiz avantajlar sağlayabilir.

5 Gıda, deterjan ve endüstriyel kimyasallar gibi alanlarda toz haline getirilmiş ürünler üretmek için püskürtmeli kurutma uzun senelerdir yaygın olarak kullanılmaktadır. Birçok durumda, nispeten büyük ve serbest-akışlı partiküller üretilmektedir. Daha az oran, teknik ince ve ultra-ince partiküller oluşturmak için uyarlanmış ve bu alandaki yeniliğe teknik seramiklerin üreticileri gibi inorganik materyal endüstrileri yol açmıştır (T.T. Kudas, Adv. Mater., 1989, 6, 180). Bir aerosol üretmek için sıklıkla kompleks solüsyonlardan damlacıkların oluşturulması ve daha sonra bunların partiküller şeklinde 10 izole birimler olarak kurutulması yaklaşımı, partikül morfolojisi, stokiyometri, saflık, boyut ve ayrıca yapı üzerinde geliştirilmiş kontrol sağlıyor olarak tanınmıştır. Avantajlar, partikül mühendisliğinin “tepeden-aşağı” ve “aşağıdan-yukarı” yaklaşımları arasında bir melez olarak görülebilir. Ancak, farmasötik sanayii ince partiküllerin işlenmesi için bu 15 yolun avantajlarını nispeten çok daha yeni tanımıştır (R. Vehrig, Pharm Res., 2008, 25(5), 999) ve son dönemlerde püskürtülerek-kurutulmuş materyaller piyasada bulunan kuru toz inhaler sistemlerinde ortaya çıkmıştır. Bu alanda şeklin, yoğunluğun ve pürüzlülüğün aerosolleştirme üzerinde etkisine çok dikkat gösterilmiştir.

20 Ancak, terapötik bir etki sağlamak için solunum yolunun içine ve hatta alt akciğerin içine ilaç moleküllerinin, özellikle veriliş sıcaklığında katı olan ilaçların aktarılması bir güçlüktür. Bu açıdan, kuru tozlar ilaç aktarımının cazip bir aracını sunarken, oldukça etkili aerosolleştirme için uygun mikronize partiküller oluşturmak oldukça kayda değer bir teknik güçlük olmaya devam etmektedir.

25

İnhalasyon üzerine, daha büyük aerosolleştirilmiş ilaç partikülleri, mide bağırsak yolunun ve müteakip metabolizmanın içine mukosilyer klirensle yatkın oldukları boğazın arkasında ve üst solunum yolunda sıkışma ve yerçekimsel sedimantasyon tarafından birikmeye eğilimlidir. Ayrıca, daha büyük ilaç partikülleri, bronşçukların 30 daralması nedeniyle alt akciğerin içinde derine ilerleyemez. Etkili lokal aerosol taşıması ve soluk borusu, bronşlar ve alveoller dahil olmak üzere solunum yoluna aktarım için, 5 µm'lik aerodinamik çaptan daha küçük partiküller tercih edilirken, derin akciğer, bronşçuklar ve alveoller için – özellikle sistemik alım için – 3 µm'den daha küçük partiküllerin tercih edildiğine inanılmaktadır.

35

İnhalasyon aktarımı arzu edilen bir araçken, buna kayda değer bir teknolojik engel, bir cihaz ve bir formülasyon içeren pratik ve maliyet etkin bir formatta oldukça etkili aktarım (örn., tedavi alanına >%50 doz aktarımı), tekrarlanabilir aktarım (örn., doz aktarımının <%10 bir varyasyon katsayısına (%CV) sahip olmak) ve yüksek taşıma kapasitesi (örn., tedavi alanına >%50 doz aktarımı) için uygun bir aerosolün işlenmesinin uygulanabilirliği olmaya devam etmektedir. Kuru toz aktarımı cazip aktarım formatı sağlar. Ancak, oldukça etkili aerosolleştirme için uygun mikronize partiküllerin oluşturulması oldukça kayda değer bir teknik güçlük olmaya devam etmektedir. Yukarıda belirtilen sorunlara ek olarak, kuru tozlar için herhangi bir pratik inhalasyon aktarım sistemi inhalasyon esnasında partiküllerin topaklaşmasını önleme veya minimize etmeye ihtiyaç duyabilir, yetersiz akış özellikleri veya tutarsız topaklaşma nedeniyle aktarılan dozda düşük değişikliklere sahiptir ve aktarım cihazından, tozun cihazın duvarlarına yapışmasının neden olduğu tamamlanmamış yok edilmeyi önlemeye veya minimize etmeye ihtiyaç duyabilir.

15

Son yıllarda biyomoleküllerin inhalasyonu için, sıklıkla püskürtülerek kurutma vasıtasıyla oluşturulan yeni nesil "akıllı" toz formülasyonlar önerilmiştir. Birçok durumda, bu formülasyonlar deneysel olarak tasarlanır ve her birinin katı evrede bir ya da daha fazla fonksiyonel rol sağladığının önerildiği eksipiyanların bir kokteylini içerir. Bu bağlamda kullanılan o eksipiyanların biri amino asit L-lösin olmuştur. Ya eş-öğütmeyle ya da yoğunlaştırma/çökeltmeyle L-lösin eklenmesiyle sağlanan potansiyel avantajlı özellikler ilk olarak Staniforth ve Ganderton *et al.* tarafından kanıtlanmıştır (Bakınız örneğin, WO 96/23485 ve WO 00/33811). Bu çalışma, bu amino asidin özel fiziksel özelliklerinin performans güçlendirici davranış sağladığını göstermiştir. O dönemden bu yana birçok grup L-lösinin toz aerosolleştirmeye, özellikle aktifler ve eksipiyanlarla eş-püskürtüldüğünde sağladığı faydayı çalışmıştır, ancak, bu tip sistemlerdeki yapı-performans ilişkisinin gerçek yapısı belirsiz olmaya devam etmektedir. Daha geniş olarak, püskürtülerek kurutulan partikül yapılarındaki belirli peptitlerin/proteinlerin, örneğin albüminlerin, izolösin veya tri-lösinin de kullanımda gelişmiş aerosolleştirme performansı sağlayabildiği de görülmektedir. Alternatif olarak, fosfolipitler (örneğin DPPC), lesitinler veya yağ asidi tuzları (örneğin sodyum veya magnezyum stearat) gibi lipit ve yağ asidi materyalleri de bu açıdan birtakım faydalar sağlayabilir.

US 2011/171312 A1 genellikle, bir ya da daha fazla suda-çözünür polimere eşdeğerli olarak ekli bir terapötik peptit bölütü içeren konjugatlardan bahsetmektedir (par. [0004]). Bu belgeye göre olası terapötik peptitler olarak yüzlerce farklı protein belirtilmektedir; pulmoner aktarım için tasarlanan kuru formülasyonlar ve kuru formülasyonların püskürtülerek kurutulmasıyla hazırlanması da açıklanmaktadır.

Şaşırtıcı bir şekilde L-lösinin, inhalasyon için kuru tozların püskürtülerek kurutma vasıtasıyla hazırlanması için işlemlerde avantajlı olarak kullanılabileceği ve L-lösinin yokluğunda, uygun partiküllerin hiç oluşmayacağı veya hemen bir araya geleceği veya geri dönülemez şekilde topaklaşacağı koşullarda uygun kuru tozların oluşumuyla sonuçlanabileceği bulunmuştur.

Dolayısıyla, mevcut açıklamanın bir birinci yönünde, inhalasyon için bir kuru tozun hazırlanmasının aşağıdakileri içeren bir yöntemi sağlanmaktadır:

15 oksitosin veya karbetosin, bir ya da daha fazla mono-, di- veya polisakkaritler ve/veya bir amorf camsı anayapı oluşturma kapasitesine sahip amino asitler ve L-lösin içeren sulu bir solüsyonun ve/veya süspansiyonun hazırlanması, inhalasyon için uygun bir kuru toz üretmek için sulu solüsyon veya süspansiyonun püskürtülerek kurutulması.

20

Teoriyle sınırlı olmaksızın, L-lösinin, muhtemelen hidrofobluğu nedeniyle oluşan partiküllerin yüzeyinde, partiküllerin stabilize olduğu bir şekilde ve topaklaşmanın önlenildiği bir şekilde konsantre olduğuna inanılmaktadır. Bu şekilde oluşan partiküllerin, camlaşma sıcaklığını ve atmosferik veya diğer nemden yeniden kristalleşmeyi azaltarak, mevcut kuru toz formülasyonlarıyla aynı derecede bir nemsiz ambalaj ortamının kullanılmasını gerektirmeyecekleri şekilde bozunmadan korundukları bulunmuştur. Bu durum ayrıca, mevcut buluşun, gelişmekte olan ulusların ücra ve çevresel açıdan ilgi isteyen bölgelerinde kullanılmasına da olanak sağlar. Inhalasyon için uygun bir biyolojik makromolekül ihtiva eden bir tozun üretilmesindeki güçlükler iyi bilinmektedir ve Exubera solunan insülin ürününün başarılı şekilde pazarlanmasının başarısızlığının ardından kapsamlı şekilde bildirilmiştir. Teknik güçlüklerin bazıları Exubera ürünü geliştirilirken ele alınmışken, çok kompleks, pahalı ve kullanışsız bir inhaler cihazı sağlamak gerekliydi, ayrıca toz, çok düşük nem ortamlarında halledilmesi gereken neme karşı aşırı derecede hassastı. Akciğerdeki biyoyararlanım ve kaderindeki belirsizlik dahil olmak üzere birçok ilave faktör de bu başarısızlığa katkıda

35

bulunmuştur. Bu ürün başarısızlığı, burada ana hatlarıyla çizilen soruna bir çözüm geliştirmedeki aşırı karmaşıklığı vurgulamıştır.

5 Burada kullanıldığı şekliyle “amorf camsı anayapı” terimi, büyük ölçüde kristalin- olmayan oksitosin veya karbetosinin dağıldığı veya hiç önemli kristallilik bölgesine ya da düzenli tekrarlanan yapısal moleküler sıraya sahip olmayan bir anayapıyı ifade etmektedir.

10 Solüsyon/dispersiyon, kuru toz formülasyonun oluşumuna ve stabilize edilmesine yardımcı olabilen diğer amino asitler, albüminler ve tri-lösin gibi amino asit türevleri dahil olmak üzere diğer bileşenleri de içerebilir. Formülasyonun nihai kullanımına bağlı olarak, peptidik-olmayan ilaçlar dahil olmak üzere diğer ilaçlar da katılabilir. Biyolojik olarak aktif protein veya peptit, diğer ilaçlar veya diğer bileşenler solüsyon ya da süspansiyon şeklinde olabilir ve stabilize edici ajanlar, sürfaktanlar ve benzerleri gibi 15 ilave ekspiyanlar da dahil edilebilir.

Dolayısıyla, burada kullanıldığı şekliyle, bir “solüsyon ve/veya süspansiyona” ya da “solüsyon/süspansiyona” yapılan bir atıf, bazı bileşenlerin çözünebildiği (yani solüsyonda) ve bazı bileşenlerin süspansiyon olabildiği ya da bir nano-süspansiyon, 20 emülsiyon veya mikro-emülsiyon formunda olabildiği bir su ve diğer bileşenlerin karışımını göstermektedir. Sulu solüsyon bazı uygulamalarda diğer eş-çözücüleri de içerebilir.

Sulu sıvı bazı uygulamalarda diğer eş-çözücüleri içerebilir. “Sulu” teriminin, en azından 25 kısmen suyla oluşturulduğu ancak bir alkol (örn. etanol, izopropanol) gibi diğer suyla-karışabilir sıvıları da içerebilen bir sıvıyı ifade ediyor olarak anlaşılacaktır. Herhangi bir durumda teknikte uzman kişi, sulu sıvının, buluşun yöntemlerine göre püskürterek kurutma için uygun olmasının şart olduğunu anlayacaktır.

30 Mevcut buluşun kuru toz formülasyonları, doğum sonrası kanamanın tedavisi veya engellenmesi için kullanılabilir.

Mevcut buluş özellikle oksitosin veya karbetosin peptitlerinin formülasyonları için uygundur. Oksitosin veya karbetosin ihtiva eden formülasyonlar, doğum sonrası 35 kanamın (PPH) tedavisinde veya engellenmesinde kullanılabilir. Bu tip koşullarda

formülasyon ayrıca, PPH'nin tedavi edilmesi veya engellenmesi için uygun olan ergometrin ve ilgili ilaçlar gibi diğer bileşenleri de içerebilir. Ayrıca, oksitosin ve/veya türevlerini ihtiva eden formülasyonların anksiyete ve otizmin tedavisinin yanı sıra davranış modifikasyonunun indüklenmesi için de faydalı olabileceği açıklanmaktadır.

5 Örneğin, otizm, şizofreni, anksiyete, stres ve doğum sonrası depresyon dahil olmak üzere depresyon: meme, yumurtalık ve endometriyal karsinom dahil olmak üzere kanser, bir yaşam tarzı olarak ilaç içeren güven, bağlanma ve cinsel fonksiyon bozukluğunun tedavisi, kronik baş ağrısı gibi ağrı tedavisi, emzirme ve erkek ya da dişi üreme.

10

Nihai püskürtülerek kurutulmuş tozdaki amorf camsı anayapının oluşturulması için kullanılan bileşenler herhangi bir uygun mono-, di- veya polisakkarit ve/veya amino asit olabilir. Örneğin, bu bileşen D-mannitol ve glisin içerebilir. Bu bileşenler genellikle sulu solüsyonun/süspansiyonun suyunda çözünecektir.

15

Bu bileşenin bir başka uygulaması trehaloz veya inulin içerebilir. Teknikte uzman bir kişi bu amaç için uygun sakkaritlerin ve/veya amino asitlerin farkında olacaktır. Şeker alkolleri örneğin ksilitol ve sorbitol içerebilir. Monosakkaritler örneğin, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla, glukoz (dekstroz), fruktoz (levüloz), galaktoz, ksiloz ve riboz

20 içerebilir ve stereoizomerlerin herhangi bir kombinasyonunu içerebilir. Disakkaritler örneğin bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla, laktoz, sukroz, trehaloz, maltoz içerebilir. Alternatif olarak raffinoz gibi trisakkarit, stakiyoz gibi tetrasakkaritler ve verbaskoz gibi pentasakkaritler içerebilir.

25

Opsiyonel olarak bir ya da daha fazla fizyolojik olarak aktif madde ihtiva eden mikronize partiküller ayrıca bir ya da daha fazla farmakolojik olarak kabul edilen taşıyıcı, seyreltici veya ekspiyan da içerebilir. Diğer ekspiyanlara, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla, hacim arttırıcılar, tampon ajanları ve sodyum sitrat gibi stabilizörler, emilim arttırıcılar, proteaz ve peptidaz inhibitörleri, tat veya koku modifiye edici ajanlar, adezyon modifiye

30 ediciler, akış ajanları, çözünme modifiye ediciler veya mukolitikler dahildir.

Tozlar ek olarak herhangi bilinen taşıyıcı partikülleriyle veya aroma, koku veya organoleptik duyu modifiye ediciler gibi diğer katkı ekspiyanlarıyla kombinasyonla formüle edilebilir. Tozun gelişmiş toz akışına sahip yumuşak peletler olarak

peletlenmesiyle ve dolayısıyla kuru toz inhalelerinin uygun seçimiyle de bir miktar gelişme elde edilebilir.

5 Koruması talep edilen solunabilir kuru toz formülasyonunun partikülleri tipik olarak 10 mikrondan daha küçük, daha tercihen 5 µm'den daha küçük ve en tercihen 3 µm'den daha küçük bir kütle medyan aerodinamik çapa sahiptir. Tercihen L-lösün formülasyonun kuru muhteviyatının ağırlıkça %5 ila 50'si arasını temsil edecektir.

