

SIB EX5579R

P36730SM-EPC-PCT [M&S-IRN.FID4741194]

Traduzione in lingua italiana del Brevetto Europeo

domanda n° 09789142.8, pubblicazione n° 2328601

a nome di Ironwood Pharmaceuticals, Inc.

di 301 Binney Street, Cambridge, Massachusetts A 02142, U.S.A.

“FORMULAZIONI CONTENENTI LINACLOTIDE PER LA SOMMINISTRAZIONE ORALE”

Jacopo de Benedetti
USBM-043R B

Descrizione

CAMPO

La presente divulgazione riguarda formulazioni solide di un polipeptide agonista del recettore della guanilato ciclastasi C idonee per la somministrazione orale, e metodi per preparare tali formulazioni.

FONDAMENTO

Molti polipeptidi terapeutici sono formulati in soluzione acquosa perché la loro attività è massima in questa forma. Andersen et al. *Gastroenterology*. 133, 3. 2007. 761-768, Andresen-V. et al. 33, 7. 2008. 570-576 e Forest Microbia. *Communication of Microbia*. 2008. 1-4 divulgano modalità di somministrazione diversificate del linaclotide. Tuttavia, la maggior parte dei polipeptidi non è particolarmente stabile in soluzione acquosa, in modo tale che le formulazioni spesso avranno un'emivita breve e richiederanno la refrigerazione. Sebbene le soluzioni acquose di polipeptidi possano essere essiccate mediante crioessiccazione, essiccazione a spruzzo, o altri metodi, anche tali formulazioni essiccate possono essere instabili e avere un'attività ridotta rispetto a una soluzione acquosa del polipeptide. Meccanismi di deterioramento tipici che avvengono in formulazioni sia in soluzione acquosa sia essiccate includono l'aggregazione e la degradazione ossidativa o idrolitica. Pertanto, la maggioranza dei polipeptidi terapeutici, siano essi in soluzione acquosa o essiccati, viene conservata in condizioni refrigerate a causa della loro stabilità limitata.

Il linaclotide è un peptide avente la sequenza amminoacidica Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr che attiva il recettore della guanilato ciclastasi C (GC-C). Il linaclotide, il quale può venire somministrato per via orale, è utile per il trattamento di disturbi e condizioni gastrointestinali, comprese sindrome dell'intestino irritabile (SII) e costipazione cronica (CC). Le formulazioni comprendenti il linaclotide necessitano di essere refrigerate per evitare la degradazione nel tempo. Tuttavia, la refrigerazione è scomoda sotto il profilo sia della distribuzione commerciale del farmaco sia della conservazione da parte dei pazienti. Pertanto, sussiste l'esigenza di avere una formulazione di linaclotide solida che sia stabile a temperatura ambiente per almeno 12 mesi.

SOMMARIO

La presente invenzione è rivolta a composizioni farmaceutiche e a materia correlata, come definito dalle rivendicazioni allegate.

Più in generale, la presente divulgazione fornisce formulazioni stabili solide di linaclotide idonee per la somministrazione orale, nonché metodi per preparare tali formulazioni. Le formulazioni descritte nel presente documento contengono un polipeptide costituito dalla sequenza amminoacidica Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asn Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr ("linaclotide") o da un suo sale farmaceuticamente accettabile secondo la rivendicazione 1.

Le formulazioni di linaclotide descritte nel presente documento sono stabili e hanno una durata di conservazione sufficiente per la produzione, la conservazione e la distribuzione del farmaco. Per esempio, è previsto che le formulazioni descritte nel presente documento abbiano una durata di conservazione di almeno 12 mesi in condizioni di conservazione a temperatura ambiente (per es., 25°C/60% di umidità relativa (RH)). In ulteriori forme di attuazione, è previsto che le formulazioni descritte nel presente documento abbiano una durata di conservazione di almeno 18 mesi o di almeno 24 mesi in condizioni di conservazione a temperatura ambiente (per es., 25°C/60% RH).

In alcune forme di attuazione, sono descritte formulazioni in cui $\geq 95\%$ della quantità originale di linaclotide nella composizione rimane dopo tre mesi quando i campioni confezionati vengono conservati in condizioni accelerate (40°C/75% RH) quando sono valutati in un saggio su base peso/peso, come determinato mediante cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC) contro uno standard di riferimento di linaclotide. In ulteriori forme di attuazione, $\geq 90\%$ della quantità originale di linaclotide nella composizione rimane dopo almeno 6 mesi quando i campioni confezionati vengono conservati in condizioni accelerate (40°C/75% RH). In altre forme di attuazione, sono descritte formulazioni in cui la purezza cromatografica del linaclotide, come determinata mediante HPLC come percentuale di area, rimane a $\geq 95\%$ nel corso di almeno tre mesi quando i campioni confezionati vengono conservati in condizioni accelerate (40°C/75% RH). In ulteriori forme di attuazione, la purezza cromatografica del linaclotide, come determinata mediante HPLC come percentuale di area, rimane a $\geq 90\%$ nel corso di almeno 6 mesi quando i campioni confezionati vengono conservati in condizioni accelerate (40 °C/75% RH). Per esempio,

quindi, non più di circa il 10% del linaclotide subisce una degradazione in altri prodotti come un prodotto di ossidazione del linaclotide, un prodotto di idrolisi del linaclotide o un prodotto imminico mediato da formaldeide del linaclotide ("prodotto imminico da formaldeide").

In una forma di attuazione, la divulgazione comprende una composizione farmaceutica comprendente linaclotide, in cui la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 10% dopo 18 mesi o 24 mesi di conservazione della composizione farmaceutica a 25°C con il 60% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'ulteriore forma di attuazione, la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 9%, dell'8%, del 7%, del 6%, del 5%, del 4% o del 2% dopo 18 mesi o 24 mesi di conservazione della composizione farmaceutica a 25°C con il 60% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'altra forma di attuazione, la divulgazione comprende una composizione farmaceutica comprendente linaclotide, in cui la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 10% dopo 3 mesi o 6 mesi di conservazione della composizione farmaceutica a 40°C con il 75% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'ulteriore forma di attuazione, la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 9%, dell'8%, del 7%, del 6%, del 5%, del 4% o del 2% dopo 3 mesi o 6 mesi di conservazione della composizione farmaceutica a 40°C con il 75% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante.

In una forma di attuazione, la divulgazione comprende una forma di dosaggio unitario di una composizione farmaceutica comprendente linaclotide, in cui la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 10% dopo 18 mesi o 24 mesi di conservazione della forma di dosaggio unitario a 25°C con il 60% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'ulteriore forma di attuazione, la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 9%, dell'8%, del 7%, del 6%, del 5%, del 4% o del 2% dopo 18 mesi o 24 mesi di conservazione della forma di dosaggio unitario a 25°C con il 60% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'altra forma di attuazione, la divulgazione comprende una forma di dosaggio unitario di una composizione farmaceutica comprendente linaclotide, in cui la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 10% dopo 3 mesi o 6 mesi di conservazione della forma di

dosaggio unitario a 40°C con il 75% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'ulteriore forma di attuazione, la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 9%, dell'8%, del 7%, del 6%, del 5%, del 4% o del 2% dopo 3 mesi o 6 mesi di conservazione della forma di dosaggio unitario a 40°C con il 75% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante.

In una forma di attuazione, la divulgazione comprende un contenitore sigillato comprendente una pluralità di forme di dosaggio unitario di una composizione farmaceutica comprendente linaclotide, in cui la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 10% dopo 18 mesi o 24 mesi di conservazione del contenitore sigillato contenente un essiccante a 25°C con il 60% di umidità relativa. In un'ulteriore forma di attuazione, la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 9%, dell'8%, del 7%, del 6%, del 5%, del 4% o del 2% dopo 18 mesi o 24 mesi di conservazione del contenitore sigillato contenente un essiccante a 25°C con il 60% di umidità relativa. In un'altra forma di attuazione, la divulgazione comprende un contenitore sigillato comprendente una pluralità di forme di dosaggio unitario di una composizione farmaceutica comprendente linaclotide, in cui la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 10% dopo 3 mesi o 6 mesi di conservazione del contenitore sigillato contenente un essiccante a 40°C con il 75% di umidità relativa. In un'ulteriore forma di attuazione, la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 9%, dell'8%, del 7%, del 6%, del 5%, del 4% o del 2% dopo 3 mesi o 6 mesi di conservazione del contenitore sigillato contenente un essiccante a 40°C con il 75% di umidità relativa.

In una forma di attuazione, la divulgazione comprende una composizione farmaceutica comprendente linaclotide, in cui il valore di saggio per il linaclotide determinato su base peso/peso diminuisce di meno del 10% dopo 18 mesi o 24 mesi di conservazione della composizione farmaceutica a 25°C con il 60% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'ulteriore forma di attuazione, il valore di saggio per il linaclotide determinato su base peso/peso diminuisce di meno del 9%, dell'8%, del 7%, del 6%, del 5%, del 4%, del 3%, del 2% o dell'1% dopo 18 mesi o 24 mesi di conservazione della composizione farmaceutica a 25°C con il 60% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'altra forma di attuazione, la divulgazione comprende una composizione farmaceutica comprendente linaclotide, in cui il valore di saggio per

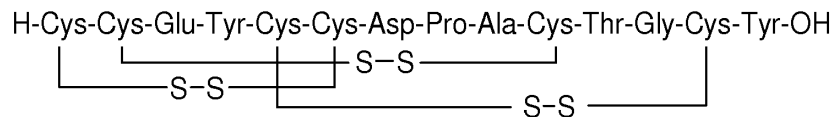
il linaclotide determinato su base peso/peso diminuisce di meno del 10% dopo 3 mesi o 6 mesi di conservazione della composizione farmaceutica a 40°C con il 75% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'ulteriore forma di attuazione, la purezza cromatografica del linaclotide diminuisce di meno del 9%, dell'8%, del 7%, del 6%, del 5%, del 4%, del 3%, del 2% o dell'1% dopo 3 mesi o 6 mesi di conservazione della composizione farmaceutica a 40°C con il 75% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante.

In una forma di attuazione, la divulgazione comprende una forma di dosaggio unitario di una composizione farmaceutica comprendente linaclotide, in cui il valore di saggio per il linaclotide determinato su base peso/peso diminuisce di meno del 10% dopo 18 mesi o 24 mesi di conservazione della forma di dosaggio unitario a 25°C con il 60% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'ulteriore forma di attuazione, il valore di saggio per il linaclotide determinato su base peso/peso diminuisce di meno del 9%, dell'8%, del 7%, del 6%, del 5%, del 4%, del 3%, del 2% o dell'1% dopo 18 mesi o 24 mesi di conservazione della forma di dosaggio unitario a 25°C con il 60% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'altra forma di attuazione, la divulgazione comprende una forma di dosaggio unitario di una composizione farmaceutica comprendente linaclotide, in cui il valore di saggio per il linaclotide determinato su base peso/peso diminuisce di meno del 10% dopo 3 mesi o 6 mesi di conservazione della forma di dosaggio unitario a 40°C con il 75% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'ulteriore forma di attuazione, il valore di saggio per il linaclotide determinato su base peso/peso diminuisce di meno del 9%, dell'8%, del 7%, del 6%, del 5%, del 4%, del 3%, del 2% o dell'1% dopo 3 mesi o 6 mesi di conservazione della forma di dosaggio unitario a 40°C con il 75% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante.