10 Burada kullanıldığı şekliyle "aerodinamik çap" (D_{ae}) terimi, söz konusu fiili partikülle aynı terminal ayar ivmesine sahip birim yoğunluğunda bir eşdeğer hacim küresinin çapı olarak tanımlanmaktadır. Farmasötik tozların akciğer birikmesi genel olarak partikülün aerodinamik davranışı açısından ifade edilir. Yerçekimi etkisi altındaki partiküller zemine belirli bir ivmede oturacaktır. Aerodinamik çapta, o ivmenin ölçülebildiği varsayılır ve partikülün birim yoğunluğunu (ρ_p), partikül yoğunluğunu (ρ_a), eşdeğer bir 15 kürenin birim yoğunluğunu (D_{eq}) hesaba katar. Dinamik şekil faktörü (X). Yaklaşık 1 µm'den büyük partiküller için, aerodinamik çapın ve birim yoğunluğunda eşdeğer hacim küresini ilişkilendirmek için aşağıdaki denklem geçerlidir:

$$D_{ae} = D_{eq} \sqrt{\left(\frac{\rho_p}{\rho_a X}\right)}$$

20 "Kütle medyan aerodinamik çap" ("MMAD") terimi, burada bir kütle ağırlıklı olarak ifade edilen medyan aerodinamik çap olarak tanımlanan, aerodinamik çapa göre sınıflandırılan partikül dağılımının istatistiksel bir temsilidir ve aerosol bilimcileri tarafından kullanılan yaygın kabul görmüş bir parametredir. Kütle medyan aerodinamik çap (MMAD), ABD Farmakopesi tarafından tanımlanan şekildeki bir farmakope darbe 25 ölçme yöntemiyle, bir Andersen kaskad darbe ölçer kullanılarak veya Gelecek Nesil Darbe Ölçer (Next Generation Impactor) (NGI) kullanılarak ölçülebilir. Bu bakımdan, kuru tozun oldukça aerosolleştirilebilir olması amacıyla, partiküller genellikle 10 µm'den küçük, ancak tercihen 6 µm'den küçük, tercihen 5 µm'den küçük, daha tercihen 3,5 µm'den küçük veya en tercihen 2 µm'den küçük bir kütle medyan aerodinamik çapa 30 sahip olacaktır.

Yayılan doz (ED), çalıştırılmasının ardından cihazdan yayılan aktif maddenin toplam kütesidir. Cihazın iç ya da dış yüzeyinde veya, örneğin, kapsül ya da blister dahil

olmak üzere ölçüm sisteminde kalan materyali içermez. ED, cihazdan yayılan toplam kütlenin toplanmasıyla ölçülür. Sıklıkla bir doz eşitliği örnekleme aygıtı (DOSA) olarak tanımlanan bir aygıtla ve bunu doğrulanmış bir kantitatif yaş kimyasal tayinle geri kazanarak gerçekleştirilebilir (gravimetrik bir yöntem mümkündür ancak daha az kesindir). Alternatif olarak, bir çarpma aygıtının veya darbe ölçerin kullanıldığı durumda, ED, ilgili çarpma aygıtı veya darbe ölçer sisteminin tüm aşamaları boyunca toplanan dozun birleştirilmesiyle ölçülür.

İnce partikül doz (FPD), çalıştırılmasının ardından cihazdan yayılan aktif maddenin, tanımlanan bir sınırdan daha küçük bir aerodinamik partikül boyutunda mevcut olan toplam kütesidir. Bu sınır genellikle, 3 µm, 2 µm veya 1 µm vb. gibi alternatif bir sınır olarak açık bir şekilde belirtilmediği sürece 5 µm olarak alınır. FPD, bir ikiz aşamalı darbe ölçer (TSI), çoklu-aşamalı darbe ölçer (MSI), Andersen Kaskad Çarpma Aygıtı (ACI) veya bir Gelecek Nesil Darbe Ölçer (NGI) gibi bir çarpma aygıtı veya darbe ölçer kullanılarak ölçülür. Bir TSI kullanıldığında, bu darbe ölçer bu değerinde hesaplanan yalnızca tek bir kesme noktasına sahip olduğundan FPD genellikle 6,4 µm olarak alınır. Her bir çarpma aygıtı veya darbe ölçer, her bir aşama için bir önceden-belirlenmiş aerodinamik partikül boyutu toplama kesme noktasına sahiptir. FPD değeri daha sonra, FPD'nin belirlenmesi için ya bir tek aşamalı kesmenin kullanıldığı ya da aşama-aşama birikmenin daha karmaşık bir matematiksel ara değerlemesinin kullanıldığı bir doğrulanmış kantitatif yaş kimyasal tayinle miktarı belirlenen aşama-aşama aktif madde geri kazanılmasının yorumlanmasıyla elde edilir (gravimetrik bir yöntem mümkündür ancak daha az kesindir).

İnce partikül kesiti (FPF) normalde FPD bölü ED olarak tanımlanır ve bir yüzde olarak ifade edilir. Burada, ED'nin FPF'si $FPF(ED)$ olarak ifade edilir ve $FPF(ED) = (FPD/ED) \times 100$ olarak hesaplanır.

İnce partikül kesiti (FPF), FPF bölü MD olarak da tanımlanabilir ve bir yüzde olarak ifade edilir.

Püskürtmeli kurutma, teknikte uzman bir kişi tarafından iyi bilinen püskürtmeli kurutma ekipmanı kullanılarak gerçekleştirilir. Püskürtmeli kurutma için solüsyonda L-lösin kullanılmasının, püskürtmeli kurutmanın, bu amaç için genellikle gerekli olan sıcaklıklardan daha düşük sıcaklıklarda elde edilmesine olanak sağladığı bulunmuştur.

Püskürtmeli kurutma işleminde kullanılan sıcaklıklar aktif maddenin ayrışmasına neden olabildiğinde, bu mevcut buluşun belirli bir avantajıdır. Örneğin, mevcut buluşun solüsyonlarının/süspansiyonlarının püskürtmeli kurutulması 80°C'den düşük, tercihen 60°C'den düşük, daha tercihen 40°C'den düşük ve en tercihen 30°C'den düşük sıcaklıklarda veya ortam sıcaklıklarında elde edilebilir. Püskürtmeli kurutma yapılandırmasına bağlı olarak, bu sıcaklıklar kurutucu giriş sıcaklığına veya çıkış sıcaklığına karşılık gelebilir, ancak tercihen kurumakta olan damlacıkların sıcaklığına karşılık gelecektir, bunun nedeni de soğutma etkisinin sıklıkla sistemin çıkış sıcaklığı olmasıdır.

10

Mevcut buluş tarafından hazırlanan kuru toz yenidir ve mevcut buluşun bir diğer yönünü sunmaktadır. Bu yöne göre, PPH'nin tedavisinde veya engellenmesinde kullanım için bir kuru toz formülasyonu sağlanmakta olup, burada kuru toz, aşağıdakileri içeren püskürtülerek kurutulmuş partiküller içerir:

15

oksitosin veya karbetosin,

bir ya da daha fazla mono-, di- veya polisakkarit ve/veya amino asit içeren bir amorf camsı anayapı ve

L-lösin.

20

Tercih edilen bir uygulamada amorf camsı anayapı D-mannitol ve glisin, trehaloz ve/veya inulin içerir.

Kurut toz formülasyonunun partikülleri yüzeyde yer alan L-lösinin en azından bir kısmına sahip olacaktır. Tercih edilen bir uygulamada yüzey en az %50, daha tercihen %75'ten fazla ve en tercihen %90'dan fazla bir L-lösin kapsanması içerecektir. Yüzeydeki L-lösin varlığının tayini doğrudan ToFSIMS (Uçuş süresi ikincil iyon kütle spektrometri) veya XPS (x-ışını fotoelektron spektroskopisi) gibi bir teknik kullanılarak ölçülebilir. Alternatif olarak, ters faz gaz kromatografisiyle tayin edilebilir. Tercih edilen bir tayin yöntemi, toz kohezyonunun ölçülmesi vasıtasıyla aşağıda özetlenen dolaylı yaklaşımdır.

30

Yukarıda belirtildiği üzere, yüzeydeki L-lösin konsantrasyonunun, kuru partikülleri topaklaşmaya ve nem girişine karşı koruma görevi gördüğüne inanılmaktadır.

Mevcut buluşun kuru tozları, teknikte bilinen ekipman ve teknikler kullanılarak verilebilir. Bu bağlamda, bir hastanın bir kuru tozu solumasına olanak sağlama amacıyla teknikte tarif edilen birçok inhalasyon cihazı bulunmaktadır ve bu ekipman, mevcut buluşun kuru tozlarının verilmesi için kullanılabilir.

5

Kuru toz inhaler cihazları (DPI'ler) teknikte iyi bilinmektedir ve çok çeşitli tipleri bulunmaktadır. Genel olarak, kuru toz cihaz içerisinde depolanır ve cihazın çalıştırılması üzerine depolama yerinden çıkarılır, bunun üzerine toz cihazdan, süje tarafından solunacak bir toz bulutu formunda çıkarılır. Birçok DPI'e, toz bütünsel bir biçimde, örneğin kuru toz formülasyonunun önceden belirlenmiş bir miktarını ihtiva eden blisterler veya kapsüller olarak depolanır.

10

Bazı DPI'ler bir toz haznesine sahiptir ve toz dozları cihaz içerisinde ölçülür. Bu hazneli cihazlar, tedavinin muhtemelen izole bir tedavide bir ya da az sayıda doz olduğu durumlarda daha az tercih edilir.

15

Kuru toz inhalerleri pasif veya aktif olabilir. Pasif inhalerler, tozun cihaz üzerinden hastaların içe doğru nefes almasıyla çekilen hava akışı kullanılarak aerosolleştirildiği inhalerlerdir ve aktif cihazlar tozun, örneğin Nektar Exubera cihazı veya Vectura Aspirar cihazı gibi bir sıkıştırılmış gaz kaynağı olabilen veya titreşim (mesela Microdoze cihazı) gibi bir mekanik enerji ya da darbe formunda olabilen ayrı bir enerji kaynağıyla aerosolleştirildiği cihazlardır.

20

Mevcut buluşta kullanım için uygun kuru toz inhaler cihazlarına "tek doz" cihazlara, örneğin toz bileşiminin münferit dozlarının cihazına içine, örneğin, tek dozlu kapsüller veya blisterler olarak verildiği Rotahaler (ticari marka), Spinhaler (ticari marka) ve Diskhaler (ticari marka) dahildir. Cihazlar ön-ölçümlü olarak örneğin ön-ölçümlü formatın birden fazla doz içerdiği (GSK Diskus cihazında olduğu gibi) bir blister şeridinde veya hastanın ilacı ihtiva eden bir kapsül gibi bir ön-ölçümlü harici doz formunu soktuğu (örneğin Boehringer Ingelheim Handihaler veya Miat Monodose) şekilde sunulabilir.

30

Alternatif olarak cihaz, toz dozunun cihaz içerisinde hastanın tutması esnasında bir toz haznesinden ölçüldüğü bir hazneli cihaz olabilir (örneğin Astra Turbuhaler). Bu inhaler cihazı tiplerinin herhangi biri kullanılabilir.

35

Cihaz tercihen bir tek kullanımlık cihaz veya küçük sayıda dozlarla kullanım için tasarlanan bir cihaz olabilir ve kullan-at olabilir. Örneğin, Twincer cihazı, Direct Haler cihazı, TwinCaps cihazı veya Puff-haler. Bu cihazların bir avantajı basitlikleri, az sayıda bileşenleri ve düşük maliyetleridir. Tercihen 10 bağımsız bileşene sahip bir cihaz tercih edilmektedir. Daha tercihen, 5 ya da daha az, en tercihen 3 ya da daha az tercih edilir.

Aktarım cihazlarıyla ilişkili olarak, elde edilen dozlam etkililiğini etkileyecek bir takım faktör vardır. İlk olarak, dozun çıkarılması bulunmaktadır. Ek olarak, üretilen toz bulutunun dinamikleri de dozlam aktarımını etkileyecektir. Tercihen, cihaz yüksek yayılan doza ve yüksek etkili saçılmaya izin verecektir. Yüksek etkili saçılma sıklıklar, çalıştırmada yüksek toz darbesi seviyeleriyle ilişkilidir. Cihaz düşük bir ortama veya yüksek hava akışı direncine sahip olabilir.

Mevcut buluşun bileşimlerinin ya pasif ya da aktif inhaler cihazlarıyla verilebileceği anlaşılmalıdır.

Biyolojik olarak aktif protein ve peptitlerin pulmoner yolda bir solunabilir kuru toz formülasyonu kullanılarak aktarılması, partiküllerin, akciğerlerin mukozal zarıyla temas ettiklerinde çözünmesini ve protein ya da peptidin müteakip salınmasını ve alımını gerektirir. L-lösünün püskürtülerek kurutulmuş partiküllere, özellikle sıcak ve nemli ortamlarda gelişmiş stabilite ve raf ömrü sağlamak için yeterli hidrofobik kaplamanın bir formunu sağladığına inanılırken, şaşırtıcı bir şekilde bunun, tozların proteinleri ve peptitleri akciğerde alım için salma yetisine müdahale etmediği bulunmuştur. Daha önceden, WO 01/76575'te olduğu gibi hidrofob ekspiyanlara sahip kaplama partiküllerinin çözünmeyi kayda değer periyotlarda geciktirebildiği gösterilmiştir. Gerçekten de oksitosin içeren bir püskürtülerek kurutulmuş formülasyon için, oksitosinin alımının ve eylem başlaması süresinin özellikle hızlı olduğu ve doğum esnasında oksitosin vermek için kullanılan mevcut yöntemlerden ve formülasyondan kayda değer şekilde daha hızlı olduğu bulunmuştur. Dolayısıyla, şaşırtıcı bir şekilde oksitosinin inhalasyon vasıtasıyla akciğerin içine aktarılmasının, mevcut veriliş yollarına göre kayda değer avantajlar sağladığı bulunmuştur.

Dolayısıyla, mevcut buluşun bir diğer yönünde, inhalasyon için oksitosin veya karbetosin ve oksitosin için bir amorf camsı anayapı gibi bir pulmoner olarak kabul

edilen taşıyıcı içeren bir kuru toz sağlanmakta olup, burada kuru tozun partiküllerinin %40'ından fazlası, tercihen %50'sinden fazlası, daha tercihen %60'ından fazlası ve en tercihen %65'inden fazlası inhalasyon üzerine 5 µm'den az, daha tercihen 3 µm'den az bir aerodinamik çapa sahiptir. Tercihen, üretilen aerosol bulutunun kütle medyan aerodinamik çapı (MMAD) 5 µm'den az, daha tercihen 3 µm'den az, yine daha tercihen 2,5 µm'den az ve en tercihen 2 µm'den azdır.

Buluşun bu yönüne göre kuru toz formülasyonları, doğum sonrası kanamanın (PPH) tedavisinde veya engellenmesinde kullanım içindir. Buluş ayrıca, PPH'nin tedavisi veya engellenmesi için inhalasyon için bir kuru tozun üretiminde oksitosin veya karbetosin kullanımı da sağlamaktadır. Buluş ayrıca, PPH'nin tedavisinde veya engellenmesinde kullanım için, ihtiyaç duyan bir süjeye oksitosin veya karbetosin içeren bir kuru tozun etkili bir miktarının inhalasyonla verilmesini içeren bir formülasyon sağlamaktadır. Kuru toz formülasyonu yukarıda tarif edilen bir formdadır.