In una forma di attuazione, la divulgazione comprende un contenitore sigillato comprendente una pluralità di forme di dosaggio unitario di una composizione farmaceutica comprendente linaclotide, in cui il valore di saggio per il linaclotide determinato su base peso/peso diminuisce di meno del 10% dopo 18 mesi o 24 mesi di conservazione del contenitore sigillato a 25°C con il 60% di umidità relativa in un contenitore sigillato contenente un essiccante. In un'ulteriore forma di attuazione, il valore di saggio per il linaclotide determinato su base peso/peso diminuisce

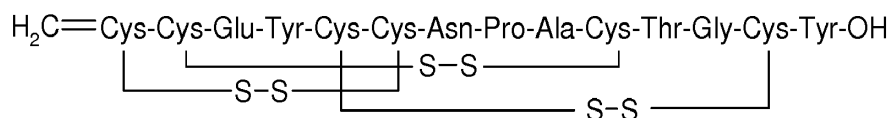
di meno del 9%, dell'8%, del 7%, del 6%, del 5%, del 4%, del 3%, del 2% o dell'1% dopo 18 mesi o 24 mesi di conservazione del contenitore sigillato contenente un essiccante a 25°C con il 60% di umidità relativa. In un'altra forma di attuazione, la divulgazione comprende un contenitore sigillato comprendente una pluralità di forme di dosaggio unitario di una composizione farmaceutica comprendente linaclotide, in cui il valore di saggio per il linaclotide determinato su base peso/peso diminuisce di meno del 10% dopo 3 mesi o 6 mesi di conservazione del contenitore sigillato contenente un essiccante a 40°C con il 75% di umidità relativa. In un'ulteriore forma di attuazione, il valore di saggio per il linaclotide determinato su base peso/peso diminuisce di meno del 9%, dell'8%, del 7%, del 6%, del 5%, del 4%, del 3%, del 2% o dell'1% dopo 3 mesi o 6 mesi di conservazione del contenitore sigillato contenente un essiccante a 40°C con il 75% di umidità relativa.

In alcune forme di attuazione, viene fornita una composizione farmaceutica comprendente linaclotide e un prodotto di idrolisi comprendente:



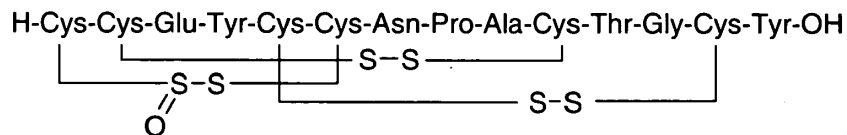
In alcune forme di attuazione, il prodotto di idrolisi comprende meno di circa il 15% in peso della composizione, meno di circa il 10% in peso della composizione, meno di circa il 7% in peso della composizione o meno di circa il 5% in peso della composizione. In altre forme di attuazione, il prodotto di idrolisi comprende da circa lo 0,01% a circa il 15% in peso della composizione, da circa lo 0,05% a circa il 10% in peso della composizione, da circa lo 0,05% a circa il 7% in peso della composizione o da circa lo 0,05% a circa il 5% in peso della composizione. In ulteriori forme di attuazione, viene fornito un metodo per il trattamento di un disturbo gastrointestinale in un paziente che ne ha bisogno, comprendente somministrare una composizione farmaceutica comprendente linaclotide e un prodotto di idrolisi.

In alcune forme di attuazione, viene fornita una composizione farmaceutica comprendente linaclotide e un prodotto imminico da formaldeide comprendente:



In alcune forme di attuazione, il prodotto imminico da formaldeide comprende meno di circa il 15% in peso della composizione, meno di circa il 10% in peso della composizione, meno di circa il 7% in peso della composizione o meno di circa il 5% in peso della composizione. In altre forme di attuazione esemplificative, il prodotto imminico da formaldeide comprende da circa lo 0,01% a circa il 15% in peso della composizione, da circa lo 0,05% a circa il 10% in peso della composizione, da circa lo 0,05% a circa il 7% in peso della composizione o da circa lo 0,05% a circa il 5% in peso della composizione. In ulteriori forme di attuazione, viene fornito un metodo per il trattamento di un disturbo gastrointestinale in un paziente che ne ha bisogno, comprendente somministrare una composizione farmaceutica comprendente linaclotide e un prodotto imminico da formaldeide.

In alcune forme di attuazione, viene fornita una composizione farmaceutica comprendente linaclotide e un prodotto di ossidazione del linaclotide. In una forma di attuazione, il prodotto di ossidazione del linaclotide ha un peso molecolare di 1542,8, il quale verosimilmente si forma come aggiunta di un singolo atomo di ossigeno a uno dei sei atomi di zolfo cisteinilico nel linaclotide. Di seguito viene illustrata una struttura potenziale del prodotto, sebbene l'esperto del ramo riconoscerà che l'atomo di ossigeno può essere attaccato a uno qualsiasi degli altri cinque atomi di zolfo:



In un'altra forma di attuazione, è possibile che al linaclotide venga aggiunto più di un atomo di ossigeno, il che aumenterà il suo peso molecolare di 16 U.A. per ciascun atomo di ossigeno aggiunto.

In alcune forme di attuazione, il prodotto di ossidazione del linaclotide comprende meno di circa il 15% in peso della composizione, meno di circa il 10% in peso della composizione, meno di circa il 7% in peso della composizione o meno di circa il 5% in peso della composizione. In altre forme di attuazione esemplificative, il prodotto di ossidazione del linaclotide comprende da circa lo 0,01% a circa il 15% in peso della composizione, da circa lo 0,05% a circa il 10% in peso della composizione, da circa lo 0,05% a circa il 7% in peso della composizione o da circa lo 0,05% a circa il 5% in peso della composizione. In ulteriori forme di attuazione, viene fornito un metodo per il trattamento di un disturbo gastrointestinale in un paziente che ne ha bisogno, comprendente

somministrare una composizione farmaceutica comprendente linaclotide e un prodotto di ossidazione del linaclotide.

È possibile determinare il valore di saggio su base peso/peso ("saggio peso/peso") confrontando, per esempio mediante HPLC, la quantità del linaclotide in un campione, con uno standard di riferimento di linaclotide. Come utilizzato nel presente documento, il peso del linaclotide in una composizione dopo la conservazione a temperatura ambiente o in condizioni accelerate in un punto temporale specificato (per es., tre o sei mesi di conservazione in condizioni accelerate [40°C/75% RH] o 12, 18 o 24 mesi di conservazione in condizioni di temperatura ambiente [25 °C/60% RH]) viene confrontato con il peso del linaclotide in una composizione in un momento iniziale (per es., il momento in cui la composizione farmaceutica viene rilasciata per l'uso clinico o su pazienti ("la data di rilascio")) per fornire il valore di saggio peso/peso. Per esempio, il peso del linaclotide in una composizione viene misurato dopo la conservazione per un tempo specificato in condizioni accelerate (40°C/75% RH), e confrontato con il peso del linaclotide che era presente nel campione alla data di rilascio. In un altro esempio, il peso del linaclotide in una composizione viene misurato dopo la conservazione per un tempo specificato in condizioni di temperatura ambiente (25°C/60% RH), e confrontato con il peso del linaclotide che era presente nel campione alla data di rilascio. Pertanto, l'espressione "≥ 90% della quantità originale del linaclotide nella composizione rimane dopo almeno 6 mesi quando i campioni confezionati vengono conservati in condizioni accelerate (40°C/75% RH)" indica il peso del linaclotide nella composizione misurato in un saggio su base peso/peso, come determinato mediante HPLC dopo almeno 6 mesi di conservazione in condizioni accelerate è di ≥ 90% della quantità di linaclotide nella composizione presente nel momento iniziale (per es., alla data di rilascio della composizione di linaclotide).

La purezza cromatografica del linaclotide può venire valutata eseguendo la HPLC nelle condizioni descritte nel presente documento. L'area sotto il picco di linaclotide viene misurata e confrontata con l'area totale sotto tutti i picchi, ad eccezione del picco di solvente e di eventuali picchi non legati al polipeptide (ovvero picchi associati a eccipienti, che possono essere osservati in un placebo). Come utilizzata nel presente documento, la purezza cromatografica del linaclotide in una composizione dopo la conservazione in condizioni a temperatura ambiente o

accelerate in un punto temporale specificato (per es., a tre o sei mesi di conservazione in condizioni accelerate [40°C/75% RH] o a 12, 18 o 24 mesi di conservazione in condizioni di temperatura ambiente [25 °C/60% RH]), viene confrontata con la purezza cromatografica del linaclotide in una composizione in un momento iniziale (per es., il momento in cui la composizione farmaceutica viene rilasciata per l'utilizzo clinico o sui pazienti ("la data di rilascio")) per fornire il valore della purezza cromatografica. Per esempio, la purezza cromatografica del linaclotide in una composizione viene misurata dopo la conservazione per un tempo specificato in condizioni accelerate (40°C/75% RH), e confrontata con la purezza cromatografica del linaclotide nella composizione alla data di rilascio. In un altro esempio, la purezza cromatografica del linaclotide in una composizione viene misurata dopo la conservazione per un tempo specificato in condizioni di temperatura ambiente (25°C/60% RH), e confrontata con la purezza cromatografica del linaclotide nella composizione alla data di rilascio.

La presente divulgazione presenta un metodo per la preparazione di una composizione farmaceutica comprendente linaclotide o un suo sale farmaceuticamente accettabile, il metodo comprendendo: (a) fornire una soluzione, per es., una soluzione acquosa ("la soluzione di rivestimento"), comprendente: (i) linaclotide o un suo sale farmaceuticamente accettabile; (ii) un catione scelto da Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} e/o un'ammina primaria stericamente impedita (per es., leucina) e, facoltativamente, (iii) un legante farmaceuticamente accettabile; e (b) applicare la soluzione di rivestimento a un riempitivo farmaceuticamente accettabile per generare un riempitivo rivestito con polipeptide (per es., mediante spruzzatura, miscelazione o rivestimento del riempitivo farmaceuticamente accettabile con la soluzione di rivestimento). Facoltativamente, il metodo può includere uno o più di: (i) mescolare il riempitivo rivestito di polipeptide con uno scivolante farmaceuticamente accettabile, un lubrificante farmaceuticamente accettabile o un additivo farmaceuticamente accettabile che agisce come scivolante e lubrificante; (ii) mescolare il riempitivo rivestito di polipeptide con un riempitivo che non è rivestito di polipeptide, (iii) mescolare il riempitivo rivestito di polipeptide con altri additivi; (iv) applicare un additivo di rivestimento farmaceuticamente accettabile al riempitivo rivestito di polipeptide. La composizione farmaceutica finale può venire posta in capsule (per es., capsule di gelatina) o utilizzata per formare compresse.

È stato osservato che un catione scelto da Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} è utile per sopprimere la formazione di un prodotto di ossidazione del linaclotide durante la conservazione. Inoltre, è stato scoperto che un'ammina primaria stericamente impedita, per es., leucina, è utile per sopprimere la formazione di un addotto imminico da formaldeide del linaclotide ("prodotto imminico da formaldeide") durante la conservazione. Pertanto, una formulazione del linaclotide comprendente un catione scelto da Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} (per es., un catione bivalente scelto da Zn^{2+} , Mg^{2+} o Ca^{2+}) e/o un'ammina primaria stericamente impedita, come un amminoacido, ha una durata di conservazione sufficiente (come misurata mediante purezza cromatografica e/o mediante un saggio peso/peso) per la produzione, la conservazione e la distribuzione del farmaco. Inoltre, sebbene la presenza di un'ammina stericamente impedita da sola possa aumentare la formazione di un prodotto di idrolisi del linaclotide durante la conservazione, la combinazione di un'ammina primaria stericamente impedita con un catione, per esempio la combinazione di leucina e Ca^{2+} , sopprime la formazione del prodotto di idrolisi del linaclotide e del prodotto di ossidazione del linaclotide durante la conservazione, portando a una stabilità complessiva anche maggiore, come determinata con un saggio peso/peso o mediante purezza cromatografica.

In alcune forme di attuazione, viene fornita una composizione farmaceutica comprendente un vettore farmaceuticamente accettabile, il linaclotide e uno o più agenti scelti da Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} e un'ammina primaria stericamente impedita, in cui l'agente migliora almeno un attributo della composizione, rispetto a una composizione farmaceutica senza detto agente. In ulteriori forme di attuazione, l'agente è Mg^{2+} , Ca^{2+} o Zn^{2+} . In un'ulteriore forma di attuazione, l'agente è Ca^{2+} . In alcune forme di attuazione, il catione è fornito, in via non limitativa, come acetato di magnesio, cloruro di magnesio, fosfato di magnesio, solfato di magnesio, acetato di calcio, cloruro di calcio, fosfato di calcio, solfato di calcio, acetato di zinco, cloruro di zinco, fosfato di zinco, solfato di zinco, acetato di manganese, cloruro di manganese, fosfato di manganese, solfato di manganese, acetato di potassio, cloruro di potassio, fosfato di potassio, solfato di potassio, acetato di sodio, cloruro di sodio, fosfato di sodio, solfato di sodio, acetato di alluminio, cloruro di alluminio, fosfato di alluminio o solfato di alluminio. In ulteriori forme di attuazione, il catione viene fornito come cloruro di magnesio, cloruro di calcio, fosfato di calcio, solfato di calcio, acetato di zinco, cloruro di manganese, cloruro di potassio, cloruro di sodio o

cloruro di alluminio. In altre forme di attuazione, il catione viene fornito come cloruro di calcio, cloruro di magnesio o acetato di zinco.