Buluşta, amorf camsı anayapı bir ya da daha fazla mono-, di- veya polisakkarit ve/veya amino asit ve içerir ve en tercihen anayapı, tercihen yukarıda tarif edildiği şekildeki miktarlarda ve oranlarda L-lösin içerecektir. Ancak, istemlerin kapsamı dışında, amorf camsı anayapı pulmoner aktarım için uygun olan, bir polivinilpirolidon veya polivinil alkol ya da polietilen glikol polimeri veya propilen glikol ya da ko-polimerler gibi etkisiz bir polimer içerebilir. Bu polimerlerden oluşan anayapılar ayrıca, partiküllerin stabilitesini geliştirmek ve uygun bir aerodinamik çapa sahip olduklarını temin etmek için lösin, izölösün veya trilösün gibi bileşenler de içerebilir.

Buluşa göre, kuru toz ayrıca bir ya da daha fazla fizyolojik olarak aktif madde içerebilir ve ayrıca bir ya da daha fazla, önceden tarif edilenler gibi bir ya da daha fazla farmakolojik olarak kabul edilen ve pulmoner olarak kabul edilen bileşenler içerebilir. Tercih edilen bir uygulamada, pulmoner olarak kabul edilen taşıyıcı sodyum sitrat veya oksitosin bileşeni için bir stabilizör içerir.

Buluşun bu yönüne göre mikronize partiküller, yukarıda tarif edildiği şekilde, teknikte uzman kişi tarafından belirlenebilen uygun koşullar altında püskürtmeli-kurutmayla hazırlanabilir. "Püskürtmeli-kurutma" terimi, bir ya da daha fazla çözgenin veya süspansiyonun bir solüsyonun bir sıvıda oluşturulduğu, böylelikle sıvının fiziksel olarak, daha sonra bir kuru partikül toz oluşturmak için kurutulan münferit damlacıklara

atomize edildiği herhangi bir işlemi kapsama amaçlıdır. Bir damlacıktan partikül oluşumuna işlemin herhangi bir biçimini kapsayabilir ve püskürtmeli-dondurarak kurutma, püskürtmeli soğutma ve püskürtmeli şok kurutma gibi ilgili işlemleri kapsayabilir. Damlacıklar, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla, basınçlı atomizasyon, pnömatik atomizasyon, iki ya da daha fazla sıvı atomizasyonu, döner diskli atomizasyon, elektro hidrodinamik atomizasyon, ultrasonik atomizasyon ve bu tip atomizasyon işlemlerinin herhangi bir varyantı dahil olmak üzere bilinen herhangi bir atomizasyon işlemiyle oluşturulabilir. Atomizasyon bir adet püskürtme kaynağından veya birden fazla kaynaktan meydana gelebilir. Sıvı araç püskürtmesi sulu olabilir ya da olmayabilir ve opsiyonel olarak eş-çözgenler artı çözünen veya süspanse edilen ilave bileşenler içerebilir. Sıvı, ortam koşullarında bir buhar veya katı olan ancak seçilen işlem koşulları altında bir sıvı olarak var olan bir materyal içerebilir. Oluşan damlacıklar, bir ısıtılmış kurutucu gaz formunda ısı uygulanarak kurutulabilir veya ısıtma diğer şekillerde, örneğin kurutma bölmelerinin duvarlarından ışınımsal olarak veya mikrodalgalar olarak uygulanabilir. Bu kurutma işleminden toplandıklarında, partiküller, vakumla kurutma veya dondurarak kurutma gibi bir işlem vasıtasıyla kontrollü bir nem seviyesine daha fazla kurutulur veya koşullanır. Alternatif olarak, kurutma dondurarak ve ardından kurutmaya veya vakum uygulanmasıyla elde edilebilir.

Partiküller, bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla aşağıdakiler gibi bilinen herhangi bir partikül işleme sistemi olarak elde edilebilir ve işlenebilir: Nektar tarafından geliştirilen Pulmosphere™ veya Pulmosol™ teknolojisi, Alkermes tarafından geliştirilen AIR™ gözenekli partikül teknolojisi, Mannkind tarafından geliştirilen Technosphere™ teknolojisi, Vectura tarafından geliştirilen Powderhale™ teknolojisi, Prosonix sonokristalizasyon yöntemleriyle yaratılan partiküller, örneğin Elan, Hovione veya Savara tarafından geliştirilen ıslak veya kuru nano-öğütme teknolojileriyle yaratılan partiküller.

İnhalasyon için kuru tozun mikronize partikülleri, aerosolleştirme ve inhalasyon için uygun bir boyuttadır, 15 µm'den az, mesela 10 µm'den az veya 6 µm'den az veya 5 µm'den az veya 3 µm'den az veya 2 µm'den az bir fiziksel boyuta sahiptir. Bu uygulamaya göre partiküller, 10 µm'den az, ancak tercihen 5 µm'den az veya 3 µm'den az bir kütle medyan aerodinamik çapa sahip olacaktır.

Tipik olarak, yukarıda müzakere edilen boyut eşdeğerlerine ek olarak, partiküllerin hacmen %90'ı 10 μm 'den az veya 8 μm 'den az veya 6 μm 'den az veya 5 μm 'den az veya 3 μm 'den az bir aerodinamik çapa sahip olabilir. Kütle medyan aerodinamik çap, ABD Farmakopesi tarafından tanımlanan şekildeki bir farmakope darbe ölçme yöntemiyle, bir Andersen kaskad darbe ölçer kullanılarak veya Next Generation Impactor (NGI) kullanılarak ölçülebilir. Bu uygulamaya göre partiküller, bir lazer ışığı saçılması yöntemiyle, mesela bir Malvern Mastersizer 2000 cihazı kullanılarak ölçülebilen, 5 μm 'den az veya 3 μm 'den az bir kütle medyan çapına sahip olabilir.

10 Aerosolleştirmede yüksek bir etkililik elde etmek amacıyla, partiküllerin düşük bir kohezyon seviyesi sergilemesi de avantajlıdır. Tipik olarak, kohezyon, Freeman FT4 toz reometresinin kesme hücresi gibi bir toz kesme hücresi testi kullanılarak ölçülebilir. Avantajlı bir şekilde, bir toz 2'den az, daha tercihen 1,5'ten az ve en tercihen 1'den az bir ortalama kohezyon değeri sergileyebilir.

15

Bir diğer uygulamada, oksitosin veya karbetosinin solunum yoluyla aktarımı ayrıca nazal aktarımı da içerebilir. Nazal aktarım burun vasıtasıyla nefes almayı içerir ancak burada toz birincil olarak burun boşluğunda ve kıvrımlarında toplanır ve burada sistemik dolaşımın içine alım da meydana gelir. Nazal inhalasyon, sistemik dolaşıma 20 invazif-olmayan bir aktarım yolu sağladığı için pulmoner verilise benzerdir. Nazal aktarım iğneleri önler ve bir tek cihazdan tekrarlanan verilise olanak sağlar.

Doz aralıkları sıvı hacmi için endişe olmadan kolayca hesaplanabilir ve verilebilir (hacme bağımlı değildir). Toz nazal aktarım için aktarım cihazları, pulmoner aktarım için gerekenlerden farklı olabilir. Örneklere Optinose firmasından cihazlar, Via Nase (Kurve), Direct-Haler, Monopowder (Valois) veya Bespack firmasından nazal toz sistemleri dahildir. Nazal aktarım için kütle medyan partikül boyutu, bu durum burun boşluğu üzerinden materyal geçişini indirgediği ve burun kıvrımlarındaki birikmesini maksimize ettiği için tercihen 5 μm 'den fazladır ve daha tercihen 10 μm 'den büyüktür. 25 Nazal formülasyonlar nazal olarak kabul edilen taşıyıcı içerecektir ve biyoyapışkan polimerler ve penetrasyon arttırıcılar gibi ilave ekspiyanlar, örneğin kitosan, HPMC veya karbopoller içerebilir.

Oksitosin veya karbetosin, burun vasıtasıyla bir camsı anayapı içeren, PPH'nin tedavisi için 10 μm 'den daha büyük bir kütle medyan partikül boyutunda ya da doğum sonrası 35

depresyon gibi diğer ilgili maternal koşullarda ve tercihen hızlı bir eylem başlamasına sahip şekilde formüle edilmiş bir toz olarak aktarılabilir. Pulmoner aktarım için hazırlanan kuru tozlar ayrıca, her ne kadar bu tip tozlar için tercih edilen bir aktarım modu olmasa da, geniz boşluğu vasıtasıyla pulmoner sistemin içine, örneğin bir hastanın tozu ağız yoluyla soluma güçlüğü yaşadığı durumlarda solunabilir.

Oksitosin, hızlı eylem başlaması, minimal yan etki profili ve kontraendikasyonların yokluğu nedeniyle doğumun üçüncü aşamasının aktif yönetiminde kullanım için Dünya Sağlık Örgütüne göre tercih edilen uterotonik maddedir. The Royal Women's Hospital hastanesinin (Melbourne, Avustralya) klinik uygulama kılavuzlarına göre, profilaktik oksitosin kadına ön omuzun çıkışıyla birlikte veya bebeğin doğumun birinci ila ikinci dakikası içerisinde verilmelidir. Veriliş zamanlaması, uterus atonisinin engellenmesinde kritiktir ve devam eden kan kaybı riskini indirgemek için böyle bir doğumun ardından en hızlı başlamaya sahip bir aktarılmış form sağlamanın bariz bir faydası vardır.

PPH'nin engellenmesine ek olarak, oksitosin intravenöz bir infüzyonda 30-40 IU'luk bir dozajda PPH için bir tedavi olarak kullanılır. İyi kontrollü klinik ayarlarda düşük doz oksitosin (0,5-1 mU/mL IV infüzyon), rahim kasılmalarının başlatılması veya iyileştirilmesi için endikedir, burada bu arzu edilebilir ve vajinal aktarım elde etmek amacıyla fetal veya maternal hususlar nedeniyle uygun olarak değerlendirilir.

Yakın zamanda, bilimsel ve tıbbi literatür, düşük endojen oksitosin seviyeleriyle doğum sonrası depresyon arasında bir bağlantı bildirmiştir ve bu endikasyon alanında veya etrafında sistemik aktarım için oksitosinin terapötik olarak etkili türevlerinde pratik, maliyet etkin ve invazif-olmayan bir formunu geliştirmek avantajlı olabilir.

Gelişmekte olan ülkelerde oksitosin kullanımının parenteral verilmesi, kimyasal bozunmayı engellemek için soğuk-zincir depolama ihtiyacı, IV veya IM enjeksiyonlarının verilmesi için eğitilmiş tıbbi personel ihtiyacı, maliyetleri indirgemek amacıyla kan yoluyla geçen virüs aktarımı olasılığını artırır şekilde şırıngaların yeniden kullanılması potansiyeli ve PPH'nin engellenmesi ve/veya tedavisi için yüksek kaliteli oksitosin ürünlerine genel bir erişim yoksunluğu dahil olmak üzere bir takım engelle karşılaşmaktadır. Oksitosine erişimi arttırmak amacıyla bazı ülkelerdeki yetenekli doğum görevlileri oksitosinin IM enjeksiyonlarını vermek için eğitilir, ancak doğum artışı için parenteral ürünün uygun olmayan kullanımı hakkında sayısız rapor bulunmaktadır.

- Koruması talep edilen solunan oksitosin formülasyonu, parenteral formülasyonlarla ilişkili sınırlamaların birçoğunun üstesinden gelmektedir. Bir tek üniteli dozaj formu sistemi, gereken düşük dozajı aktarmak mümkün olmadığından doğum artışında kullanım potansiyelini ortadan kaldırabilir. Oksitosinin solunabilir bir kuru toz formunda
- 5 sağlanması ayrıca, bir sıvı veya gazlı taşıyıcı yokluğu ve hacim bağımlılığı yokluğu açısından dozlamada daha fazla esneklik de sağlar. Ayrıca iğnelere duyulan ihtiyacı önler, kontaminasyon riskini minimize eder ve bir tek cihazdan tekrarlanan verilmiş esnekliğine olanak sağlar.
- 10 Mevcut buluşun kuru toz formülasyonları yoluyla elde edilen hızlı eylem başlaması, olağan terapötik dozun 30-40 IU arasındaki olduğu PPH tedavisi esnasında dozajın hızlı bir şekilde titre edilebilmesini sağlar. Ebeler/doğum görevlileri tipik olarak, kasılma şiddetinin PPH'nin kontrol edilmesi için yeterli olduğunu tayin etmek için rahmi hissedecektir. (Bir koyun modelinde ortaya konulduğu üzere) hızlı emilim ve eylem
- 15 başlaması, etkili rahim kasılmaları için ihtiyaç duyulan gerekli plazma seviyelerinin elde edilmesi için birden fazla solunan dozun verilmesinin mümkün olabileceğini göstermektedir. Oksitosinin geniş terapötik endeksi ayrıca, aktarım etkililiğinde veya emilimdeki değişkenlik hastalarda ciddi yan etkilere neden olmayacağından bir soluma terapisi için de faydalıdır.
- 20 Mevcut buluşa göre, oksitosin veya karbetosin içeren bir kuru tozun pulmoner sistemin içine inhalasyonunun ardından eylem başlaması, rahim kasılmasıyla ölçüldüğü üzere inhalasyonun 200 saniyesi içerisinde, tercihen inhalasyonun 150 saniyesi içerisinde, daha tercihen inhalasyonun 100 saniyesi içerisinde ve en tercihen inhalasyonun 60
- 25 saniyesi içerisinde elde edilebilir. Tercihen buluşa göre bir kuru toz formülasyonunun pulmoner verilmesiyle rahim kasılmalarının başlaması arasındaki süre, oksitosin veya karbetosinin bir solüsyonunun I.M. enjeksiyonunun ardından eylem başlamasına kıyasla, I.M. enjeksiyonuyla rahim kasılmalarının başlaması arasındaki sürenin %80'inden daha az, tercihen %60'ından daha az ve en tercihen %40'ından daha azdır.
- 30 Mevcut buluş özellikle, oksitosine benzer kullanımlara sahip oksitosin veya karbetosin verilmesi için, aktarım sonrası kanama kontrolüne odaklanarak özellikle uygundur.

Buluş şimdi bazı spesifik örneklere ve çizimlere istinaden tarif edilecektir. Ancak, aşağıdaki tarifnamenin özelliğinin, buluşun burada yukarıda tarif edilen genellemesini hükümsüz kılmadığı anlaşılmalıdır.

5 Çizimlere istinaden:

Şekil 1, püskürtmeli kurutma için bir aygıtın bir şematik temsilidir.

Şekil 2, kuru tozların in-vitro aerosol birikmesinin ölçülmesi için bir İkiz Aşamalı Darbe ölçerin bir şematik temsilidir.

10 Şekil 3, belirlenen koşullar altında püskürtmeli-kurutmadan sonra ham trehalozun (Trehaloz (ham)) ve püskürtülerek-kurutulan trehalozun (SD) X-ışını difraktogramlarını sağlamaktadır.

Şekil 4, belirlenen koşullar altında püskürtmeli-kurutmadan sonra püskürtülerek-kurutulan trehalozun ve ağ/ağ %10 ve %20 lösünle birlikte püskürtülerek-kurutulan trehalozun X-ışını difraktogramlarını sağlamaktadır.

15 Şekil 5, belirlenen koşullar altında püskürtmeli-kurutmadan sonra trehalozun bir taramalı elektronik mikroskop görüntüsüdür.

Şekil 6, belirlenen koşul altında püskürtmeli-kurutmadan sonra ağ/ağ %10 (sol) ve ağ/ağ %20 (sağ) lösün ile trehalozun taramalı elektronik mikroskop görüntülerini sağlamaktadır.

20 Şekil 7, oksitosin inhalasyonunun ardından rahim kasılmasını gösteren bir EMG izidir. Ok, verilişle kasılma arasındaki gecikmeyi simgelemektedir. İlk atak noktalı bir çizgiyle daire içindedir. Siyah çizgi oksitosin indüklü aktivitenin bir rastgele otuz dakikalık örneğini temsil etmektedir. Kesikli çizgi, referans hattına geri dönmeye önce oksitosin indüklü rahim aktivitesinin toplam süresini temsil etmektedir.