In un'altra forma di attuazione, l'agente è un'ammina primaria stericamente impedita. In un'ulteriore forma di attuazione, l'ammina primaria stericamente impedita è un amminoacido. Ancora in un'altra forma di attuazione, l'amminoacido è un amminoacido presente in natura. In un'altra ulteriore forma di attuazione, l'amminoacido presente in natura è scelto dal gruppo costituito da: istidina, fenilalanina, alanina, acido glutammico, acido aspartico, glutammina, leucina, metionina, asparagina, tirosina, treonina, isoleucina, triptofano, metionina e valina; ancora in un'altra, l'amminoacido presente in natura è leucina, isoleucina, alanina o metionina; in un'altra forma di attuazione, l'amminoacido presente in natura è leucina o metionina; ancora in un'altra, l'amminoacido presente in natura è leucina. In un'altra forma di attuazione, l'ammina primaria stericamente impedita è un amminoacido o un derivato di amminoacido non presente in natura (per es., acido 1-aminocicloesano carbossilico, lantionina o treonina). In un'ulteriore forma di attuazione, l'ammina primaria stericamente impedita è cicloesilammina, 2-metilbutilammina o chitosano.

In altre forme di attuazione, viene fornita una composizione farmaceutica comprendente un vettore farmaceuticamente accettabile, linaclotide, un catione scelto da Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} (per es., un catione bivalente scelto da Zn^{2+} , Mg^{2+} o Ca^{2+}) e un'ammina primaria stericamente impedita. In una forma di attuazione, il catione è Ca^{2+} . In un'altra forma di attuazione, il catione è una miscela di due o tre di Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} (per es., una miscela di due o tre di Zn^{2+} , Mg^{2+} o Ca^{2+}). In un'ulteriore forma di attuazione, la composizione farmaceutica comprende inoltre un legante farmaceuticamente accettabile e/o uno scivolante, un lubrificante o un additivo che agisce sia come scivolante sia come lubrificante e/o come ossidante, farmaceuticamente accettabili. In un'ulteriore forma di attuazione, l'ammina primaria stericamente impedita è un amminoacido. Ancora in un'altra forma di attuazione, l'amminoacido è un amminoacido presente in natura. In un'altra ulteriore forma di attuazione, l'amminoacido presente in natura è scelto dal gruppo costituito da: istidina, fenilalanina, alanina, acido glutammico, acido aspartico, glutammina, leucina, metionina, asparagina, tirosina, treonina, isoleucina, triptofano, metionina e valina; ancora in un'altra, l'amminoacido presente in natura è leucina,

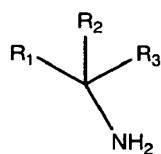
isoleucina, alanina o metionina; in un'altra forma di attuazione, l'aminoacido presente in natura è leucina o metionina; ancora in un'altra, l'aminoacido presente in natura è leucina. In un'altra forma di attuazione, l'ammina primaria stericamente impedita può essere una miscela di più ammine primarie stericamente impedito. Per esempio, l'ammina primaria stericamente impedita può essere una miscela di due o più ammine primarie stericamente impedito, per es., una miscela di due o più amminoacidi.

In alcuni casi, il rapporto molare catione:ammina primaria stericamente impedita:linaclotide (per es., Ca^{2+} :leucina:linaclotide) nella soluzione acquosa applicata al vettore è 5-100:5-50:1. Può essere auspicabile che il rapporto molare catione:ammina primaria stericamente impedita (per es., Ca^{2+} :leucina) sia pari o superiore a 2:1 (per es., tra 5:1 e 2:1). Pertanto, in alcuni casi il rapporto molare catione:ammina primaria stericamente impedita:linaclotide (per esempio, Ca^{2+} :leucina:linaclotide) applicato al vettore è 100:50:1, 100:30:1, 80:40:1, 80:30:1, 80:20:1, 60:30:1, 60:20:1, 50:30:1, 50:20:1, 40:20:1, 20:20:1, 10:10:1, 10:5:1 o 5:10:1. Quando nella soluzione di linaclotide applicata al vettore è presente un legante, per esempio metilcellulosa, esso può essere presente allo 0,5% - 2,5% in peso (per esempio, allo 0,7% - 1,7% o allo 0,7% - 1% o all'1,5% o allo 0,7%).

Il peso del linaclotide applicato a un dato peso di riempitivo (per esempio, cellulosa microcristallina) può variare da circa 0,02:100 a circa 2,67:100. Pertanto, da circa 0,05 mg a circa 6,0 mg di linaclotide possono essere applicati a 225 mg di riempitivo. In un'ulteriore forma di attuazione, il peso del linaclotide applicato a un dato peso di riempitivo è compreso tra circa 0,05 mg e circa 2,0 mg di linaclotide (per esempio, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7 mg di peptide per 225 mg di riempitivo).

In varie forme di attuazione: l'ammina primaria stericamente impedita è un amminoacido (per esempio, un aminoacido presente in natura o un aminoacido presente in natura scelto da istidina, fenilalanina, alanina, acido glutammico, acido aspartico, glutammina, metionina, asparagina, tirosina, treonina, leucina, isoleucina, triptofano o valina). In altri casi, l'ammina primaria stericamente impedita è un amminoacido o derivato di amminoacido non presente in natura (per esempio, lantionina, teanina o 1-aminocicloesano). In altri casi, l'ammina primaria stericamente impedita è uno zucchero amminico (per esempio, chitosano o glucosammina).

In alcuni casi, l'ammina primaria stericamente impedita ha la formula:



in cui R_1 , R_2 e R_3 , in modo indipendente, sono scelti da: H; $-C(O)OH$; alchile C1-C6, facoltativamente sostituito da $-CO_2H$, $-CONH_2$, o un arile o un eteroarile a 5-10 elementi; alcossialchile C1-C6; o tioalcossialchile C1-C6, in cui uno qualsiasi dei gruppi alchilici o arilici di cui sopra può essere sostituito in uno o più modi con alogeno o NH_2 , e a condizione che non più di due di R_1 , R_2 e R_3 siano H. In un'ulteriore forma di attuazione, non più di uno di R_1 , R_2 e R_3 è H.

Il termine "alchile", come utilizzato nel presente documento, si riferisce a un radicale idrocarburico monovalente saturo a catena lineare o ramificata. Salvo diversa indicazione, un gruppo alchilico contiene 1-20 atomi di carbonio (per esempio, 1-20 atomi di carbonio, 1-10 atomi di carbonio, 1-8 atomi di carbonio, 1-6 atomi di carbonio, 1-4 atomi di carbonio o 1-3 atomi di carbonio). Esempi di gruppi alchilici includono, in via non limitativa, metile, etile, n-propile, isopropile, n-butile, isobutile, s-butile, t-butile, pentile, esile, eptile, ottile, e simili.

I termini "alcossialchile" C_{n-m} e "tioalcossialchile" C_{n-m} indicano alchile, sostituito con uno o più gruppi alcossi o tioalcossi, a seconda dei casi, in cui il numero totale combinato di atomi di carbonio del gruppo alchilico e di quello alcossi, o del gruppo alchilico e di quello tioalcossi, combinati, a seconda dei casi, è compreso tra i valori di n e m. Per esempio, un alcossialchile C_{4-6} ha un totale di 4-6 atomi di carbonio divisi tra la porzione alchilica e quella alcossi; per esempio, può essere $-CH_2OCH_2CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2OCH_2CH_3$ o $-CH_2CH_2CH_2OCH_3$.

Come utilizzato nel presente documento, il termine "arilico" (come in "anello arilico" o "gruppo arilico"), utilizzato da solo o come parte di una frazione più ampia, fa riferimento a un sistema di anelli carbociclici in cui almeno un anello nel sistema è aromatico e ha un unico punto di attacco con il resto della molecola. Salvo diversa indicazione, un gruppo arilico può essere monociclico, biciclico o tricyclico, e contenere 6-18 elementi ad anello. Esempi di anelli arilici includono, in via non limitativa, fenile, naftile, indanile, indenile, tetralina, fluorenilo e antracenile.

Il termine "eteroarile" (o "eteroaromatico" o "gruppo eteroarilico" o "eterociclo aromatico"), utilizzato da solo o come parte di una frazione più ampia, come in "eteroaralchile" o "eteroarilalcossi" si riferisce a un sistema di anelli

in cui almeno un anello nel sistema è aromatico e contiene uno o più eteroatomi, in cui ciascun anello nel sistema contiene 3 - 7 elementi ad anello, e il quale ha un unico punto di attacco con il resto della molecola. Salvo diversa indicazione, un sistema di anelli eteroarilici può essere monociclico, biciclico o triciclico, e avere un totale di cinque – quattordici elementi ad anello. In una forma di attuazione, tutti gli anelli di un sistema eteroarilico sono aromatici. Nella presente definizione sono inclusi anche radicali eteroarilici, in cui l'anello eteroarilico è fuso con uno o più anelli carbociclici o eterociclici aromatici o non aromatici, o loro combinazioni, a condizione che il radicale o il punto di attacco sia nell'anello eteroarilico. Sistema 6,5 eteroaromatico biciclico, come utilizzato nel presente documento, per esempio, è un anello eteroaromatico a sei elementi fuso con un secondo anello a cinque elementi, in cui il radicale o il punto di attacco è sull'anello a sei elementi.

Gli anelli eteroarilici includono, in via non limitativa, i seguenti monocicli: 2-furanile, 3-furanile, N-imidazolile, 2-imidazolile, 4-imidazolile, 5-imidazolile, 3-isoxazolile, 4-isoxazolile, 5-isoxazolile, 2-oxazolile, 4-oxazolile, 5-oxazolile, N-pirrolile, 2-pirrolile, 3-pirrolile, 2-piridile, 3-piridile, 4-piridile, 2-pirimidinile, 4-pirimidinile, 5-pirimidinile, piridazinile (per esempio, 3-piridazinile), 2-tiazolile, 4-tiazolile, 5-tiazolile, tetrazolile (per esempio, 5-tetrazolile), triazolile (per esempio, 2-triazolile e 5-triazolile), 2-tienile, 3-tienile, pirazolile (per esempio, 2-pirazolile), isotiazolile, 1,2,3-oxadiazolile, 1,2,5-oxadiazolile, 1,2,4-oxadiazolile, 1,2,3-triazolile, 1,2,3-tiadiazolile, 1,3,4-tiadiazolile, 1,2,5-tiadiazolile, pirazinile, 1,3,5-triazinile, e i seguenti bicicli: benzimidazolile, benzofurile, benzotiofenile, benzopirazinile, benzopiranonile, indolile (per esempio, 2-indolile), purinile, chinolinile (per esempio, 2-chinolinile, 3-chinolinile, 4-chinolinile) e isochinolinile (per esempio, 1-isochinolinile, 3-isochinolinile o 4-isochinolinile).

In vari casi: l'antiossidante è scelto da BHA (idrossianisolo butilato), BHT (idrossitoluene butilato), vitamina E, gallato di propile, acido ascorbico, e loro sali o esteri, tocoferolo e loro esteri, acido alfa-lipoico, beta-carotene; il legante farmaceuticamente accettabile è alcol polivinilico o pirrolidone polivinilico; il legante farmaceuticamente accettabile è scelto da: un amido (per esempio, amido di mais, amido di patate pregelatinizzato, amido di riso, amido di frumento, e sodio amido glicolato), maltodestrina o un etere di cellulosa (per esempio, metilcellulosa, etilcellulosa, carbossimetilcellulosa, idrossietilcellulosa, idrossietilmetilcellulosa, idrossipropil cellulosa e

idrossipropil metilcellulosa); il riempitivo farmaceuticamente accettabile è cellulosa (per esempio, cellulosa microfine o cellulosa microcristallina come Celphere CP-305 o Avicel); il riempitivo farmaceuticamente accettabile è uno zucchero o un alcol di zucchero (per esempio, mannitolo, isomalto, sorbitolo, destrosio, xilitolo, saccarosio e lattosio); il riempitivo comprende particelle aventi un diametro medio tra 50 µm e 1000 µm; il lubrificante e/o lo scivolante è scelto da: talco, leucina, stearato di magnesio, acido stearico e alcol polivinilico; e il lubrificante e/o lo scivolante è scelto da: stearato di calcio, olio minerale, olio vegetale, glicole polietilenico (PEG; per esempio, PEG che è liquido o solido a temperatura ambiente), benzoato di sodio, e sodio lauril solfato. In alcuni casi, la soluzione di linaclotide utilizzata in un metodo per preparare la formulazione ha un pH inferiore a 7 (per esempio, un pH tra 1 e 3 o un pH tra circa 1,5 e circa 2,5). Il pH, per esempio, può essere regolato con acido fosforico. In alcuni casi, la soluzione è tamponata. È possibile utilizzare vari tamponi farmaceuticamente accettabili (per esempio, tampone di fosfato).

In alcuni casi, la soluzione di linaclotide utilizzata in un metodo per la preparazione della formulazione comprende sia un catione (per esempio, CaCl_2) sia un'ammina primaria stericamente impedita (per esempio, leucina).

In alcuni casi la soluzione di linaclotide comprende CaCl_2 e leucina; il legante è metilcellulosa; il riempitivo è cellulosa microcristallina; lo scivolante e/o il lubrificante comprendono talco o leucina.

Viene fornita anche una composizione farmaceutica preparata con uno qualsiasi dei metodi descritti nel presente documento.

La presente divulgazione fornisce una composizione farmaceutica che comprende un vettore farmaceuticamente accettabile, linaclotide e uno o più agenti scelti da (i) un catione scelto da Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} o (ii) un'ammina primaria stericamente impedita. In alcune forme di attuazione, la composizione farmaceutica comprende almeno un catione e almeno un'ammina primaria stericamente impedita.

Sono descritti anche metodi per l'utilizzo delle composizioni farmaceutiche per trattare svariati disturbi gastrointestinali.

BREVE DESCRIZIONE DELLA FIGURA

La Figura 1 dimostra un esempio di un'analisi del linaclotide mediante HPLC, in cui "Ossidazione" si riferisce al prodotto di ossidazione del linaclotide, "Immina da Formaldeide" si riferisce al prodotto imminico da formaldeide del linaclotide, e "Idrolisi" si riferisce al prodotto di idrolisi del linaclotide.

Questa figura viene fornita a titolo esemplificativo, e non è destinata a limitare l'ambito della presente invenzione.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA

Composizioni orali contenenti il linaclotide possono essere utilizzate per trattare svariati disturbi gastrointestinali.

In varie forme di attuazione, il paziente soffre di un disturbo gastrointestinale; il paziente soffre di un disturbo scelto dal gruppo costituito da: disturbi della motilità gastrointestinale, pseudo-ostruzione intestinale cronica, pseudo-ostruzione colonica, morbo di Crohn, reflusso duodeno gastrico, dispepsia, dispepsia funzionale, dispepsia non ulcerosa, un disturbo gastrointestinale funzionale, bruciore di stomaco funzionale, malattia da reflusso gastroesofageo (MRGE), gastroparesi, sindrome dell'intestino irritabile, ileo post operatorio, colite ulcerosa, costipazione cronica, costipazione, dolore associato a costipazione, e disturbi e condizioni associate a costipazione (per esempio, costipazione associata all'utilizzo di antidolorifici oppioidi, costipazione post operatoria, e costipazione associata a disturbi neuropatici, nonché altre condizioni e altri disturbi descritti nel presente documento); il paziente soffre di un disturbo della motilità gastrointestinale, pseudo-ostruzione intestinale cronica, pseudo-ostruzione colica, morbo di Crohn, reflusso duodeno gastrico, dispepsia, dispepsia funzionale, dispepsia non ulcerosa, un disturbo gastrointestinale funzionale, bruciore di stomaco funzionale, malattia da reflusso gastroesofageo (MRGE), gastroparesi, malattia infiammatoria intestinale, sindrome dell'intestino irritabile (per esempio, sindrome dell'intestino irritabile con diarrea predominante (SII-d), sindrome dell'intestino irritabile con costipazione predominante (IBS-c) e/o sindrome dell'intestino irritabile alternata (SII-a)), ileo post operatorio, colite ulcerosa, costipazione cronica, costipazione, dolore associato a costipazione, e disturbi e condizioni associate a costipazione (per esempio, costipazione associata all'utilizzo di antidolorifici oppioidi, costipazione post operatoria, e costipazione associata a disturbi neuropatici, nonché altre condizioni e altri disturbi descritti nel presente documento); al paziente è stato diagnosticato un disturbo gastrointestinale funzionale secondo i Criteri di Roma (per esempio, Roma II), al paziente è stata diagnosticata la sindrome dell'intestino irritabile (per esempio,

SII con diarrea predominante, SII con costipazione predominante e/o SII alternata), secondo i Criteri di Roma (per esempio Roma II).

L'intervallo di dosi del linaclotide per esseri umani adulti è generalmente di 25 µg - 6 mg al giorno, per via orale. In un'ulteriore forma di attuazione, l'intervallo di dosi è di 25 µg - 2 mg al giorno, per via orale. In alcune forme di attuazione, l'intervallo di dosi per esseri umani adulti è di 50 µg - 1 mg al giorno, per via orale (per esempio, 50 µg, 67,5 µg, 100 µg, 133 µg, 150 µg, 200 µg, 250 µg, 266 µg, 300 µg, 350 µg, 400 µg, 450 µg, 500 µg, 550 µg, 600 µg, 650 µg, 700 µg, 750 µg, 800 µg, 850 µg, 900 µg, 950 µg o 1 mg). In ulteriori forme di attuazione, l'intervallo di dosi è di 100 µg - 600 µg al giorno, per via orale. In altre forme di attuazione, la dose è di 50 µg, 67,5 µg, 100 µg, 133 µg, 150 µg, 200 µg, 266 µg, 300 µg, 400 µg, 500 µg o 600 µg di linaclotide al giorno, per via orale. In una forma di attuazione, la composizione di linaclotide è fornita in un'unità separata, una forma di dosaggio unitario, (per esempio, una compressa, una capsula, una bustina) che è efficace a un tale dosaggio o come multiplo dello stesso. In certe forme di attuazione, la forma di dosaggio unitario e la dose giornaliera sono equivalenti. In varie forme di attuazione, la forma di dosaggio unitario viene somministrata con alimenti in qualsiasi momento del giorno, senza alimenti, in qualsiasi momento del giorno, con alimenti dopo un digiuno di una notte (per esempio con la colazione). In varie forme di attuazione, la forma di dosaggio unitario viene somministrata una volta al giorno, due volte al giorno o tre volte al giorno. Facoltativamente, la forma di dosaggio unitario può comprendere altri additivi. In alcune forme di attuazione, una, due o tre forme di dosaggio unitario conteranno la dose orale giornaliera di linaclotide. La quantità precisa di composto somministrata a un paziente sarà di responsabilità del medico curante. Tuttavia, la dose impiegata dipenderà da più fattori, tra cui età e sesso del paziente, l'esatto disturbo trattato, e la sua gravità.

In una forma di attuazione, viene fornito un metodo per il trattamento della sindrome da colon irritabile con costipazione (SII-c) in un paziente adulto che ne ha bisogno, comprendente somministrare al paziente una volta al giorno una quantità efficace di una composizione farmaceutica descritta nel presente documento. In varie forme di attuazione, la composizione farmaceutica comprende 133 µg o 266 µg di linaclotide per dose unitaria al giorno. In altre forme di attuazione, la composizione farmaceutica viene somministrata per un periodo di almeno un giorno,

due giorni, tre giorni, quattro giorni, cinque giorni, sei giorni, una settimana, due settimane, tre settimane, quattro settimane, o superiore. In alcune forme di attuazione, il trattamento con la composizione di linaclotide migliora almeno un sintomo scelto da dolore addominale ridotto, un aumento del numero di movimenti intestinali spontanei completi (CSBM) in una settimana, un aumento del numero di movimenti intestinali spontanei (SBM) in una settimana, consistenza delle feci migliorata, sforzo ridotto, disagio addominale ridotto, gonfiore ridotto o ridotta gravità dei sintomi della SII-c.

In una forma di attuazione, viene fornito un metodo per il trattamento della costipazione cronica in un paziente adulto che ne ha bisogno, comprendente somministrare al paziente una volta al giorno una quantità efficace di una composizione farmaceutica descritta nel presente documento. In varie forme di attuazione, la composizione farmaceutica comprende 133 µg o 266 µg di linaclotide per dose unitaria al giorno. In altre forme di attuazione, la composizione farmaceutica viene somministrata per un periodo di almeno un giorno, due giorni, tre giorni, quattro giorni, cinque giorni, sei giorni, una settimana, due settimane, tre settimane, quattro settimane o superiore. In alcune forme di attuazione, il trattamento con la composizione di linaclotide migliora almeno un sintomo scelto da: un aumento del numero di movimenti intestinali spontanei completi (CSBM) in una settimana, un aumento del numero di movimenti intestinali spontanei (SBM) in una settimana, consistenza delle feci migliorata, sforzo ridotto, disagio addominale ridotto, gonfiore ridotto o ridotta gravità della costipazione.

È possibile che monitorare la consistenza delle feci di ciascun movimento intestinale mediante la Scala di Bristol a 7 punti, relativa alla forma delle feci (BSFS) (1 = grumi duri, 2 = salsiccia grumosa, 3 = salsiccia con crepe, 4 = salsiccia liscia, 5 = ammassi morbidi, 6 = pastose, 7 = acquose). È possibile monitorare lo sforzo mediante la Scala a 7 punti, relativa alla facilità del passaggio (1 = frantumazione manuale/richiesto clistere, 2 = sforzo grave, 3 = sforzo moderato, 4 = sforzo lieve, 5 = nessuno sforzo, 6 = urgenza, 7 = incontinente). Un CSBM può venire misurato dalla sensazione di svuotamento completo dopo un SBM (sì/no). Disagio addominale, gonfiore e gravità di costipazione possono venire misurati utilizzando una scala ordinale a 5 punti, per esempio (1 = nessuno, 2 = lieve, 3 = moderato, 4 = grave, 5 = molto grave).

Un catione dell'invenzione può venire fornito come sale farmaceuticamente accettabile, ovvero un catione con un controione appropriato. Esempi di sali farmaceuticamente accettabili che possono venire utilizzati nell'invenzione, includono, in via non limitativa, acetato di magnesio, cloruro di magnesio, fosfato di magnesio, solfato di magnesio, acetato di calcio, cloruro di calcio, fosfato di calcio, solfato di calcio, acetato di zinco, cloruro di zinco, fosfato di zinco, solfato di zinco, acetato di manganese, cloruro di manganese, fosfato di manganese, solfato di manganese, acetato di potassio, cloruro di potassio, fosfato di potassio, solfato di potassio, acetato di sodio, cloruro di sodio, fosfato di sodio, solfato di sodio, acetato di alluminio, cloruro di alluminio, fosfato di alluminio o solfato di alluminio. In alcune forme di attuazione, i sali farmaceuticamente accettabili includono cloruro di calcio, carbonato di calcio, acetato di calcio, cloruro di magnesio, acetato di magnesio, acetato di zinco e cloruro di zinco. In ulteriori forme di attuazione, un sale farmaceuticamente accettabile che può essere utilizzato è cloruro di calcio, cloruro di magnesio e acetato di zinco.