25 Şekil 8, doğumdan hemen sonraki periyot ve takip eden intrapulmoner (IP) ve intramüsküler (IM) oksitosin aktarımı esnasındaki Rahim EMG davranışının bir analizini sağlayan bir dizi çizelgedir, (a) oksitosin verilişiyle EMG yanıtı arasındaki gecikme; (b) İlk EMG atağının uzunluğu; (c) İlk 30 dakikadaki EMG atağının sayısı; (d) EMG aktivitesinin toplam süresi. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edilmektedir. $P > 0,05$ RM ANOVA; $n=5$. Yeşil çubuklar doğumdan hemen sonraki rahim aktivitesini temsil etmektedir, mavi çubuklar kuru toz aktarımından sonraki rahim aktivitesini temsil etmektedir ve kırmızı çubuklar intramüsküler verilişten sonraki rahim aktivitesini temsil etmektedir.

Şekil 9, bir koyun soluk borusunun toz aktarımından önceki (a) ve sonraki (b) bronkoskop video görüntülerini göstermektedir.

Şekil 10, Ters gaz kromatografisinde bitimli seyreltmede polar-olmayan yüzey enerjisi dağılımlarını göstermektedir.

5 Şekil 11, Ters gaz kromatografisinde bitimli seyreltmede polar yüzey enerjisi dağılımlarını göstermektedir.

Şekil 12, Ters gaz kromatografisinde bitimli seyreltmede toplam yüzey enerjisi dağılımlarını göstermektedir.

10 Şekil 13, Ters gaz kromatografisinde bitimli seyreltmede belirlenen kohezyon çalışması yüzey enerjisi dağılımlarını göstermektedir.

Şekil 14, Ters gaz kromatografisinde sürekli seyreltmede yüzey enerjisini göstermektedir.

15 Şekil 15a, eşit miktarlarda mannitol, glisin ve lösün ihtiva eden örnek 10 formülasyon 1 tarafından aktarılan oksitosin inhalasyonunun ardından rahim kasılmasını gösteren bir EMG izidir. Kesikli çizgi formülasyon aktarımı süresini göstermektedir ve düz çizgi rahim kasılmasının başlamasını göstermektedir. X-ekseni saat:dakika:saniye şeklindedir ve y eksenini mV olarak gösterilmektedir.

20 Şekil 15b, %90 trehaloz ve %10 lösün ihtiva eden örnek 10 formülasyon 2 tarafından aktarılan oksitosin inhalasyonunun ardından rahim kasılmasını gösteren bir EMG izidir. Kesikli çizgi formülasyon aktarımı süresini göstermektedir ve düz çizgi rahim kasılmasının başlamasını göstermektedir. X-ekseni saat:dakika:saniye şeklindedir ve y eksenini mV olarak gösterilmektedir.

25 Şekil 16a, %90 PVP(30) ve %10 lösün ihtiva eden örnek 10 formülasyon 3 tarafından aktarılan oksitosin inhalasyonunun ardından rahim kasılmasını gösteren bir EMG izidir. Kesikli çizgi formülasyon aktarımı süresini göstermektedir ve düz çizgi rahim kasılmasının başlamasını göstermektedir. X-ekseni saat:dakika:saniye şeklindedir ve y eksenini mV olarak gösterilmektedir.

30 Şekil 16b, oksitosinin intramüsküler aktarımının (örnek 10 formülasyon 4) ardından rahim kasılmasını gösteren bir EMG izidir. Kesikli çizgi formülasyon aktarımı süresini göstermektedir ve düz çizgi rahim kasılmasının başlamasını göstermektedir. X-ekseni saat:dakika:saniye şeklindedir ve y eksenini mV olarak gösterilmektedir.

ÖRNEKLER.

Örnek 1

Püskürtmeli Kurutma

5 Püskürtmeli kurutma, arzu edilen çözündürülmüş materyalin bir başlangıç solüsyonundan tozların oluşturulmasını içeren bir tek-adımlı işlemdir. Tanım gereği, beslemenin bir sıvı durumdan bir kurutulmuş forma, sıvı beslemenin bir sıcak kurutma vasatının içine püskürtülmesiyle dönüştürülmesidir. Püskürtmeli kurutma işlemindeki dört kilit aşama şunlardır: (i) beslemenin nozül üzerinden atomizasyonu, (ii) sıvı damlacıklarıyla kurutma gazı arasında püskürtme-hava teması, (iii) partiküllerin sıvının buharlaştırılması vasıtasıyla kurutulması ve (iv) nihai tozun toplanması.

Şekil 1'deki şematiğe istinaden, hava sistemin (1) içine alınır ve giriş sıcaklığının (3) ölçülmesi öncesinde tedarik edilen ısıtıcı (2) tarafından ısıtılır. Sıvı besleme, damlacıkların oluştuğu nozülün (4) içine ayrı olarak çekilir ve ılık havayla karıştırılmakta olan kurutma haznesinin (5) içine dağıtılır. Bu noktada, kurutulmuş bir partikül oluşur. Çıkış sıcaklığı (6), partiküller, tozun havadan ayrıldığı siklonun (7) içine hareket ettikçe ölçülür. Toz geri kazanım için toplama teknesinde (8) hapsedilirken hava, torba filtrede (9) hava akımında kalmış olabilen tüm ince partiküllerden filtre edilir. Püskürtmeli kurutmada hava devridaimi, aspiratörün (10) çalışmasıyla devam eder.

Atomizasyon, damlacıkların tanımlanmasında ve dolayısıyla müteakip partikül boyutu ve dağılımında çok önemli bir parçadır. Besleme nozüldeki bir küçük ağız üzerinden pompalandıkça yağma sıvıdan damlacıkların bir püskürtülmesini içerir. İki-sıvılı nozül olması durumunda, tedarik edilen gaz sıvı yağına nozülde yüksek ivmelerde çarpar. Bu yüksek ivmeli gaz sıvı yüzeyleri üzerinde yüksek sürtünme kuvvetleri yaratır ve bu da sıvının parçalara ayrılmasına ve kurutma haznesinin içine uzanan püskürtme damlacıklarının oluşmasına neden olur.

30 Çözünmüş materyalin özellikleri ve kurutma koşulları nihai toz karakteristiklerini etkileyecektir. Sıvı çözücünün damlacık yüzeyinden (bu durumda su) buharlaşmasıyla, çözgen çökmesi meydana gelir. Partikül oluştuğunda sıklıkla olduğu üzere, bir kabuk oluşabilir ve kabuk nemin farklı hızlarda ve değişen etkilerle yok edilmesine olanak sağlayacak şekilde gözenekli, yarı-gözenekli veya gözeneksiz olabilir. Bu nedenle

değişen morfolojilerde partiküller oluşabilir. Bu nedenle kurutma koşullarının kontrolü önemli bir etmendir.

5 Gerçekleştirilen deneylere göre, tozların formülasyonları ve bunların püskürtmeli kurutma parametreleri değişiklik göstermiştir. Tüm toz formülasyonlarında, eklenen değişen miktarlarda amino asitle birlikte, referans materyali olarak mannitol kullanılmıştır. Deneyler boyunca sabit kalmış olan püskürtmeli kurutma parametreleri, tam akışta ayarlanan aspiratör ayarı ve atomizer hava akışı hızıdır (800 L/saat).

10 Her bir formülasyon için, mannitol, glisin ve oksitosin sabit miktarlarda değişen lösün miktarlarıyla birlikte püskürtülerek kurutuldu. Püskürtmeli kurutma koşulları 70°C'de ayarlanan çıkış sıcaklığıyla sabitlendi.

15 Kullanılan parametreler aşağıdaki Tablo 1'de gösterilmektedir. Amino asitlerin gösterilen yüzdeleri tüm toz içeriğine değil yalnızca mannitol miktarına göre hesaplandı. Oksitosinin gösterilen yüzdesi tüm toz içeriğine göre idi.

Tablo 1

Deneme	1	2	3	4	5	6
Mannitol (g)	5	5	5	5	5	5
Glisin (%)	30	30	30	30	30	30
Oksitosin (%)	1	1	1	1	1	1
Lösün (%)	15	50	15	50	32,5	32,5
Sıvı besleme hızı (mL/dk)	8	8	2	2	5	5

20 Tozlar tartıldı ve arzu edilen besleme konsantrasyonun elde edilmesi için uygun miktarda Milli-Q suyu içinde çözündürüldü. Solüsyonlar daha sonra kuru tozlar üretmek için, Buchi 190 Mini Püskürtmeli Kurutucu (Buchi, İsviçre) kullanılarak püskürtülerek kurutuldu.

25 **Örnek 2**

In-Vitro Aerosol Birikmesi

Tozların in-vitro aerosol birikmesi, Twin Stage Impinger (TSI) (Copley Scientific Ltd., Nottingham, BK) kullanılarak ölçüldü. TSI yöntemleri ve kurulumu, Şekil 2'de gösterildiği üzere İngiliz Farmakopesi 2011'e göre yapıldı. Camdan kısımda (D ve H),
5 TSI'nin kurulumu esnasında sırasıyla 7 mL ve 30 mL su eklendi.

TSI, solunum yolunun basit bir modelidir; üst (aşama 1) ve alt (aşama 2) hazneler sırasıyla üst ve alt solunum yollarını temsil etmektedir. Aerodinamik çapın birinci aşamadaki kesmesi 6,4 µm'dir. 6,4 µm'den daha büyük partiküller ideal olarak 7 mL
10 sıvıda toplanmalıdır; Toplanmayan daha küçük partiküller (<6,4 µm), 30 mL sıvı içeren alt aşamaya ilerleyecektir. Birçok partikül, sıvı fazlalığı nedeniyle alt aşamada toplanacaktır, ancak partikül boyutu alt aşamada toplanma için çok küçükse, çıkışta atılacaktır.

Her bir toz numunesi için ölçümler dört kopya olarak yapıldı. Her bir kopya için, beş adet 3 boyunda HPMC kapsülü elle 20,4 ± 0,24 mg numune tozla dolduruldu ve beş Modonose inhalere (Miat, İtalya) yerleştirildi. F parçasına bir vakum pompası takıldı ve hava akış hızı 60L/dk'ya kalibre edildi ve 5 saniyeye ayarlandı. Kapsül cihaz içinde delindi ve vakum pompası tarafından harekete geçirilmeye hazır adaptör (parça A)
20 üzerine yerleştirildi. Pompa çalıştırıldığında, toz inhalasyon cihazından TSI aygıtının içine taşındı.

Beş kapsülün tümü aynı TSI içine aktive edildi. Kullanılan kapsüller inhalerler daha sonra 100 mL'lik bir ölçülü balon içine Milli-Q suyla yıkandı ve hacim tamamlandı. Buna
25 'kalıntı' aşaması adı verildi. Aşama 1'i oluşturan parçalar (parçalar A, B, C ve D) 200 mL'lik bir ölçülü balon içinde ve Aşama 2'yi oluşturan parçalar (parçalar E, F, G ve H) 50 mL'lik bir ölçülü balon içinde Milli-Q suyla yıkandı ve sırasıyla 'aşama 1' ve 'aşama 2' adı verildi. TSI'nin her aşamasındaki oksitosin miktarları LC/MS tayiniyle belirlendi. İnce partikül kesiti (FPF), TSI aygıtının aşama 2'sine ulaşmış olan toz miktarı bölü tayin edilen toplam ilaç miktarı olarak hesaplandı. Bu test, oksitosin ihtiva eden bir tozun uygun aerosol birikmesiyle formüle edilip edilemeyeceğini ve akciğerden bağlı emilimi belirleyebildiğinde en önemli ölçü oldu.
30

Tablo 2

Deneme No	İnce Partikül Kesiti (%)
-----------	--------------------------

Deneme No	İnce Partikül Kesiti (%)
1	57
2	70
3	67
4	73
5	64

TSI cihazının alt kısmına, yani aşama 2'ye geçmekte olan partiküller solunabilir olarak değerlendirildi, bu nedenle ince partikül kesiti (FPF) ne kadar yüksekse ilacın alveollere ulaşma ve bir DPI'de ideal olan şekilde kan akışına emilme şansı o kadar yüksektir.

- 5 Tablo 2'de gösterilen beş denemenin FPF'si, geleneksel taşıyıcı formülasyon tozlarından ortalama bir FPF'ye kıyasla yüksekti (~%10-20).

- 10 Sonuçlar, FPF'nin %55 ila 75 arasına ulaşabildiğini göstermektedir ve bu da çok etkili seviyelerde aerosolleşmenin elde edildiği ve formülasyonlardaki oksitosinin yüksek miktarlarının gerekli terapötik olarak etkili doz olarak aktarılmış olduğu anlamına gelmektedir.

Oksitosin Stabilitesi

- 15 Peptitler aşırı ısı nedeniyle potansiyel olarak denşirilebilir. Bu çalışmada yürütülen testlerden, oksitosin stabilitesiyle ilgili tek gösterge, TSI deneylerini takiben LC/MS tayiniydi. Oksitosin içeriği TSI aygıtının, kapsüllerin ve inhalasyon cihazlarının tüm aşamalarından tayin edildiğinde, ilk kapsül dozunun ortalama $90,23 \pm 5,41$ 'i geri kazanıldı ve bu da oksitosinin püskürtmeli kurutma işleminde kullanılan sıcaklıklardan
20 veya işleme işlemlerinden bozunmadığını ortaya koymaktadır.

Örnek 3

Trehaloz/Lösin

25

Trehaloz, 117°C'lik yüksek camlaşma sıcaklığına (T_g) sahip, proteinin kuru katı hal formülasyonlarında stabilizasyonu için çeşitli çalışmalarda bir ekspiyan olarak

kullanılmış indirgeyici-olmayan bir şekerdir. Şeker molekülleri genellikle, ilgi konusu proteinle hidrojen bağları oluşturabilen ve bu nedenle kuru katı halde hidrojen bağ replasmanı ile biyo-makromolekülü stabilize edebilen karboksil grupları ihtiva ettikleri için bu bağlamda stabilize edici ekşiyanlar olarak kullanılmaktadır. Püskürtmeli-
5 kurutma, işlem pulmoner aktarım için uygun partikül boyutu aralığında ince partiküller üretebildiği için solunabilir kuru toz formülasyonlarının üretilmesi için çeşitli çalışmalarda başarılı şekilde kullanılmıştır.

Pulmoner aktarım için solunabilir protein farmasötiklerinin formülleri edilmesi amacıyla bir girişimde, püskürtülerek-kurutulmuş trehaloz, ilgili proteinin işlem stabilitesi üzerinde ısı stresinin etkisinin minimize edilmesi amacıyla 70°C'lik nispeten düşük çıkış sıcaklığında üretilir. Koşullar, mannitol ve amino asitlerle tarif edilen örneklerdekiyle aynıydı.

15 Trehaloz bir hammadde olarak nispeten kristalinken, belirlenmiş püskürtmeli-kurutma koşulları altındaki püskürtülerek-kurutulmuş trehaloz tamamen amorf gibi görünmektedir (bakınız Şekil 3). Oluşan bu formülasyon ilgi konusu proteini, formülasyondaki biyo-makromolekülün moleküler hareketliliğini indirgeyen bir amorf anayapı sağlayarak camsı hal stabilizasyonu ile daha da stabilize edebilir.

20

Ancak trehalozun oluşan formülasyonu, pulmoner aktarım için uygun olma ihtimali olmayan büyük partikül boyutuna sahip kaynaştırılmış primer yapılardan oluşur (Şekil 5). Formülasyonda ağ/ağ %10'luk bir konsantrasyonda lösün eklenmesi, belirlenen koşullar altında partikül boyutunu ve püskürtülerek-kurutulmuş formülasyonun morfolojisini büyük ölçüde geliştirir (Şekil 6). Lösünin eklenmesi, trehalozun başka durumlarda oldukça higroskopik primer partikül yapılarının püskürtmeli kurutma işleminde kaynaştırılmasını engelleyebiliyor gibi görünmektedir ve bu nedenle ince partikül boyutu aralığını pulmoner aktarımı için uygun şekilde muhafaza eder. Ek olarak, lösünin varlığı ayrıca, püskürtülerek-kurutulmuş formülasyonların dahili amorf anayapısının bir nemli korunmasını sağlayarak daha uzun süreli depolama boyunca bu partikül özelliklerini geliştirebilir (Şekil 4).