Il termine "legante", come utilizzato nel presente documento, si riferisce a qualsiasi legante farmaceuticamente accettabile che può essere utilizzato nella pratica dell'invenzione. Esempi di leganti farmaceuticamente accettabili includono, in via non limitativa, un amido (per esempio, amido di mais, amido di patate e amido pregelatinizzato (per esempio, AMIDO 1500® e AMIDO 1500 LM®, commercializzati dalla Colorcon, Ltd.) e altri amidi), maltodestrina, gelatina, gomme naturali e sintetiche, come acacia, gomma adragante in polvere, gomma di guar, cellulosa e suoi derivati (per esempio, metilcellulosa, idrossietilcellulosa, idrossietil metilcellulosa, idrossipropil cellulosa e idrossipropil metilcellulosa (ipromellosa), etilcellulosa, acetato di cellulosa, carbossimetilcellulosa calcica, carbossimetilcellulosa sodica, carbossimetilcellulosa, cellulosa microcristallina (per esempio AVICEL™, come AVICEL-PH-101™, -103™ e -105™, commercializzati dalla FMC Corporation, Marcus Hook, PA, Stati Uniti d'America), alcol polivinilico, polivinilpirrolidone (per esempio, polivinilpirrolidone K30), e loro miscele. Come utilizzato nel presente documento, il termine "riempitivo" si riferisce a qualsiasi riempitivo farmaceuticamente accettabile che può essere utilizzato nella pratica dell'invenzione. Esempi di riempitivi farmaceuticamente accettabili includono, in via non limitativa, talco, carbonato di calcio (per esempio, granuli o polvere), calcio fosfato bibasico, calcio fosfato tribasico, solfato di calcio (per esempio, granuli o polvere),

cellulosa microcristallina (per esempio, Avicel PH101 o Celphere CP-305), cellulosa in polvere, destrati, caolino, mannitolo, acido silicico, sorbitolo, amido (per esempio, Amido 1500), amido pregelatinizzato, lattosio, glucosio, fruttosio, galattosio, trealosio, saccarosio, maltosio, isomalto, raffinosio, maltitolo, melezzitosio, stachiosio, lattitolo, palatinite, xilitolo, mioinositolo, e loro miscele.

Esempi di riempitivi farmaceuticamente accettabile che possono essere utilizzati in particolare per il rivestimento con linaclotide includono, in via non limitativa, talco, cellulosa microcristallina (per esempio, Avicel PH101 o Celphere CP-305), cellulosa in polvere, destrati, caolino, mannitolo, acido silicico, sorbitolo, amido, amido pregelatinizzato, lattosio, glucosio, fruttosio, galattosio, trealosio, saccarosio, maltosio, isomalto, calcio fosfato bibasico, raffinosio, maltitolo melezzitosio, stachiosio, lattitolo, palatinite, xilitolo, mannitolo, mioinositolo, e loro miscele.

Il termine "additivi", come utilizzato nel presente documento, si riferisce a qualsiasi additivo farmaceuticamente accettabile. Gli additivi farmaceuticamente accettabili includono, in via non limitativa, disintegranti, additivi disperdenti, lubrificanti, scivolanti, antiossidanti, additivi di rivestimento, diluenti, tensioattivi, additivi aromatizzanti, umettanti, additivi promotori dell'assorbimento, additivi a rilascio controllato, additivi antiagglomeranti, agenti antimicrobici (per esempio, conservanti), coloranti, essiccanti, plastificanti e colori.

Un "eccipiente", come utilizzato nel presente documento, è qualsiasi additivo, riempitivo, legante o agente, farmaceuticamente accettabile.

"Linaclotide purificato", come utilizzato nel presente documento, è linaclotide o un suo sale farmaceuticamente accettabile che ha una purezza pari o superiore al 90 per cento, o una purezza pari o superiore al 95 per cento. In alcune forme di attuazione, il linaclotide come utilizzato nei metodi e nelle composizioni descritti nel presente documento è purificato. La purezza del linaclotide, per esempio, può venire misurata mediante la purezza cromatografica del linaclotide utilizzando la HPLC in fase inversa, come descritto nell'Esempio 21. Il saggio del linaclotide [peso/peso], per esempio, può venire determinato utilizzando la HPLC in fase inversa con quantificazione mediante calibrazione esterna con uno standard di riferimento come descritto nell'Esempio 21.

In una forma di attuazione, la composizione farmaceutica può venire preparata spruzzando una soluzione comprendente linaclotide o un suo sale farmaceuticamente accettabile, su un riempitivo farmaceuticamente accettabile per generare un riempitivo rivestito con linaclotide. In una forma di attuazione, il metodo comprende: (a) fornire una soluzione, per esempio, una soluzione acquosa ("la soluzione di rivestimento"), comprendente: (i) il linaclotide o un suo sale farmaceuticamente accettabile; (ii) un catione scelto da Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} e/o un'ammina primaria stericamente impedita (per esempio, leucina) e, facoltativamente, (iii) un legante farmaceuticamente accettabile; e (b) applicare la soluzione di rivestimento a un riempitivo farmaceuticamente accettabile per generare un riempitivo rivestito con polipeptide (per esempio, mediante spruzzatura, miscelazione o rivestimento del riempitivo farmaceuticamente accettabile con la soluzione di rivestimento). Facoltativamente, il metodo può includere uno o più di: (i) mescolare il riempitivo rivestito di polipeptide con uno scivolante farmaceuticamente accettabile, un lubrificante farmaceuticamente accettabile o un additivo farmaceuticamente accettabile che agisce come scivolante e lubrificante; (ii) mescolare il riempitivo rivestito di polipeptide con un riempitivo che non è rivestito di polipeptide, (iii) mescolare il riempitivo rivestito di polipeptide con altri additivi; (iv) applicare un additivo di rivestimento farmaceuticamente accettabile al riempitivo rivestito di polipeptide. La composizione farmaceutica finale può venire messa in capsule (per esempio, capsule di gelatina) o utilizzata per formare compresse.

In un'altra forma di attuazione, la composizione farmaceutica viene preparata mediante essiccazione a spruzzo, la quale è una tecnica utilizzata per preparare microparticelle (per esempio, microcapsule o microsfele) di farmaci. I peptidi essiccati a spruzzo generalmente mantengono la loro attività biologica dopo lo scioglimento, e possono avere caratteristiche fisiche utili, tra cui dimensioni di particelle uniformi e una forma sferica. In aggiunta, le microparticelle preparate mediante essiccazione a spruzzo sono spesso a scorrimento libero, il che è utile per i processi di produzione farmaceutica, come la formazione di compresse e il riempimento di capsule. I processi di essiccazione a spruzzo sono utili anche perché possono venire estesi facilmente per la produzione clinica e commerciale.

Pertanto, la presente divulgazione presenta un metodo per la preparazione di una composizione farmaceutica comprendente il linaclotide o un suo sale farmaceuticamente accettabile, il metodo comprendendo: (a) fornire una soluzione, per esempio, una soluzione acquosa od organica, comprendente: (i) il linaclotide o un suo sale farmaceuticamente accettabile; e (ii) un catione scelto da Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} e/o un'ammina primaria stericamente impedita (per esempio, leucina) e (b) essiccare a spruzzo la soluzione contenente linaclotide per produrre microparticelle. Facoltativamente, la soluzione contenente linaclotide può includere un polimero, come uno o più dei leganti descritti nel presente documento, un lipide o un fosfolipide e/o un riempitivo, come il mannitolo. Facoltativamente, il metodo può includere uno o più fasi aggiuntive di: (i) mescolare le microparticelle di linaclotide con uno scivolante farmaceuticamente accettabile, un lubrificante farmaceuticamente accettabile o un additivo farmaceuticamente accettabile che agisce sia come scivolante sia come lubrificante; (ii) mescolare le microparticelle con un riempitivo, e/o (iii) mescolare le microparticelle con altri additivi. La composizione farmaceutica finale può venire messa in capsule (per esempio, capsule di gelatina) o utilizzata per formare compresse.

In altre forme di attuazione, la composizione farmaceutica viene preparata mediante crioessiccazione a spruzzo, lavorazione con fluidi supercritici o liofilizzazione di una soluzione, per esempio, di una soluzione acquosa od organica comprendente: (i) linaclotide o un suo sale farmaceuticamente accettabile; e (ii) un catione scelto da Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} e/o un'ammina primaria stericamente impedita (per esempio, leucina).

In alcune forme di attuazione, la composizione di linaclotide viene fornita in una forma solida per la somministrazione orale. Esempi di tali forme includono, in via non limitativa, una compressa, una bustina, un pellet, una capsula o una polvere. In alcune forme di attuazione, le composizioni possono venire utilizzate per creare forme di dosaggio unitario, per esempio, compresse, capsule, bustine o pellet. Le composizioni somministrate per via orale possono includere, per esempio, leganti, lubrificanti, diluenti inerti, additivi lubrificanti, tensioattivi o disperdenti, additivi aromatizzanti, e umettanti. Facoltativamente, le formulazioni somministrate per via orale, come le compresse, possono venire rivestite o incise, e possono venire formulate in modo da fornire un rilascio sostenuto, ritardato o controllato del linaclotide al suo interno. Il linaclotide può venire

co-somministrato o co-formulato con altri medicinali. In una forma di attuazione, la composizione di linaclotide può venire co-somministrata con altre medicine utilizzate per trattare disturbi gastrointestinali. La composizione di linaclotide può anche venire utilizzata per il trattamento di disturbi all'esterno dell'apparato gastrointestinale, come insufficienza cardiaca congestizia e ipertrofia prostatica benigna.

Le composizioni, per esempio, possono includere svariati solventi aggiuntivi, disperdenti, rivestimenti, additivi promotori dell'assorbimento, additivi a rilascio controllato, e uno o più additivi inerti (i quali includono, per esempio, amidi, polioli, additivi per granulazione, cellulosa microcristallina, diluenti, lubrificanti, leganti, additivi disintegranti, e simili), ecc. Se si desidera, i dosaggi in compresse delle composizioni divulgate possono venire rivestiti mediante tecniche acquose o non acquose standard. Le composizioni, per esempio, possono includere anche additivi antiagglomeranti, conservanti, additivi dolcificanti, coloranti, aromi, essiccanti, plastificanti, coloranti, e simili.

Disintegranti idonei includono, per esempio, agar-agar, carbonato di calcio, cellulosa microcristallina, croscarmellosa sodica, crospovidone, povidone, polacrilin potassio, sodio amido glicolato, amido di patate o di tapioca, altri amidi, amido pregelatinizzato, argille, altre algine, altre cellulose, gomme, e loro miscele.

Lubrificanti idonei includono, per esempio, stearato di calcio, stearato di magnesio, olio minerale, olio minerale leggero, glicerina, sorbitolo, mannitolo, glicole polietilenico, altri glicoli, acido stearico, sodio lauril solfato, talco, olio vegetale idrogenato (per esempio, olio di arachidi, olio di semi di cotone, olio di girasole, olio di sesamo, olio di oliva, olio di mais e olio di semi di soia), stearato di zinco, oleato di etile, laurato di etile, agar, gel di silice syloid (AEROSIL 200, W.R. Grace Co., Baltimore, MD Stati Uniti d'America), un aerosol coagulato di silice sintetica (Evonik Degussa Co., Plano, TX Stati Uniti d'America), un diossido di silicio pirogeno (CAB-O-SILE, Cabot Co., Boston, MA Stati Uniti d'America), e loro miscele.

Scivolanti idonei includono, per esempio, leucina, diossido di silicio colloidale, trisilicato di magnesio, cellulosa in polvere, amido, talco e fosfato di calcio tribasico.

Additivi antiaggreganti idonei includono, per esempio, silicato di calcio, silicato di magnesio, diossido di silicio, diossido di silicio colloidale, talco, e loro miscele.

Additivi antimicrobici idonei che per esempio possono essere utilizzati come conservante per le composizioni di linaclotide, includono per esempio cloruro di benzalconio, cloruro di benzetonio, acido benzoico, alcol benzilico, butil parabene, cloruro di cetilpiridinio, cresolo, clorobutanolo, acido deidroacetico, etilparabene, metilparabene, fenolo, alcol feniletilico, fenossietanolo, acetato di fenilmercurio, nitrato di fenilmercurio, sorbato di potassio, propilparabene, benzoato di sodio, deidroacetato di sodio, propionato di sodio, acido sorbico, timerosal, timo, e loro miscele.

Additivi di rivestimento idonei includono, per esempio, sodio carbossimetil cellulosa, acetato ftalato di cellulosa, etilcellulosa, gelatina, smalto farmaceutico, idrossipropil cellulosa, idrossipropil metilcellulosa, ftalato di idrossipropil metilcellulosa, metilcellulosa, glicole polietilenico, acetato ftalato di polivinile, gommalacca, saccarosio, biossido di titanio, cera carnauba, cera microcristallina, e loro miscele. Rivestimenti protettivi idonei includono Aquacoat (per esempio Dispersione Acquosa di Etilcellulosa Aquacoat, 15% peso/peso, FMC Biopolymer, ECD-30), Eudragit (per esempio Eudragit E PO PE-EL, Roehm Pharma Polymers) e Opadry (per es., dispersione AMB Opadry, 20% peso/peso, Colorcon).

In certe forme di attuazione, additivi idonei per la composizione di linaclotide includono uno o più di saccarosio, talco, stearato di magnesio, crospovidone o BHA.

In certe forme di attuazione, il termine "95%" può essere 95,0%, il termine "90%" può essere 90,0%, il termine "10%" può essere 10,0%, il termine "9%" può essere 9,0%, il termine "8%" può essere 8,0%, il termine "7%" può essere 7,0%, il termine "6%" può essere 6,0%, il termine "5%" può essere 5,0%, il termine "4%" può essere 4,0%, il termine "3%" può essere 3,0%, il termine "2%" può essere 2,0% e il termine "1%" può essere 1,0%.

In certe forme di attuazione, la composizione di linaclotide viene fornita in una forma di dosaggio unitario. In alcune forme di attuazione, la forma di dosaggio unitario è una capsula, una compressa, una bustina, un pellet o una polvere. In una tale forma di attuazione, la forma di dosaggio unitario è una capsula o una compressa. Tali forme di dosaggio unitario possono essere contenute in un contenitore, come, in via non limitativa, una scatola di carta o cartone, un flacone o un vaso in vetro o plastica, un sacchetto richiudibile (per esempio atto a contenere una "ricarica" di compresse per il collocamento in un contenitore diverso), oppure una confezione blister con dosi

singole da far uscire dalla confezione mediante compressione, secondo un piano terapeutico. È possibile che più contenitori possano venire utilizzati insieme in un'unica confezione per fornire una forma di dosaggio unica. Per esempio, compresse o capsule possono essere contenute in un flacone, il quale a sua volta è contenuto all'interno di una scatola. In alcune forme di attuazione, le forme di dosaggio unitario vengono fornite in un contenitore ulteriormente comprendente un essiccante. In un'ulteriore forma di attuazione, le forme di dosaggio unitario, per esempio, una quantità di compresse o capsule, sono fornite in un contenitore, per esempio, un flacone, un vaso o un sacchetto richiudibile, contenente un essiccante. In un'ulteriore forma di attuazione, il contenitore contenente le forme di dosaggio unitario viene confezionato con le istruzioni per la somministrazione o il dosaggio. In certe forme di attuazione, la composizione di linaclotide è fornita in un kit. La composizione di linaclotide descritta nel presente documento e gli agenti della terapia di combinazione possono venire confezionati come un kit che include una o più dosi singole di due o più agenti, ognuno confezionato o formulato individualmente, oppure una o più dosi di due o più agenti confezionati o formulati in combinazione. Pertanto, la composizione di linaclotide può essere presente in un primo contenitore, e facoltativamente il kit può includere uno o più agenti in un secondo contenitore. L'uno o più contenitori vengono posti all'interno di una confezione, e facoltativamente, la confezione può includere la somministrazione o istruzioni di dosaggio.

ESEMPI

Gli esempi che non rientrano nell'ambito delle rivendicazioni allegate vengono descritti a scopo di riferimento.

Il linaclotide, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, può venire prodotto e purificato utilizzando tecniche standard note nel settore, per esempio, la sintesi chimica o l'espressione ricombinante seguita da purificazione utilizzando tecniche standard.

Schema di Formulazione A

Preparazione della Soluzione di Rivestimento: circa 32 g - 42 g di acqua purificata vengono mescolati con acido cloridrico per creare una soluzione con un pH tra 1,5 e 2,0. Il catione, se utilizzato, viene aggiunto alla soluzione in una quantità per fornire la concentrazione desiderata, e la soluzione viene mescolata per un tempo sufficiente per produrre una soluzione trasparente. L'ammina primaria stericamente impedita, se utilizzata, viene aggiunta

alla soluzione in una quantità per fornire la concentrazione desiderata, e la soluzione viene mescolata per un tempo sufficiente a produrre una soluzione trasparente. Successivamente vengono aggiunti altri additivi, come gli antiossidanti, se si desidera. Il pH della soluzione viene testato, e all'occorrenza viene aggiunto acido cloridrico per produrre una soluzione avente un pH tra 1,5 e 2,0. Successivamente, il legante viene aggiunto alla soluzione e la miscela viene quindi agitata per un tempo sufficiente per ottenere una soluzione trasparente. La quantità desiderata di linaclotide viene aggiunta alla soluzione e mescolata per 30-100 minuti per fornire la soluzione di rivestimento.

Preparazione delle Perle Attive: circa 30-36 g di perle di cellulosa microcristallina essiccata vengono aggiunti a una spalmatrice a letto fluido a mini-colonna. Le perle di cellulosa microcristallina vengono fluidizzate e riscaldate prima della stratificazione. Successivamente, la soluzione di rivestimento viene stratificata alle perle. La temperatura di spruzzatura viene controllata tra 24 °C e 55 °C controllando la temperatura di ingresso, la velocità di spruzzo, la pressione di atomizzazione e il volume di aria. Dopo che l'intera soluzione di rivestimento è stata stratificata alle perle, le perle vengono essiccate. Il prodotto di questo processo viene indicato come perle attive.

Preparazione di Perle Attive con Rivestimento Protettivo: circa 35 g di perle attive vengono aggiunte a una spalmatrice a letto fluido a mini-colonna. Le perle attive vengono fluidizzate e riscaldate prima del rivestimento con Aquacoat (per esempio Dispersione Acquosa di Etilcellulosa Aquacoat, 15% peso/peso, FMC Biopolymer, ECD-30), Eudragit (per esempio Eudragit E PO PE-EL, Roehm Pharma Polymers) od Opadry (per esempio, dispersione AMB Opadry, 20% peso/peso, Colorcon). Successivamente, la soluzione di rivestimento viene stratificata alle perle. La temperatura di spruzzatura viene controllata tra 24 °C e 55 °C controllando temperatura di ingresso, velocità di spruzzo, pressione di atomizzazione e volume di aria. Dopo che l'intera soluzione di rivestimento è stata stratificata alle perle, le perle vengono essiccate.

Schema di Formulazione B

Preparazione della Soluzione di Rivestimento: circa 8,3 g di acqua purificata vengono mescolati con acido cloridrico per creare una soluzione con un pH tra 1,5 e 2,0. Il catione, se utilizzato, viene aggiunto alla soluzione in una quantità per fornire la concentrazione desiderata, e la soluzione viene mescolata per un tempo sufficiente

per produrre una soluzione trasparente. L'ammina primaria stericamente impedita, se utilizzata, viene aggiunta alla soluzione in una quantità per fornire la concentrazione desiderata, e la soluzione viene mescolata per un tempo sufficiente a produrre una soluzione trasparente. Successivamente vengono aggiunti altri additivi, come gli antiossidanti, se si desidera. Successivamente, il legante viene aggiunto alla soluzione e la soluzione viene mescolata per un tempo sufficiente per ottenere una soluzione trasparente. Il pH della soluzione viene testato, e all'occorrenza viene aggiunto acido cloridrico per produrre una soluzione avente un pH tra 1,5 e 2,0. Questa è la Soluzione 1, Circa 8,3 kg di acqua purificata vengono mescolati con acido cloridrico per creare una soluzione con un pH tra 1,5 e 2,0. La quantità desiderata di linaclotide viene aggiunta alla soluzione e mescolata per 10-30 minuti. Il pH della soluzione viene testato, e all'occorrenza viene aggiunto acido cloridrico per produrre una soluzione avente un pH tra 1,5 e 2,0. Questa è la Soluzione 2. Successivamente, la Soluzione 1 e la Soluzione 2 vengono mescolate insieme. Il pH della soluzione viene testato, e all'occorrenza viene aggiunto acido cloridrico per produrre una soluzione avente un pH tra 1,5 e 2,0. Questa è la soluzione di rivestimento.

Preparazione delle Perle Attive: circa 24,19 kg di perle di cellulosa microcristallina essiccata vengono aggiunti a una colonna Wurster di un letto fluido Glatt GPCG-30. Le perle di cellulosa microcristallina vengono fluidizzate e riscaldate a una temperatura di prodotto di 45 – 47 °C. Successivamente, la soluzione di rivestimento viene stratificata alle perle. La temperatura di spruzzatura del prodotto viene controllata tra 37 °C e 47 °C controllando la temperatura di ingresso, la velocità di spruzzo, la pressione di atomizzazione e il volume di aria. Dopo che l'intera soluzione di rivestimento è stata stratificata alle perle, le perle vengono essiccate con una temperatura di essiccazione del prodotto di 37 °C – 47 °C. Il prodotto di questo processo viene indicato come perle attive.

Esempi 1-15: Preparazione di Formulazioni di Linaclotide

Le formulazioni di linaclotide degli Esempi 1-15 sono state prodotte essenzialmente come descritto nello Schema di Formulazione A in cui la Tabella 1 fornisce le quantità di catione, ammina primaria stericamente impedita, legante, linaclotide e perle, mentre la Tabella 2 fornisce le condizioni alle quali sono state rivestite le perle:

Tabella 1

Esempio	Quantità Catione []*	Quantità Ammina []	Quantità Legante	Quantità di Linaclotide **	Quantità di Perle
1	CaCl ₂ .2H ₂ O 0,6740g [60]	Leucina 0,2005g [20]	Ipromellosa 1,019g	0,1282g	Celphere CP-305 33.38g
2	CaCl ₂ .2H ₂ O 0,6740g [60]	Leucina 0,3007g [30]	Ipromellosa 0,3063g	0,1329g	Celphere CP-305 33.87g
3	CaCl ₂ .2H ₂ O 0,2247g [20]	Leucina 1,002g [100]	Ipromellosa 0,0656g	0,1282g	Celphere CP-305 33.86g
4	CaCl ₂ .2H ₂ O 1,123g [100]	Leucina 0,2005g [20]	Ipromellosa 1,969g	0,1282g	Celphere CP-305 32.36g
5	CaCl ₂ .2H ₂ O 0,4493g [40]	Leucina 0,4009g [40]	Ipromellosa 0,5425g	0,1282g	Celphere CP-305 33.78g
6	MgCl ₂ .6H ₂ O 0,2590g [10]	Leucina 0,3341g [20]	Ipromellosa 0,6636g	0,2100g	Celphere CP-305 33.83g

7	ZnAc.2H ₂ O 0,2796g [10]	Leucina 0,3341g [20]	Ipromellosa 0,6636g	0,2100g	Celphere CP-305 33.82g
8	N.D.	Leucina 0,8944g [27]	Ipromellosa 0,6636g	0,4387g	Celphere CP-305 33.40g
9	CaCl ₂ .2H ₂ O 0,3745g [10]	N.D.	Ipromellosa 0,6636g	0,4227g	Celphere CP-305 33.83g
10	N.D.	N.D.	Ipromellosa 0,6811g	0,2114g	Celphere CP-305 34.28g
11	N.D.	N.D.	Ipromellosa 0,6636g	0,4227g	Celphere CP-305 34.13g
12	CuCl ₂ .2H ₂ O 0,4342g [10]	N.D.	Ipromellosa 0,6636g	0,4227g	Celphere CP-305 33.79g
13	ZnAc.2H ₂ O 0,5590g [10]	N.D.	Ipromellosa 0,6636g	0,4227g	Celphere CP-305 33.68g
14	MgCl ₂ .6H ₂ O 0,5178g [10]	N.D.	Ipromellosa 0,6636g	0,4227g	Celphere CP-305 33.72g
15	N.D.	Metionina 0,0380g [1]	Ipromellosa 0,6636g	0,4387g	Celphere CP-305 34.08g

* "Catione" si riferisce al catione bivalente contenuto nel sale utilizzato nel campione. "Ammina" si riferisce all'ammina primaria stericamente impedita, [] si riferisce al rapporto molare del catione e/o dell'ammina rispetto al linaclotide.