Örnek 4

Gereçler

35

D-Mannitol, VWR International Ltd. (Poole, BH15 ITD, İngiltere) firmasından temin edildi. L-lösin (LEU), glisin (GLY) ve L-alanin (ALA), Sigma-Aldrich Chemicals (Castle Hill, NSW, Avusturalya) firmasından temin edildi.

5

Püskürtülerek-kurutulmuş tozların hazırlanması

Tablo 1'de gösterildiği üzere çeşitli bileşimlerde mannitol ve seçili amino asitleri (LEU, GLY, ALA) ihtiva eden sulu solüsyonlar 200 mL Milli-Q suda çözündürüldü. Küçük bir miktarda metilen mavisi (10 mg), tozun aşağıda tarif edildiği üzere UV-VIS spektrofotometrik analizle basit bir nicelenmesine olanak sağlamak için her bir formülasyona katıldı. Hazırlanan formülasyonlar müteakiben 0,5 mm'lik iki-sıvılı bir nozüle sahip bir Buchi 190 mini püskürtmeli-kurutucu kullanılarak, aşağıdaki standart çalışma koşulları kullanılarak püskürtülerek-kurutuldu: hava akış hızı, 800 L/sa; pompa ayarı, 5 (6,67 mL/dk); aspiratör ayarı, 20; çıkış sıcaklığı, 75°C.

15

Partikül boyutu dağılımı analizi

Tozların partikül boyutu dağılımı, bir Scirocco hücresiyle ve bir Scirocco 2000 kuru toz dağıtım ünitesiyle donatılmış Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, BK) kullanılarak lazer-ışığı saçılmasıyla belirlendi. Tozlar havada, uygun saçılmanın elde edilmesi için seçilmiş olan 3,0 ila 4,0 bar arasındaki bir kayma basıncında dağıtıldı. Ortalama partikül boyutu her bir numune için üç kopya olarak ölçüldü. Hacim medyan çapı (D_{50}), her bir numune için dahili yazılım kullanılarak kırınım verisinden türetildi.

25

İn vitro toz aerosolleştirme ve partikül birikmesi

In vitro toz aerosolleştirme performansı ve partikül birikmesi, aerosol dağıtım cihazı olarak Monodose inhalerine (Miat S.p.A., Milan, İtalya) sahip bir ikiz aşamalı darbe ölçer (TSI, Apparatus, A; British Pharmacopoeia, 2000) kullanılarak tayin edildi. Akış hızı bir Kritik Akış Kontrolörü Model TPK 2000 & Akış ölçer model DFM 2000 (Copley Scientific Limited, Nottingham, BK) kullanılarak 60 L/dk'ya ayarlandı. Her bir tozun yaklaşık 20 mg'ı, havalandırılmalı ($20 \pm 2^\circ\text{C}$, 50 ± 5 nispi nem) bir laboratuvarında gerçekleştirilen testler için 3 boyundaki HPMC kapsüllerine (Capsugel, Peapack, NJ,

35

ABD) dolduruldu. Her bir kapsül her bir ölçüm için inhalerden 4 saniye boyunca çalıştırıldı (n = 5). Farklı aşamalarda biriken toz miktarı, aşağıda tarif edildiği şekilde bir UV-VIS ışık spektrofotometre kullanılarak belirlendi. 60 L/dk'da TSI için kesme çapı yaklaşık 6,3 µm'dir (Hallworth and Westmoreland, 1987).

5

İnhalerde aşama 1 (S₁) ve aşama 2 (S₂) biriken tozun toplam miktarı geri kazanılan dozdu (RD). Aşama 1 ve 2'de biriken toz miktarı yayılan dozdu (ED) ve RD'nin yüzdesi olarak hesaplandı (Dnk. 1). İnce partikül kesiti (FPF), aşama 2'de biriken RD yüzdesi olarak tanımlandı (Dnk. 2).

$$ED\% = \frac{(S_1 - S_2) \times 100}{RD} \quad (1)$$

$$FPF\% = \frac{S_2 \times 100}{RD} \quad (2)$$

Taramalı-elektronik mikroskopi (SEM)

15

Partiküllerin morfolojisi bir taramalı elektron mikroskopu (Phenom™, FEI company, ABD) altında görselleştirildi. Toz numuneleri nazıkçe, SEM altında inceleme için bir numune tutucuya monte edilmiş bir çift-terafli karbon bant üzerine döküldü. Bandın yüzeyinde ince bir partikül katmanı bırakmak için fazla toz uzaklaştırıldı. Numuneler bir

20 püskürtümlü kaplayıcı (K550X, EMITECH) ile 6 dakika süreyle 25mA'da 2,0 kV'lık bir elektriksel potansiyel kullanılarak altınla püskürtümlü kaplandı. SEM mikrografları, dahili görüntü yakalama yazılımı kullanılarak yakalandı.

Sonuçlar

25

Tüm formülasyonların Mastersizer 2000 kullanılarak ölçülen hacim medyan partikül boyutu (D₅₀) Tablo 4'te listelenmektedir. Tek başına mannitolü püskürtmeli kurutma, 1,87 µm'lik D₅₀'ye sahip küçük partiküller üretti. Ancak, bu toz tamamen kristalindi ve biyo-moleküllerin stabilize edilmesi için gerek amorf cam yapıya sahip değildi.

30

Lösün, püskürtülerek-kurutulan partiküllerin aerosolleştirilmesinin geliştirilmesi için kullanılabilen bir eksipiyandır, ancak lösün ayrıca uygun küçük-boyutlu partiküllerin oluşumuna da yardımcı olur. Ancak glisin ve alanin, her ne kadar yapısal olarak lösine benzer olsa da, formülasyonların partikül boyutunu kayda değer şekilde arttırdıkları için

- benzer etkilere ulaşamadı. Besleme solüsyonundaki aralık konsantrasyonu partikül boyutunun bilinen bir belirtkeniyken, çalışma tasarımı alanı dahilinde kullanılan katı yükleme aralığının, lazer kırınımıyla ölçüldüğü üzere geometrik partikül boyutu üzerinde kuvvetli bir etkiye sahip değil gibi görüldüğünü kaydetmek önemlidir.
- 5 Besleme solüsyonundaki toplam katı yükleme, mevcut çalışmada %2,50 ila %3,72 arasında değişti. Partikül boyutunun katı yüklemenin bu nispeten küçük aralığı dahilindeki değişimin, formülasyon ekspiyanlarının kohezyon ve şekil üzerindeki etkilerine kıyasla göz ardı edilebilir olduğu ortaya konulmaktadır. Dahası, karıştırılmış amino asitlerden üretilen partikül boyutları göz önüne alındığında, bu amino asitlerin
- 10 uygun konsantrasyonlarında lösinle kombinasyon kullanımının tek başına lösin tarafından elde edilenin aksine partikül boyutunu da etkileyebilmesi mümkündür.

Toz dağılılırlığı ve saçılma

- 15 Püskürtülerek-kurutulan mannitol, solunabilir kuru toz formülasyonları için tatmin edici bir dağılılırlığı gösteriyor gibi görünen 2,38 μm 'lik D_{50} 'ye sahip partiküller üretti, ancak en düşük yayılan dozu da (ED) üretir. Tozun deneyden sonra cihazda tutulması görsel olarak barizdi ve buradaki diğer formülasyonlardan daha kohezif bir toz ortaya koymaktadır. Tüm kombinasyonlarda amino asitlerin varlığı gelişmiş ED ile sonuçlandı
- 20 (Tablo 4). Lösinin faydalı etkisi, diğer iki amino asidin D_{50} üzerindeki ve hem saçılmanın hem ED'nin geliştirilmesi üzerindeki etkisini dengeleme kapasitesinde barizdi.

İn vitro aerosolleştirme ve partikül birikmesi

- 25 TIS, aerodinamik aerosol bilgisi sağlamak için formülasyonların bu aralığının bir ön taraması olarak kullanıldı.

- İnce partikül kesiti (FPF) sonuçları lösin ihtiva eden formülasyonları göstermektedir, 5 μm altındaki D_{50} 'ye sahip olanlar %68'den daha büyük en yüksek FPF'yi ortaya koymaktadır (Tablo 4). Lösin olmadan amino asitleri ihtiva eden, 5 μm üzerindeki D_{50} 'ye sahip olan tozlar, sırasıyla %2,96, %9,11 ve %34,62'lik FPF'ye sahip glisin/alanin %30/30, alanin %30 ve glisin %30 ihtiva eden formülasyonlar tarafından ortaya konduğu üzere kayda değer şekilde daha düşük FPF göstermektedir. Tek başına mannitol %66,20'lik makul FPF gösterirken, bu formülasyon ayrıca en düşük
- 35 ED'yi de ortaya koymaktadır. %15'te birleşik amino asitler FPF'nin geliştirilmesinde

daha etkiliydi (Tablo 4). Bu sonuçlar, glisin ve alaninin uygun konsantrasyonlarında lösinle dahil edilmesinin, formülasyon aerosolleştirme performansını geliştirebileceğini öne sürmektedir.

5 Yüzey morfolojisi

10 Tek başına bir temel materyali olarak püskürtülerek-kurutulmuş mannitolün ciddi ölçüde toplanmış küçük küre şeklinde partiküller oluşturduğu gözlemlendi. Sonuç, Mastersizer'dan alınan partikül boyutu dağılımı verisiyle tutarlıdır. Amino asitlerin eklenmesi üzerine, küre şeklindeki partiküller, glisin ve/veya alanin varlığına bakılmaksızın lösin ihtiva eden tüm formülasyonlarda korundu. Lösin ilavesi olmadan glisin ve/veya alanin ihtiva eden diğer formülasyonlar, pürüzlü yüzeylere sahip düzensiz şekilli çok daha büyük partiküller oluşturdu.

15 Sonuç, lösin varlığı, kurumakta olan partikül yüzeylerini kaplayarak ve böylelikle toplandıkça, herhangi bir füzyonu engelleyerek münferit partikülleri koruyan bir koruyucu kabuk sağlayarak küre şekilli partiküllerin oluşumuna yardımcı olurken glisin ve alanin varlığının bu etkiyi engellemediğini ortaya koymaktadır. Önceki sonuçlar, nispeten yüksek bir konsantrasyonda lösinin (yani >ağ/ağ %5) kıvrık partiküllere yol
20 açma eğiliminde olduğunu göstermiştir. Mevcut çalışmadaki lösin-ihtiva eden partiküllerin morfolojisi farklı şekilde davranıyor gibi görünmektedir. Lösinin çalışma tasarımı alanı dahilinde kullanılan, kabaca ağ/ağ %10 ila 18'e karşılık gelen konsantrasyonları (15 ila 30 molar %) kıvrık partiküller üretmedi. Bu nedenle glisin ve/veya alanin varlığı küre şeklindeki kurumakta olan partiküllerin nüve yapısını
25 değiştirirken, lösinin, yüzey yapışıklığını indirmek ve kurutma işleminde füzyonu engellemek için bir kaplama sağlayarak partikül yüzeyinde yerleşme amacında olduğu yorumu yapılmaktadır.

Mevcut çalışmada, lösin, mannitol formülasyonlarının aerosolleştirme performansını,
30 kıvrık partiküllerin oluşumunu gerektirmeden güçlendirebildi. Dahası, FPF sonuçları bunun avantajlı olabileceğini ortaya koymaktadır.

Tablo 3

Faktörler

Formülasyon kullanılan faktörlerin seviyeleri

	-1	0	+1
X_1 = lösin (molar %)	0	15	30
X_2 = glisin (molar %)	0	15	30
X_3 = alanin (molar %)	0	15	30

Yanıtlar**Sabit tutulan işlem ve formülasyon parametreleri**

Y_1 = Mastersizer D_{50} (μm)	Mannitol içeriği: 5 g
Y_2 = Spraytec D_{50} (μm)	Besleme solüsyonu hacmi: 200 mL
Y_3 = Spraytec ED (mg)	Aspiratör ayarı: 20
Y_4 = TSI ince partikül kesiti (%)	Pompa ayarı: 5 (6,67 mL/dk)
Y_5 = TSI ED (%)	Hava akışı: 800 L/sa
Y_6 = kohezyon değeri (kPa)	Çıkış sıcaklığı: 75 °C

Kısaltmalar: ED, yayılan doz; SD, püskürtmeli-kurutma; TSI, ikiz-aşamalı darbe ölçer.

Tablo 4

Parti	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y_5	Y_6
1	0	0	0	1,87	2,83	15,80	66,20	78,04	4,53
2	30	0	0	1,75	2,70	17,50	80,10	91,11	2,21
3	0	30	0	3,75	5,52	19,20	34,62	89,59	2,39
4	30	30	0	2,05	3,50	18,00	72,62	88,00	1,04
5	0	0	30	6,69	12,02	18,90	9,11	92,47	0,71
6	30	0	30	2,27	3,24	17,50	68,64	89,99	1,21
7	0	30	30	13,97	28,55	19,20	2,96	85,90	0,43
8	30	30	30	1,97	3,58	17,20	69,13	87,40	1,32
9 ^a	15	15	15	2,05	2,58	16,60	76,84	88,79	1,82
10 ^a	15	15	15	1,95	2,49	17,40	76,40	86,97	1,79
11 ^a	15	15	15	1,99	2,28	16,40	74,27	88,82	2,11
12 ^a	15	15	15	n/a	2,40	17,0	n/a	n/a	1,32

Parti X_1 X_2 X_3 Y_1 Y_2 Y_3 Y_4 Y_5 Y_6

^a Tasarımın merkez noktasını göstermektedir. Kısaltmalar: n/a, mevcut değil.

Örnek 5

In vivo test

- 5 Gebelik süresinin 135nci gününde, hamile koyunlar (n=5) ameliyata hazırlık için tiyopenton ile uyutuldu. Anestezinin muhafaza edilmesi için izofloran (oksijen içinde %2,5) kullanıldı ve ağrı giderimi ve enfeksiyon riskini azaltmak için depomisin, prokain penisilin ve dihidrostreptomisin verildi. Her bir koyun tıraşlandı ve rahim duvarının açığa çıkarılması için karın derisinde göbek deliğinin altındaki orta hatta 10 cm'lik bir
- 10 kesi yapıldı ve büyük kan damarlarının önlenmesi için dikkat gösterildi.

Elektromiyografik (EMG) aktiviteyi ölçmek için üç adet steril paslanmaz çelik tel (0,07mm çapında, 2mm'lik bir kateterin içinde), rahmi çevreleyen rahim kasının düz kas katmanına yerleştirildi ve iki dikiş atılarak burada tutuldu. elektrotlar bir kateter

15 üzerinden koyunun dışına, sağ böğür üzerine bir ufak kesi (2cm) vasıtasıyla geçirildi. Kan numunelerinin sağlanması ve doğumun indüklenmesi için sağ şahdamarına bir kateter sokuldu. Koyunlar metabolik kafeslere geri götürüldü ve ameliyattan iyileşmeleri için 3-5 gün beklendi.

- 20 Doğum, 24 saat arayla iki 5ml (5mg deksametazon fosfat ve 10mg deksametazon enilpropiyonattan oluşan) deksametazon intravenöz enjeksiyonla indüklendi. Doğum, ilk deksametazonun enjeksiyonundan 54 ± 2 saat sonra meydana geldi.

Yukarıda ayrıntılı olarak verildiği üzere, oksitosin verilişleri doğumun 15 saat içinde

25 gerçekleştirildi. Her koyun kuru toz oksitosin formülasyonunun bir intratrakeal dozunu, solüsyon içinde oksitosinin bir intratrakeal instilasyonunu ve oksitosinin bir intramüsküler enjeksiyonunu aldı. Her bir tedavi arasında en az bir buçuk saatlik bir arınma dönemi vardı.

- 30 İntratrakeal veriliş için, geniz yolu üzerinden soluk borusunun içine bir endoskop geçirildi ve ilk bronşiyal ayrılmanın yakınında konumlandırıldı, burada ya solüsyon içinde 1 mL oksitosin bölüntüsü salındı veya 10 mg (ortalama) kuru toz modifiye bir PennCentury toz aktarım cihazı üzerinden aktarıldı.

Kuru toz formülasyonu, örnek 1'de tarif edildiği şekilde bir püskürtülerek kurutulan bir bileşim içerdi. Bu toz, kütlece mg başına 13 ünite oksitosin ihtiva etti, mannitolün, glisin ve lösinin kütlece eşit oranlarıyla püskürtülerek kurutuldu.

5

Bu prosedür esnasında, bir endoskopa (Pentax FG-16X) takılı bir Linvatec IM3301 Pal Video Kamera kullanılarak, Video Yakalama Yazılımı kullanılarak bir bilgisayara dijital bir dosya olarak kaydedilen bronkoskop video görüntüleri yakalandı. Görüntülerin örnekleri Şekiller 9a ve 9b'de sağlanmaktadır. Şekil 9a'daki görüntü toz aktarımından önce koyun soluk borusunu göstermektedir ve Şekil 9b görüntüyü aktarımdan yaklaşık 30 saniye sonra göstermektedir. Şekil 9b, beyaz lekeler aktarımdan önce var olmadığından, beyaz çözünmemiş tozun net bir kanıtını göstermektedir ve bu da pulmoner sistem içerisinde hızlı çözünmenin meydana gelmediğini işaret etmektedir.

15 Rahim içerisindeki düz kas hücrelerinden kaynaklanan eylem potansiyelini görüntülemek ve kaydetmek için MACLAB donanımı (400Hz Örnek hızı) ve Chart 4 yazılımı (10V Girdi aralığı) ile birlikte bir cyberamp 380 kullanıldı. Cyberamp 380, AC'de ayarlı pozitif girişe ve Zeminde ayarlı negatif girişe sahip AI401 probunu kullandı. AC kesmesi 10Hz'di ve ön filtre kazanımı 100mV'ye ayarlandı. Düşük geçiş 20 filtresi 300Hz'de ayarlandı, çentik filtresi kapalıya ayarlandı, çıkış kazanımı 5'e ayarlandı ve toplam kazanım 500'de bırakıldı. Verilerimizin istatistiksel anlamlılığını belirlemek için iki yönlü tekrarlanan ölçüm ANOVA kullanıldı. Bakınız Şekil 7.

Kaydedilen EMG aktivitesinin bir dizi özelliği analiz edildi. Oksitosinin aktarımından 25 EMG aktivitesinin ilk atağına kadar geçen süreyle (gecikme) ilgili olarak, akciğerler vasıtasıyla aktarım, IM aktarımının aksine ilk kasılma için daha hızlı bir başlangıç zamanıyla sonuçlanır (Şekil 8a). EMG aktivitesinin ilk atağının uzunluğunda hiç fark görülmedi (Şekil 8b) ve aktivitenin ilk atağından sonraki ilk 30 dakika boyunca meydana gelen atakların sayısında da bir fark yoktu (Şekil 8). Ancak, EMG aktivitesinin toplam 30 süresi oksitosinin IM'si için, hava yolu aktarımına kıyasla anlamlı şekilde daha uzundu ve doğumdan hemen sonra normal aktivite gözlemlendi (Şekil 8).

Bu *in vivo* çalışmalar, pulmoner aktarım vasıtasıyla verilen oksitosine rahim kasılma 35 yanıtlarının, ortalama olarak yaklaşık 250 saniye sonra meydana gelen IM aktarımının aksine ortalama olarak yaklaşık 120 saniye sonra meydana geldiğini ortaya

koymaktadır. Şaşırtıcı bir şekilde, toz pulmoner aktarımın eylem başlangıcı intramüsküler aktarıma kıyasla kayda değer şekilde daha hızlıydı ve ayrıca plazmaya karşılık zaman profilleriyle de tutarlıydı. Eylemin ortalama başlangıcı IM için olandan yaklaşık %50 daha azdı. Bu, kuru toz partiküllerinin yaklaşık %30 oranında yetersiz çözünür ve hidrofob bir amino asit olan lösin içermesine ve bunun çözünmeyi geciktirmesinin beklenmesine rağmen gerçekleşir. Dahası, lösinin önemli bir kısmının tozun yüzeyinde mevcut olacağı da beklenmektedir. 9b numaralı görüntü, bu tip tozun hızlı çözünmesinin bu ortamda beklenmediği kavramını desteklemektedir. Veriler ayrıca pulmoner kuru toz oksitosine rahim kasılma yanıtlarının, rahim aktivitesinin ilk atağının uzunluğuyla ve sonrasındaki otuz dakika boyunca kaydedilen EMG aktivitesi ataklarının toplam sayısı ile gözlemlendiği üzere doğumdan hemen sonraki periyotta doğal olarak görülen aktiviteyi taklit ettiğini de ortaya koymaktadır.

Örnek 6 (istemlerin kapsamı dahilinde değildir)

15

Kuru toz influenza antijen formülasyonu

İnfluenza antijeni olan hemaglutininin (HA) toz numunesi, tozun mg'ı başına 5 µg HA olarak bir antijen yüklemesine sahip bir nihai formülasyon üretmek için ilk olarak sulu bir solüsyonun içine diğer ekşiyanlarla (yani mannitol %45 ağı/ağı, glisin %45 ağı/ağı ve lösin %10 ağı/ağı) çözündürüldü. Bu solüsyon daha sonra bir Buchi 190 laboratuvar püskürtmeli kurutucuda, sonraki püskürtmeli-kurutma koşullarında antijenin bütünlüğü üzerinde ısı stresinin etkisini minimize etmek için nispeten düşük bir sıcaklıkta, yani 70 derece C çıkış sıcaklığında püskürtülerek-kurutuldu: pompa ayarı 6,7 mL/dk; aspiratör, 20 (%100); hava akışı, 800 l/sa. Püskürtülerek-kurutulmuş influenza antijen formülasyonu daha sonra depolama için toplama kabından toplandı.

25

Örnek 7 (istemlerin kapsamı dahilinde değildir)

Kuru toz influenza antijen formülasyonunun biyolojik aktivitesinin test edilmesi yöntemi

30

Aşağıda, aktif protein olarak hemaglutinin (HA) ihtiva eden püskürtülerek kurutulmuş kuru toz influenza antijen formülasyonunun biyolojik aktivitesinin test edilmesi yöntemi tarif edilmektedir. Kuru toz formülasyonundaki HA proteinin bütünlüğünün test edilmesi

35

için hemaglutinasyon tayini (HA tayini) kullanılmaktadır. İlk konusu kuru toz influenza antijen formülasyonu ilk olarak, testten hemen önce fosfat tamponlu salinle (PBS), standart HA protein konsantrasyonu olarak sulandırılır. Sulandırılmış bu solüsyonun küçük bir miktarı daha sonra 96-kuyucuklu bir plakanın birinci kolonu içine yerleştirilir.

5 Solüsyon daha sonra 96-kuyucuklu plaka boyunca seri seyreltmeyle 1:2 oranında seyreltilir. Daha sonra plakanın her bir kuyucuğuna, standart bir kırmızı kan hücresi konsantrasyonuna (yani %1) sahip tavuk kırmızı kan hücresi solüsyonunun standart bir miktarı eklenir. Plaka kırmızı kan hücrelerinin eklenmesinden hemen 30 dakika sonra oda sıcaklığında inkübe edilir. Bozulmamış HA proteini kırmızı kan hücrelerinin

10 hemaglutinasyonuna neden olacağından, HA ihtiva eden solüsyonun 30 dakikada artık hemaglutinasyona neden olamamasından önce sürdürebildiği seyreltme seviyesi, formülasyondaki bozulmamış HA proteini miktarını gösterecektir. Antijenin, bu prosedürün sınırları dahilinde %95 fazla aktif olduğu bulundu.

15 **Örnek 8**

Partiküllerin kohezyon ölçümü ve tercih edilen kohezyon değerleri.

Aygıt ve materyaller

20

Kullanılan aygıt, FT4 FREEMAN Rheometer ünitesinin (Freeman Technology, BK) parçası olarak 1 mL kesme hücre modülü ve bacalı piston ve bilgisayar kullanıcı arayüzü ve 1 mL kesme hücre koşullama modülüydü. Kullanılan materyaller şunlardı; ağ/ağ_lösin/mannitol %1:99, ağ/ağ_lösin/mannitol %3:97, ağ/ağ_lösin/mannitol %5:95

25 ve ağ/ağ_leu/mannitol %10:90. Bu tozlar, yukarıdaki Örnek 1'deki koşullar izlenerek üretildi.

Bir toz numunesi hücrenin içine yüklendi ve koşullandı. Koşullama esnasında, tüm numune boyunca hareket ettikçe tozun nazikçe karıştırılması için 1 mL kesme hücre

30 koşullama modülü kullanıldı. Bunun amacı, fazla havayı ve izole ön-kompakt toz partiküllerini yok ederek tozun homojenleştirilmesiydi. Koşullamadan sonra, toz sıkıştırıldı. Bu, düzgün partikül-partikül etkileşimlerini temin etmek amacıyla düz-yüzeyle bacalı piston tarafından gerçekleştirildi. Sıkıştırmayı kesme izledi. Kesme esnasında, 24 mm'lik bir kesme hücresi (taban, kaydırma, ayırma şimi ve kesme hücresi

35 modülünün bir ünite bileşeni) kullanıldı. 18 bıçak içerek kesme kafası, normal kesme

stresini indükleyerek dikey olarak aşağı hareket ederken kesme kafası bıçakları toz yüzeyini deldi. Kesme stresi daha sonra ölçüldü ve toz kesme stresine direnemediğinde maksimumdaydı. Normal strese karşı kesme stresinin grafiği FT4 FREEMAN entegre yazılım tarafından üretildi. Grafikten, tahmini γ -kesişmesi tozun yapışkanlığını sıfır konsolidasyonda sağlar. Ffc [ana temel stresin (konsolidasyon stresi), σ serbest randıman direncine, σ_c oranı] verisi de kaydedildi.

Tablo 5

Numune	Ortalama Kohezyon (kPa)	Akıcılık (ffc)
%1 Lössin	3,4	1,4
%3 Lössin	2,4	2
%5 Lössin	2,3	2
%10 Lössin	1,4	2,9

10 %1 ila 10 arasında lösin içeriğinden, lösin içeriğinde bir artış kohezyonu azaltır ve akıcılık parametresini (ffc) geliştirir.

Bu deney daha sonra, benzer koşulları altında üretilen ve test edilen püskürtülerek kurutulmuş lösin ve PVP kullanılarak tekrarlandı. Sonuçları aşağıdaki gibiydi:

15

Tablo 6

Numune	Ortalama Kohezyon (kPa)
%0 Lössin	4.0
%2 Lössin	3.5
%4 Lössin	3.4
%8 Lössin	1.2
%10 Lössin	1.2
%20 Lössin	0.7

Örnek 9

Yüzey enerji ölçümleri

Numuneler

- 5 İki parti toz, örnek 1'de tarif edilen koşullar kullanılarak sudan püskürtülerek kurutuldu ancak burada tozlar saf mannitol veya ağ/ağ %10 L-lösin ilaveli mannitol bileşimleri içerdi.

Ters gaz kromatografisi ile yüzey enerjisi belirlenmesi

10

Bu tozların yüzey enerjileri, Inverse Gas Chromatography (Ters Gaz Kromatografisi) (IGC, Surface Measurement Systems Ltd, ve Londra, BK) kullanılarak belirlendi. Her bir tozun yaklaşık 0,33 gramı, her iki uçta silanlanmış cam yünüyle gevşekçe tıkanmış önceden-silanlanmış cam kolonların (300 mm x 3 mm iç çap) içine paketleni.

15 kolonlar, yüzey safsızlıklarının giderilmesi amacıyla her ölçümden önce 2 saat süreyle 303 K'de koşullandı. Proplar kolonun içine, 10 sccm'lik (dakikada standart santimetreküp) bir gaz akış hızıyla helyum tarafından taşındı ve tutulum süreleri bir alev iyonlaştırma detektörüyle saptandı. Ölü hacim metanın, 0.1 p/p⁰lik bir konsantrasyonda çalıştırılan ayırma süresine dayalı olarak hesaplandı (burada p kısmi

20 basıncı ve p⁰ buhar basıncını simgelemektedir).

Sürekli seyreltmede yüzey enerjisi belirlenmesi:

- 25 Polar-olmayan yüzey enerjisi (γ^{NP}) için (tamamı Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, Almanya firmasından) GC sınıfı heksan, heptan, oktan, nonan ve dekan ve polar yüzey enerjisi için iki polar prob (yani, diklorometan ve etil asetat), 0,03 p/p⁰lık bir konsantrasyonda kullanıldı. γ^P hesaplamasının ayrıntıları başka yerlerde tarif edilmiştir (Thielmann et al., Investigation of the acid-base properties of an MCM-supported ruthenium oxide catalyst by inverse gas chromatography and dynamic vapour sorption.
- 30 Jackson, S.D., Hargreaves, J.S.J., Lennon, D., editors. Catalysis in application Great Britain, Royal Soc. Chem., p 237 (2003) ve Traini et al., Drug Development and Industrial Pharmacy 34: 992-1001 (2008). Şekil 1, sürekli seyreltmede yüzey enerji katkılarını göstermektedir.

Toplam yüzey enerjisi (γ^T) polar-olmayan (γ^{NP}) ve polar katkıların (γ^P) ek sonucuydu (Grimsey et al., Journal of Pharmaceutical Sciences 91: 571-583 (2002). Kohezyon çalışması (W_{co}) hesaplandı (bakınız Vanoss et al., Langmuir 4: 884-891 (1988) ve Tay, et al., International Journal of Pharmaceutics (Kidlington) 383: 62-69 (2010). Bu deneyler üç kopya halinde gerçekleştirildi.

Bitimli seyreltmede yüzey enerji dağılımları ve yüzey alanı belirlenmesi:

Polar-olmayan yüzey enerjisinin dağıtım profilleri (γ^{NP} profili), başka yerlerde tarif edilen yöntemle göre belirlendi (F. Thielmann et al., Drug Development and Industrial Pharmacy 33: 1240-1253 (2007) ve Yla-Maihaniemi, et al., Langmuir 24: 9551-9557 (2008)). Bu Şekil 10'da gösterilmektedir. Tüm kapsamalardaki polar-olmayan yüzey enerjileri lösün ihtiva eden toz için net şekilde azalır ve bu durumda %1'lik bir kapsama seviyesinde %30'dan fazla bir azalma gösterir. Polar yüzey enerjisi dağılımı Şekil 11'de gösterilmektedir.

Brunauer-Emmet-Teller (BET) yüzey alanı heksan adsorpsiyon izotermelerinden hesaplandı. Adzorbe edilen miktarın (n) tek katmana kapasitesine (n_m , tek katman kapsama için adzorbe edilen probun mol sayısı) bölünmesiyle, yüzey kapsama (n/n_m) hesaplandı. Her bir yüzey kapsamasında, net tutulum hacmi (V_N) her bir prob için hesaplandı. Polar-olmayan yüzey enerjisi (γ^{NP}) $RT \ln V_N$ 'nin bir çizgisinin, alkanların bir $\sqrt{\gamma^{NP}}$ 'sine karşı eğiminden ($2 N_A \sqrt{\gamma^{NP}}$) hesaplandı. γ^P ve γ^T her bir yüzey kapsamasında hesaplandı ve daha sonra dağıtım profilleri (Das et al. Langmuir 27: 521-523 (2011a)'da tarif edildiği üzere) yapılandırıldı.