** La quantità di linaclotide in questo esempio e in tutti gli esempi seguenti, viene determinata sulla base del contenuto peptidico e della purezza cromatografica, come elencati sul Certificato di Analisi fornito per ciascun lotto di linaclotide Ingrediente Attivo Farmaceutico (API) prodotto.

Tabella 2

Esempio	Temp Spruzzatura Prodotto (°C)	Temp Ingresso (°C)	Velocità Spruzzo (ml/min)	Pressione di Atomizzazione (psig)	Flusso di Aria
1	34.0 - 37.0	55.7 - 57.7	0,33 - 0,40	20	Basso
2	27.4 - 32.3	37.01 - 42.1	0,40	22	Basso
3	32.6 - 34.7	60,0 - 60,1	0,33 - 0,40	20	Basso
4	35.3 - 39.3	58.9 - 59.2	0,40	18	Basso
5	27.8 - 27.9	58.7 - 59.8	0,35 - 0,33	20	Basso
6	32.1 - 38.3	42.0 - 53.4	0,39 - 0,75	22	Basso
7	31.7-39.3	50,0 - 52.5	0,27 - 0,57	22	Basso
8	33.3 - 41.3	50,5 - 57.0	0,57 - 0,65	22	Basso
9	33.2 - 40,0	49.5 - 58.7	0,82 - 1,00	20	Basso
10	42.5	59.5	0,49	22	Basso
11	39.7	52.0	0,66	22	Basso
12	36.6 - 40,0	47.2 - 54.8	0,65-0,75	20-22	Basso

13	32.4	57.4	0,65	22	Basso
14	34.0	49.0	0,75	20	Basso
15	24.1 - 39.9	48.5 - 55.9	0,39 - 0,65	22-23	Basso

ESEMPIO 16: Preparazione di Formulazione di Linaclotide

La formulazione di linaclotide dell'Esempio 16 è stata prodotta essenzialmente come descritto nello Schema di Formulazione B in cui la Tabella 3 fornisce le quantità di catione, ammina primaria stericamente impedita, legante, linaclotide e perle, mentre la Tabella 4 fornisce le condizioni alle quali sono state rivestite le perle:

Tabella 3

Esempio	Quantità Catione []	Quantità Ammina []	Quantità Legante	Quantità di Linaclotide	Quantità di Perle
16	CaCl ₂ .2H ₂ O 385,1 g [60]	Leucina 171,8 g [30]	Ipromellosa 175,0 g	73,5 g	Celphere CP-305 24,19 kg

Tabella 4

Esempio	Temp Spruzzatura Prodotto (°C)	Temp Ingresso (°C)	Velocità Spruzzo (g/min)	Pressione di Atomizzazione (bar)	Volume Aria di Processo (cfm)	Temp Essiccazione Prodotto (°C)
16	64.9 - 65.1	80	150	2.0	515-564	54.9 - 55.0

Esempio 17: Preparazione di Formulazione di Linaclotide

La formulazione di linaclotide dell'Esempio 17 è stata prodotta essenzialmente come descritto nello Schema di Formulazione A, salvo che la formulazione conteneva 22,96 mg di idrossianisolo butilato (BHA), laddove la Tabella 5 fornisce le quantità di catione, ammina primaria stericamente impedita, legante, linaclotide e perle, mentre la Tabella 6 fornisce le condizioni alle quali sono state rivestite le perle.

Tabella 5

Esempio	Quantità Catione []	Quantità Ammina []	Quantità Legante	Quantità di Linaclotide	Quantità di Perle
17	CaCl ₂ .2H ₂ O 0,3745g [20]	N.D.	Ipromellosa 0,6636g	0,2100g	Celphere CP-305 33.99g

Tabella 6

Esempio	Temp Spruzzatura Prodotto (°C)	Temp Ingresso (°C)	Velocità Spruzzo (ml/min)	Pressione di Atomizzazione (psig)	Flusso di Aria
17	33.5 - 34.8	47.7 - 48.6	0,56 - 0,74	26	Basso

Esempio 18: Preparazione di Capsule Contendenti Formulazioni di Linaclotide

Il contenuto di linaclotide sulle perle attive può venire misurato come descritto nell'Esempio 21, oppure con altri metodi equivalenti.

Per formare capsule idonee per la somministrazione orale, una quantità appropriata di perle attive viene utilizzata per riempire capsule di gelatina (per esempio, capsule di gelatina di Grandezza 2). Una quantità appropriata di perle attive può contenere 50 µg - 2 mg di linaclotide per capsula, con un intervallo di ± 5%. In alcune forme di attuazione, la quantità appropriata di linaclotide sulle perle attive può essere di 50 µg, di 67,5 µg, di 100 µg, di 133 µg, di 150 µg, di 200 µg, di 266 µg, di 300 µg, di 400 µg, di 500 µg, di 600 µg, di 700 µg, di 800 µg, di 900 µg, di 1 mg, di 2 mg, di 4 mg o di 6 mg. In una forma di attuazione particolare, la quantità appropriata di linaclotide sulle perle attive è di 67,5 µg, di 100 µg, di 133 µg, di 150 µg, di 200 µg, di 266 µg, di 300 µg, di 400 µg, di 500 µg, di 600 µg. In una forma di attuazione più particolare, la quantità appropriata di linaclotide sulle perle attive è di 67,5 µg, di 133 µg, di 150 µg, di 266 µg o di 300 µg per capsula.

In un'altra forma di attuazione, in un contenitore viene posta una quantità appropriata di perle attive per riempire un numero desiderato di capsule di gelatina. Se si desidera, al contenitore è possibile aggiungere uno o più riempitivi farmaceuticamente accettabili o altri additivi farmaceuticamente accettabili. In alcune forme di

attuazione, un riempitivo o un additivo è talco, leucina, cellulosa microcristallina o mannitolo. Il contenuto del contenitore viene mescolato, e la miscela viene utilizzata per riempire le capsule di gelatina con una quantità appropriata di perle attive contenenti il linaclotide (per esempio, 50 µg - 2 mg di linaclotide per capsula, con un intervallo di + 5%).

In una forma di attuazione alternativa, una quantità appropriata di perle attive viene utilizzata per riempire capsule di gelatina, e alle capsule di gelatina vengono aggiunti uno o più riempitivi farmaceuticamente accettabili o altri additivi farmaceuticamente accettabili.

Esempio 19: Preparazione di Capsule Contenente una Formulazione di Linaclotide

Preparazione della Soluzione di Rivestimento: in primo luogo, 41,98 g di acqua purificata sono stati mescolati con 1,13 g di acido cloridrico per creare una soluzione con un pH tra 1,5 e 2,0. Successivamente, 7,49 g di cloruro di calcio diidrato e 6,68 g di leucina sono stati aggiunti alla soluzione, la quale successivamente è stata mescolata per 30 minuti per produrre una soluzione trasparente. Il pH è stato testato, e 1,70 g di acido cloridrico sono stati aggiunti per produrre una soluzione avente un pH tra 1,5 e 2,0. Successivamente, 13,27 g di ipromellosa (idrossipropil metilcellulosa; Dow Chemical Company; Midland, MI) sono stati aggiunti alla soluzione, e la miscela è stata agitata per 60 minuti per ottenere una soluzione trasparente. Successivamente, 4,39 g di un linaclotide sono stati aggiunti alla soluzione e mescolati per 90 minuti. Il pH della soluzione era 1,73. Questa era la soluzione di rivestimento.

Preparazione delle Perle Attive: 674,5 g di perle di cellulosa microcristallina (Celphere CP-305; Ashai Kasei Corporation (Tokyo; Giappone) sono stati aggiunti a una colonna Wurster di un letto fluido Glatt GPCG-30. Le perle di cellulosa microcristallina sono state fluidizzate e riscaldate per 30 minuti a una temperatura di prodotto di 60 °C. Successivamente, la soluzione di rivestimento è stata stratificata alle perle. La temperatura di prodotto è stata controllata tra 45 °C e 49 °C mediante una temperatura di ingresso di 80 °C, una velocità di spruzzo di 5,0-11 g/min, una pressione di atomizzazione di 2,0 bar, e un volume di aria di 40 - 50 m³/ora. Dopo che tutta la soluzione di rivestimento è stata stratificata alle perle, le perle sono state essiccate per 10 minuti con una temperatura di prodotto di 46,9 °C – 50,9°C. Il prodotto di questo processo è stato denominato perle attive.

La cromatografia liquida in fase inversa del linaclotide estratto da una formulazione preparata come descritto sopra ha dimostrato che il linaclotide estratto e uno standard di riferimento di linaclotide esibivano lo stesso tempo di ritenzione, e che non vi erano variazioni significative della purezza per effetto del processo di formulazione.

Per formare capsule, 49,50 g di perle attive sono stati aggiunti a una sacca trasparente. Successivamente, alla sacca sono stati aggiunti 0,25 g di leucina, setacciata attraverso un setaccio da 60 maglie. La sacca è stata legata e mescolata per 125 giri per mescolare tutti i materiali. Successivamente, alla sacca sono stati aggiunti 0,25 g di talco, setacciati attraverso un setaccio da 60 maglie. La sacca è stata legata e mescolata per 125 giri per mescolare tutti i materiali. Una volta che tutti i materiali sono stati mescolati, la miscela è stata utilizzata per riempire capsule di gelatina di Grandezza 2 a un peso obiettivo di 227 mg/capsula con un intervallo di $\pm 5\%$.

Esempio 20: Preparazione di Capsule Contendenti una Formulazione di Linaclotide

Perle attive sono state preparate secondo l'Esempio 16. Le perle attive sono state testate in relazione al contenuto di linaclotide. Sulla base del saggio sulle perle attive, una quantità appropriata di perle attive (96 mg – 123 mg) è stata immessa per riempire capsule rigide di gelatina di grandezza 2 utilizzando una macchina incapsulatrice MG2 Futura, per ottenere una concentrazione di linaclotide di 300 μg .

Perle attive sono state preparate secondo l'Esempio 15. Le perle attive sono state testate in relazione al contenuto di linaclotide. Sulla base del saggio sulle perle attive, una quantità appropriata di perle attive (48mg - 62mg) è stata immessa per riempire capsule rigide di gelatina di grandezza 2 utilizzando una macchina incapsulatrice MG2 Futura, per ottenere una concentrazione di linaclotide di 150 μg .

Esempio 21: Misurazione di Contenuto di Linaclotide e Purezza

Il contenuto di linaclotide e la purezza e la misurazione delle sostanze associate al linaclotide, possono essere determinati mediante cromatografia liquida a gradiente in fase inversa utilizzando un Sistema LC Agilent Serie 1100 con software Chemstation Rev A.09.03 o equivalente. Viene utilizzata una colonna C18 YMC Pro™ (dimensioni: 3,0 x 150 mm, 3,5 μm , 120 Å; Waters Corp., Milford, MA), o equivalente, e viene mantenuta a 40 °C. La fase mobile A (MPA) è costituita da acqua con lo 0,1% di acido trifluoroacetico, mentre la fase mobile B (MPB) è costituita da 95% di acetonitrile:5% di acqua, con lo 0,1% di acido trifluoroacetico. L'eluizione del

linaclotide e delle sostanze ad esso associate viene compiuta con un gradiente dallo 0% al 47% di MPB in 28 minuti, seguita da un innalzamento al 100% di MPB in 4 minuti con un mantenimento al 100% di MPB per 5 minuti per lavare la colonna. Il riequilibrio della colonna viene compiuto ritornando allo 0% di MPB in 1 minuto, con un successivo mantenimento al 100% di MPA per 10 minuti. La velocità di flusso è di 0,6 ml/min., e il rilevamento viene compiuto mediante UV a 220 nm.

I campioni per l'analisi vengono preparati mediante l'aggiunta dei contenuti delle capsule di linaclotide a 0,1 N HCl, per ottenere una concentrazione obiettivo di 20 µg di linaclotide/ml. 100 µl di questa soluzione vengono iniettati sulla colonna.