Şekiller 12 ve 13, hesaplanan toplam yüzey enerjisi dağılımlarının ve kohezyonun çalışmasının da, lösünün eklendiği durumda yaklaşık %1'lik bir yüzey kapsamasında büyük ölçüde, örneğin %20 veya daha fazla bir oranda azaldığını göstermektedir.

Örnek 10

Diğer formülasyonların in vivo testi

Örnek 5'e göre tek bir hamile koyun, EMG elektrotlarının ve kan alımına olanak sağlamak için bir kateterin implante edilmesi için ameliyatla hazırlandı. Doğumun

indüklenmesi ameliyatla aynı gün, yine örnek 5'te ortaya konulan yöntemle göre başladı. Doğuma giriş ve doğum, indükleme periyodunun başlangıcından 2 gün sonra meydana geldi.

- 5 Aşağıda ayrıntılı olarak verildiği şekilde oksitosin verilişleri doğumun 22 saati içinde başlatıldı. Her bir tedavi arasında bir buçuk saatlik bir arınma periyodu vardı.

- İntratrakeal veriliş için, geniz yolu üzerinden soluk borusunun içine bir endoskop geçirildi ve birinci bronşiyal ayrıma yakın konumlandırıldı ve burada modifiye bir
10 PennCentury doz aktarım cihazı yoluyla (aşağıda ayrıntılı olarak anlatıldığı şekilde) kuru tozun bir dozu aktarıldı. Akciğere kuru toz aktarımına ek olarak (örnek 5'e göre) oksitosinin bir intramüsküler enjeksiyonu da aktarıldı.

- Kuru toz formülasyonları, örnek 1'de tarif edilen şekilde yapılan püskürtmeyle
15 kurutulmuş bileşimler içerdi. Normal aktarılan dozla birlikte bu tozların bileşimleri Tablo 7'de gösterilmektedir. Gecikme, yani oksitosinin aktarımından EMG aktivitesinin ilk atağına geçen süre de Tablo 7'de gösterilmektedir. Bu dört doz için EMG izleri Şekiller 15 ve 16'da gösterilmektedir.

20

Tablo 7

Doz No	Oksitosin Dozu	Mannitol %ağ/ağ	Glisin %ağ/ağ	Trehaloz %ağ/ağ	PVP(30) %ağ/ağ	Lösin %ağ/ağ	Gecikme (sn)	
1	200 IU	33,3	33,3			33,3	181	
2	200 IU			90		10	65	
3	200 IU				90	10	150	
4	10 IU	1 ml intramüsküler enjeksiyon						232

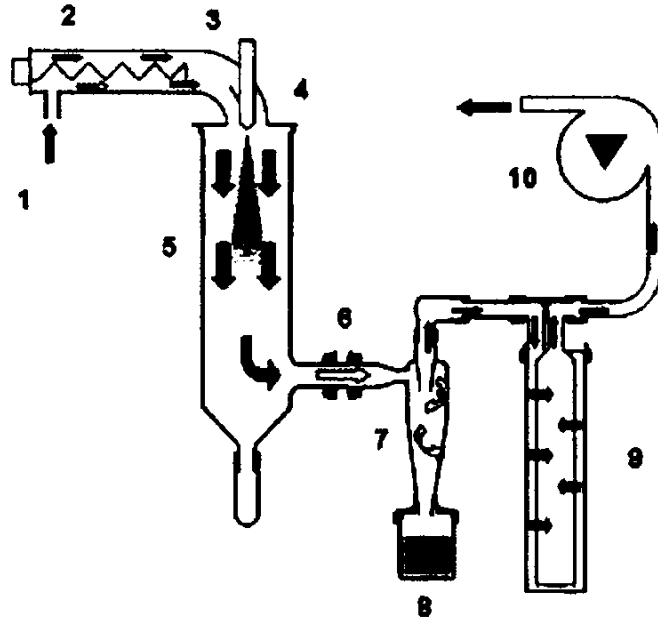
- Şaşırtıcı bir şekilde, toz pulmoner aktarımından eylem başlaması intramüsküler aktarıma kıyasla kayda değer şekilde daha hızlıydı ve ayrıca plazmaya karşılık süre profilleriyle de tutarlıydı. Veriler ayrıca, hızlı yanıtın, polioller, şekerler, amino asitler ve
25 polimerler gibi çeşitli ekspiyanlarla yapılan kuru toz formülasyonlarıyla elde edilebileceğini de göstermektedir. Bu, kuru toz partiküllerinin %10 ila 30 arasında yetersiz çözünür ve hidrofob bir amino asit olan lösin içermesine ve bunun çözünmeyi

geciktirmesinin beklenmesine rağmen gerçekleşir. Dahası, lösünün önemli bir kısmının tozun yüzeyinde mevcut olacağı da beklenmektedir.

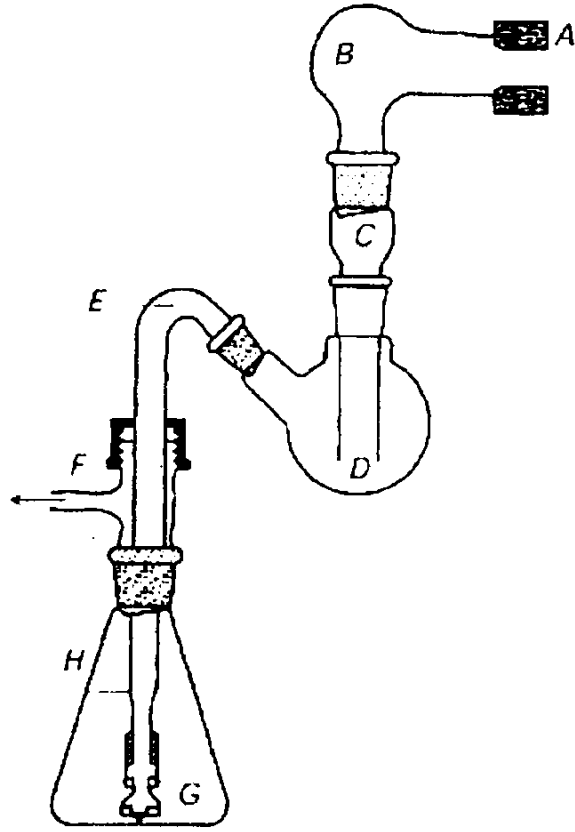
5 Bu spesifikasyon ve sonrasındaki istemler boyunca, metin aksini gerektirmediği sürece, “içerme” sözcüğü ve “içerir” ve “içeren” gibi varyasyonları, belirtilen bir tamsayının veya adımın ya da tamsayıların veya adımların grubunun dahil olduğu ancak herhangi bir diğer tamsayı ya da adımın veya tamsayıların ya da adımların grubunun hariç tutulmadığı anlamına geliyor olarak anlaşılacaktır.

10 Herhangi bir yayına (veya bundan türetilen bilgiye) veya herhangi bir konuya bu spesifikasyonda yapılan atıf, önceki yayının (veya bundan türetilen bilginin) veya bilinen konunun, bu spesifikasyonun ilgili olduğu çalışma alanındaki ortak genel bilginin bir parçasını oluşturduğunun bir onaylanması veya kabulü ya da herhangi bir öneri biçimi değildir ve bu şekilde alınmamalıdır.

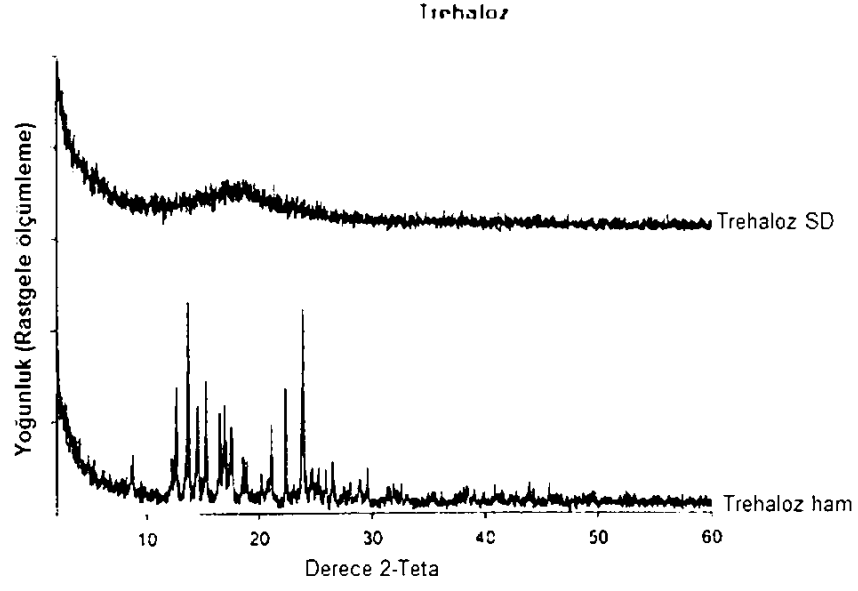
15

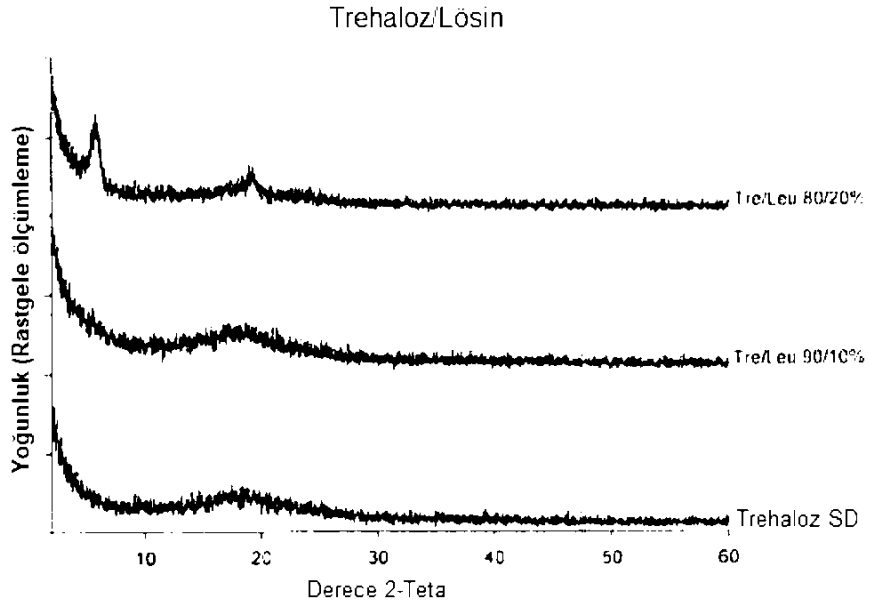


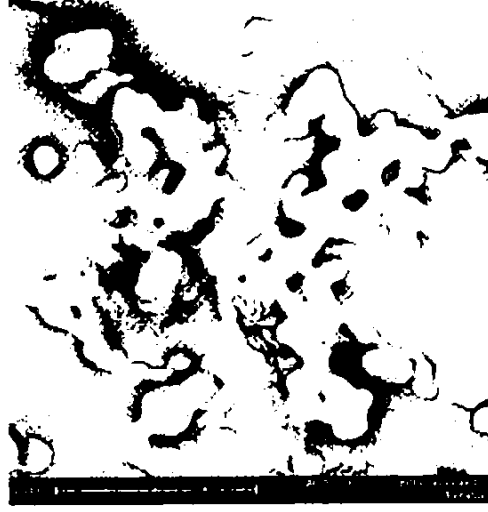
Şekil 1



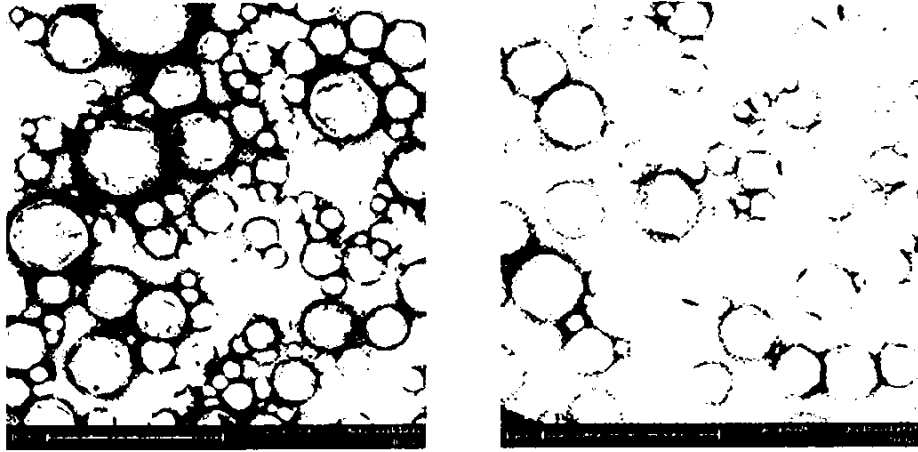
Şekil 2

**Şekil 3**

**Şekil 4**



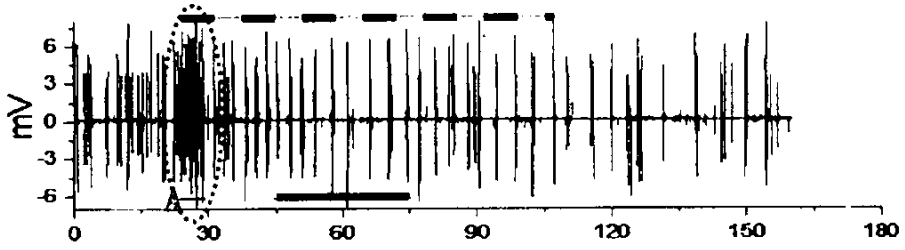
Şekil 5



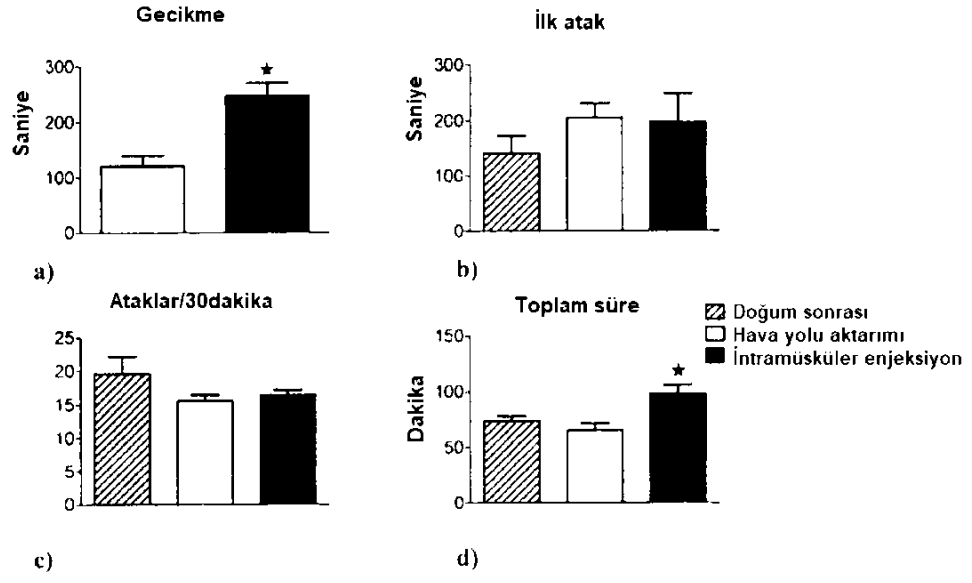
(a)

(b)

Şekil 6



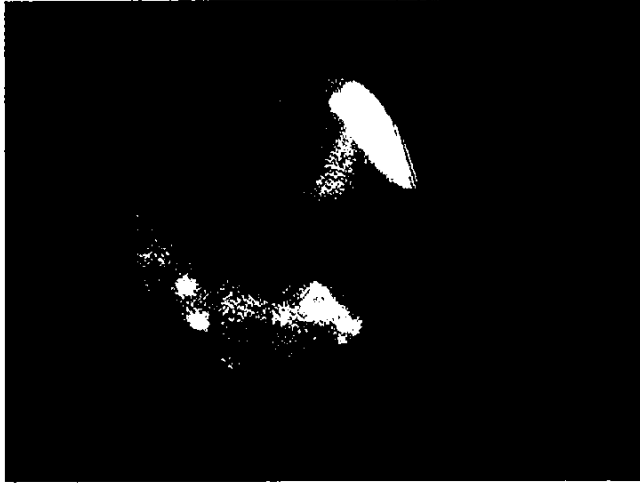
Şekil 7



Şekil 8

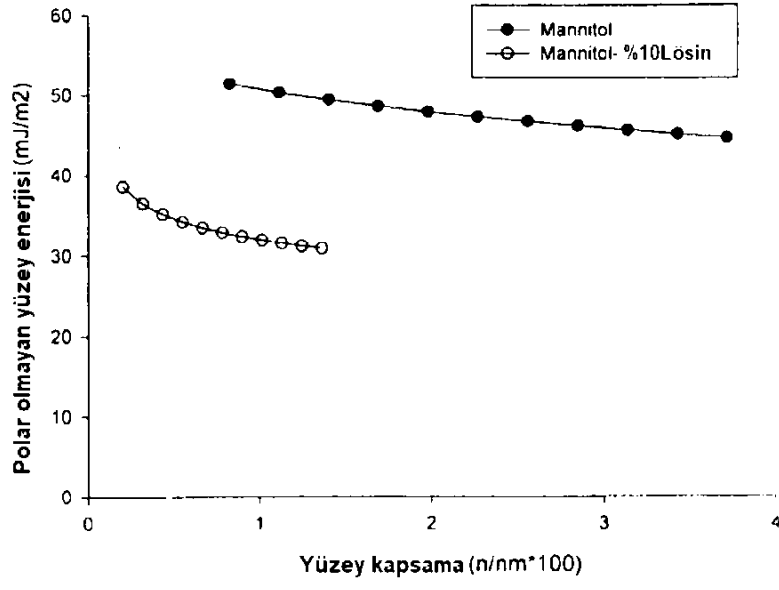


(a)

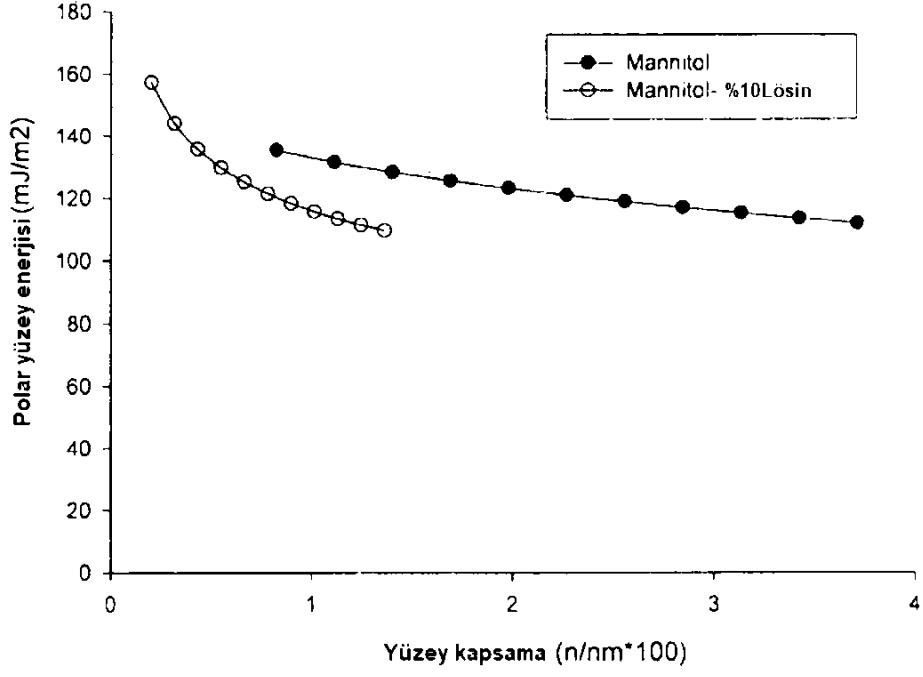


(b)

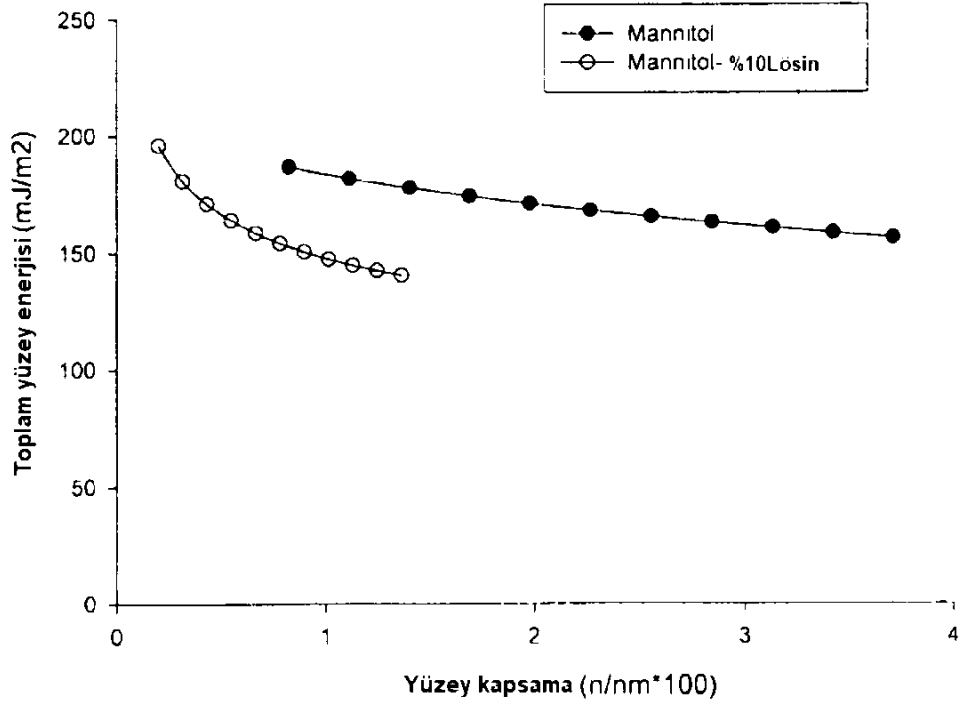
Şekil 9



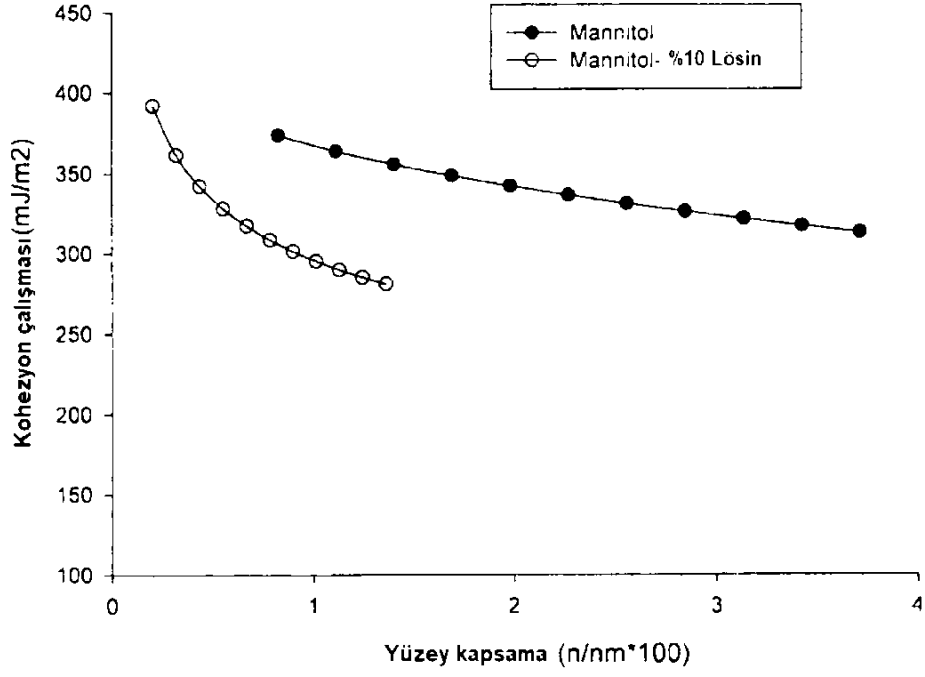
Şekil 10



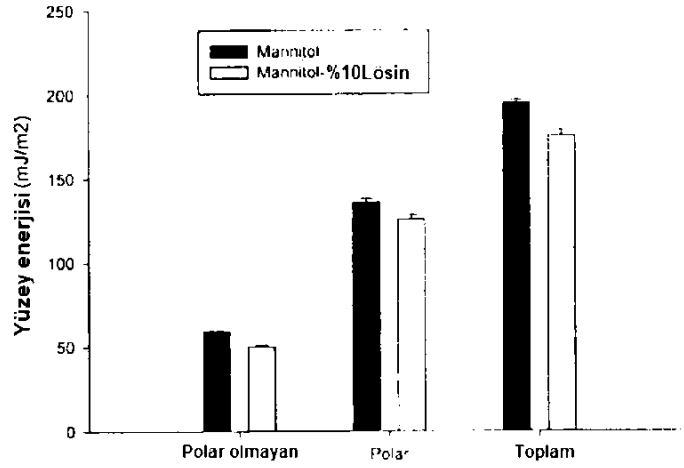
Şekil 11



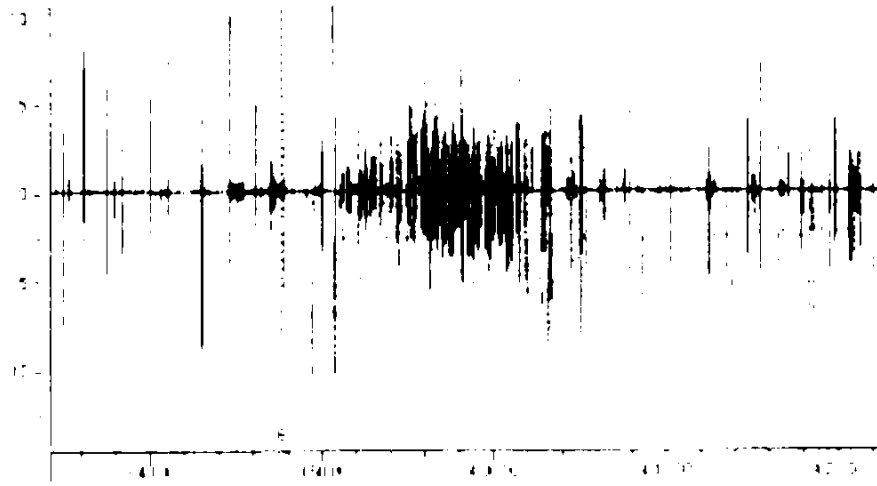
Şekil 12



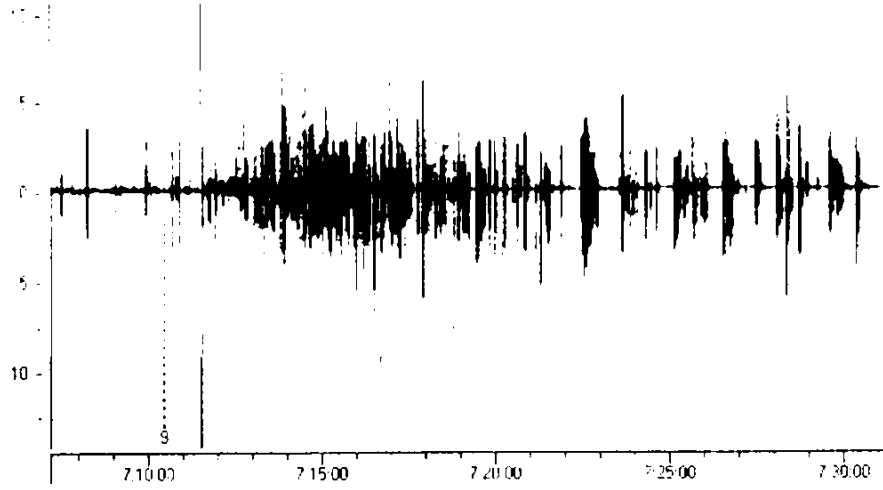
Şekil 13



Şekil 14

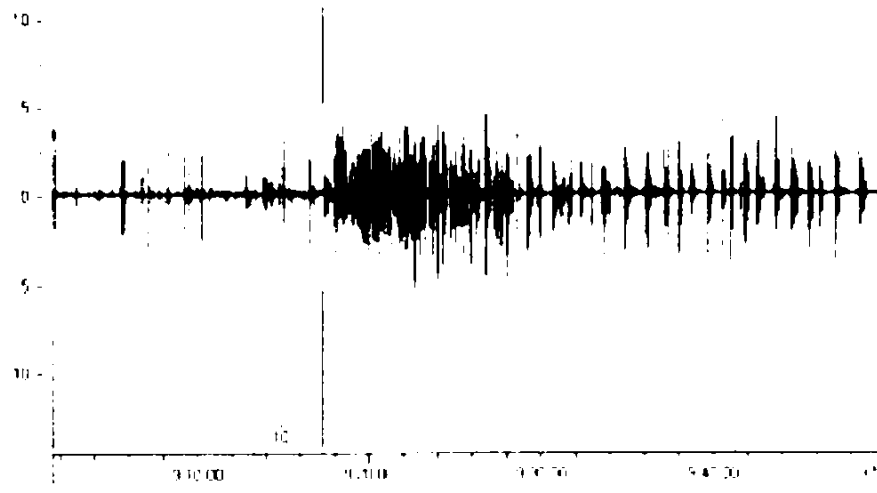


a)

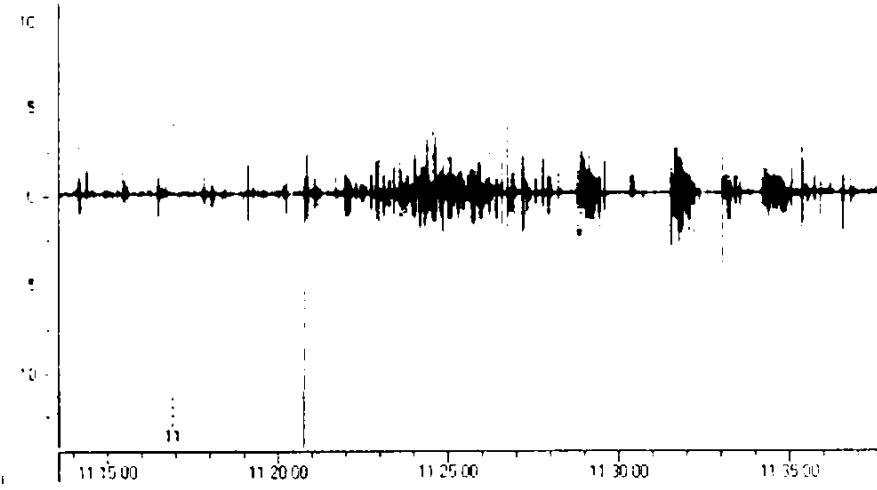


b)

Şekil 15



a)



b)

Şekil 16