Il contenuto di linaclotide viene misurato determinando la concentrazione di linaclotide nel campione preparato rispetto a uno standard esterno di linaclotide preparato in modo analogo.

Un esempio di un'analisi del linaclotide mediante HPLC è rappresentata nella Figura 1, in cui "Ossidazione" si riferisce al prodotto di ossidazione del linaclotide, "Immina da Formaldeide" si riferisce al prodotto imminico da formaldeide del linaclotide, e "Idrolisi" si riferisce al prodotto di idrolisi del linaclotide.

Esempio 22: Prova di Stabilità di una Formulazione di Linaclotide

Per le formulazioni degli Esempi 1-15 e 17, capsule di gelatina sono state riempite con circa 225 mg di perle attive. Cinque capsule riempite sono state poste in flaconi di plastica. I flaconi contenevano 1 – 2 g di essiccante e sono stati sigillati a induzione. I flaconi sono stati conservati a 40 °C/75 % RH per sei mesi.

Il contenuto di linaclotide e la purezza e la quantità delle sostanze associate al linaclotide sono stati misurati sostanzialmente come descritto nell'Esempio 21, o con un metodo equivalente. I risultati sono forniti nella Tabella 7.

Tabella 7

Esempio	% Saggio [peso/peso] dell'Iniziale	Area % mediante HPLC			
		Linaclotide (% dell'Iniziale)	Ossidazione	Idrolisi	Immina da Formaldeide

1	107.56	96.88 (99.13)	0,11	0,24	0,19
3	98.87	97.36 (99.42)	0,07	0,52	0,15
4	95.67	95.61 (97.83)	0,10	0,16	0,24
5	103.41	95.87 (98.68)	0,07	0,25	0,24
6	99.46	93.64 (95.51)	0,14	0,70	0,55
7	98.64	93.44 (95.36)	0,45	1.45	0,63
8	92.81	88.20 (94.90)	0,37	1.85	0,49
9	93.53	93.81 (96.55)	0,2	0,41	1.06
10	77.12	84.85 (87.77)	0,37	0,29	4.45
11	85.73	89.09 (91.63)	1.18	0,49	1.38
12	33.60	41.98 (43.15)	ND	ND	ND

13	87.69	91.91 (94.01)	1.98	0,74	0,86
14	86.94	90,59 (92.70)	0,25	0,54	1.23
15	87.71	87.54 (93.24)	0,24	0,66	1.67
17	98.94	93.65 (95.16)	ND	0,32	0,73

Per la formulazione dell'Esempio 16, capsule di gelatina sono state riempite con circa 113 mg di perle totali. 35 capsule riempite sono state poste in flaconi di plastica. I flaconi contenevano 2 g di essiccante e sono stati sigillati a induzione. I flaconi sono stati conservati a 40 °C/75 % di umidità relativa per un mese.

Il contenuto di linaclotide e la purezza e la quantità delle sostanze associate al linaclotide sono stati misurati sostanzialmente come descritto nell'Esempio 21, o con un metodo equivalente. I risultati sono forniti nella Tabella.

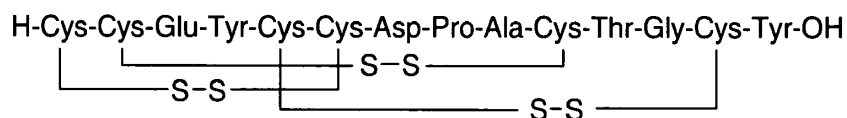
8.

Tabella 8

Esempio	% Saggio [peso/peso] dell'Iniziale	Area % mediante HPLC			
		Linaclotide (% dell'Iniziale)	Ossidazione	Idrolisi	Immina da Formaldeide
16	97.01	97.12 (99.79)	<0,1	<0,1	0,34

Esempio 23: Isolamento e Preparazione del Prodotto di Idrolisi del Linaclotide

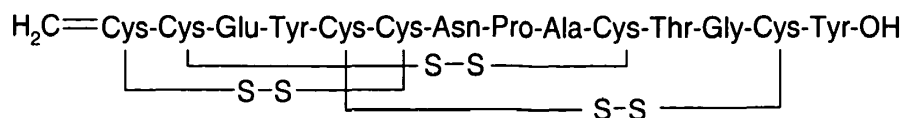
Il prodotto di idrolisi del linaclotide si manifesta come trasformazione dell'Asn in posizione 7 in Asp (la numerazione del linaclotide inizia con 1 in corrispondenza del Cys N-terminale). La sua struttura è raffigurata di seguito:



Il prodotto di idrolisi del linaclotide è stato sintetizzato in modo indipendente per confermare l'identità utilizzando tecniche standard di sintesi peptidica in fase solida. Il prodotto di idrolisi del linaclotide può anche venire preparato mediante altri metodi noti nel settore, per esempio, mediante l'isolamento da preparazioni di linaclotide utilizzando tecniche cromatografiche oppure mediante espressione ricombinante di un acido nucleico codificante il prodotto di idrolisi del linaclotide (Cys Cys Glu Tyr Cys Cys Asp Pro Ala Cys Thr Gly Cys Tyr), facoltativamente seguita dall'ossidazione dei residui di cisteina per formare i ponti disolfuro.

Esempio 24: Isolamento e Preparazione del Prodotto imminico da formaldeide del Linaclotide

Il prodotto imminico da formaldeide si manifesta come l'aggiunta di un'immina al Cys N-terminale (Cys 1) attraverso una reazione mediata da formaldeide. Una struttura proposta del prodotto è raffigurata di seguito:

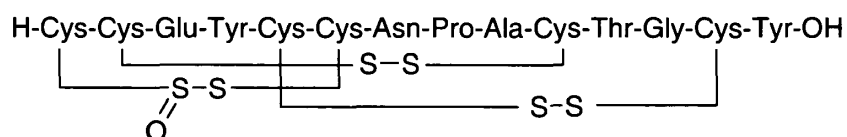


Il prodotto imminico da formaldeide del linaclotide è stato sintetizzato in modo indipendente per confermare l'identità facendo reagire il linaclotide con la formaldeide (rapporto molare 1:5) in etanolo assoluto a temperatura

ambiente per 4 giorni. Il prodotto imminico da formaldeide può anche venire preparato mediante altri metodi noti nel settore, per esempio, mediante l'isolamento da preparazioni di linaclotide utilizzando tecniche cromatografiche oppure mediante sintesi peptidica chimica oppure mediante l'espressione ricombinante di un acido nucleico codificante il linaclotide, seguita da formilazione come descritta nel presente documento oppure da altri metodi noti nel settore, con successiva ossidazione facoltativa dei residui di cisteina per formare i ponti disolfuro.

Esempio 25: Isolamento e Preparazione del Prodotto di Ossidazione del linaclotide

Il prodotto di ossidazione del linaclotide ha un peso molecolare di 1542,8. Verosimilmente, il prodotto di ossidazione si forma come aggiunta di un singolo atomo di ossigeno a uno dei sei atomi di zolfo cisteinilico. Di seguito viene illustrata una struttura potenziale del prodotto, sebbene l'esperto del ramo riconoscerà che l'atomo di ossigeno può essere attaccato a uno qualsiasi degli altri cinque atomi di zolfo:



Per supportare questa identificazione, il prodotto di ossidazione del linaclotide è stato prodotto facendo reagire il linaclotide con perossido di idrogeno (3% acquoso) a temperatura ambiente o a 40 °C fino a 24 ore. Il prodotto risultante viene arricchito nel prodotto di ossidazione dell'1-10%. Il prodotto di ossidazione del linaclotide può anche venire preparato con altri metodi noti nel settore, per esempio, mediante l'isolamento da preparazioni di linaclotide utilizzando tecniche cromatografiche oppure mediante sintesi peptidica chimica oppure mediante l'espressione ricombinante di un acido nucleico codificante il linaclotide, seguita dall'ossidazione dei residui di cisteina per formare i ponti disolfuro facendo reagire il linaclotide con perossido di idrogeno, o un reagente ossidante simile, per formare il prodotto di ossidazione del linaclotide.

Esempio 26 Formazione di Compresse di Linaclotide

Granulazione a Letto Fluidico

Linaclotide, CaCl₂, leucina e polivinilpirrolidone (PVP) K30 sono stati sciolti in HCl 0,0001N per formare la soluzione di rivestimento (vedere Tabella 9). Isomalto è stato caricato nella boccia del letto fluido. Con la fluidizzazione della polvere di isomalto, la soluzione del farmaco è stata spruzzata sopra a una velocità di

~10g/min, con una temperatura di prodotto di ~40 °C per rivestimento la polvere con la soluzione di rivestimento. Una volta finita la spruzzatura, i granuli di linaclotide sono stati essiccati per 30 minuti e il prodotto è stato scaricato.

Tabella 9

Esempio	Quantità Catione []*	Quantità Ammina []	Quantità Legante	Quantità di Linaclotide	Quantità di Riempitivo
26A	CaCl ₂ ·2H ₂ O 15.4 g [60]	Leucina 6.9 g [30]	PVP K30 40 g	3.08 g	Isomalto 935 g

Come riempitivo per la granulazione a letto fluido è stato utilizzato anche fosfato bicalcico o Avicel.

Granulazione a umido

Il linaclotide è stato pesato e sciolto sotto agitazione in 250 g di HCl 0,1 N (pH 1,7) per formare la Soluzione 1 (vedere Tabella 10). CaCl₂ e leucina sono stati pesati e sciolti sotto agitazione in 100 g di HCl 0,1 N per formare la Soluzione 2. La Soluzione 1 e la Soluzione 2 sono state mescolate insieme sotto agitazione per formare la soluzione di rivestimento. Avicel è stato aggiunto alla boccia di un granulatore ad elevata forza di taglio. La soluzione di rivestimento è stata aggiunta nell'Avicel mescolando a 500 giri/min. Una volta conclusa l'aggiunta della soluzione, i granuli sono stati mescolati e sminuzzati per 1 minuto. I granuli a umido ottenuti sono stati caricati nella boccia di un letto fluido, ed essiccati per 15 minuti, e successivamente i granuli di linaclotide sono stati scaricati.

Tabella 10

Esempio	Quantità Catione []*	Quantità Ammina []	Quantità Legante	Quantità di Linaclotide	Quantità di Riempitivo
---------	-----------------------------	---------------------	---------------------	----------------------------	---------------------------

26B	CaCl ₂ .2H ₂ O 7.68 g [60]	Leucina 3.42 g [30]	N.D.	1.54g	Isomalto 488 g
-----	--	---------------------	------	-------	----------------

Nella formula della granulazione a umido, il rapporto molare tra CaCl₂ e leucina e linaclotide è stato regolato rispettivamente nell'intervallo da 60 a 100 e da 30 a 50. Inoltre, in un esempio è stato aggiunto saccarosio. Vedere Tabella 11.

Tabella 11

Esempio	Forza (Linaclotide/Riempitivo)	Riempitivo	CaCl ₂ :Leu:Linaclotide	Saccarosio	HCl
26C	600 µg/225 mg	Avicel	60:30:1	No	0,1N
26D	600 µg/225 mg	Avicel	80:40:1	No	0,1N
26E	600 µg/225 mg	Avicel	100:50:1	No	0,1N
26F	600 µg/225 mg	Avicel	60:30:1	5%	0,1N

Formulazione di Compresse

I granuli di linaclotide sono stati mescolati con i seguenti eccipienti (vedere Tabella 12) e compressi in compresse con una durezza di ~4kp.

Tabella 12

Ingrediente Funzione	Peso in una compressa da 200 mg con 150 µg di Linaclotide	Peso in una compressa da 400 mg con 300 µg di Linaclotide	Peso in una compressa da 800 mg con 600 µg di Linaclotide	Peso in una compressa da 1600 mg con 1200 µg di Linaclotide
Granuli di Linaclotide API	53.4 mg	106.8 mg	213.6 mg	427.2 mg

Isomalto Riempitivo per Compresse	134.1 mg	268.2 mg	536.4 mg	1072.8 mg
Crospovidone Disintegrante	10 mg	20 mg	40 mg	80 mg
Stearato di Magnesio Lubrificante	1.5 mg	3 mg	6 mg	12 mg
Talco Scivolante	1 mg	2 mg	4 mg	8 mg
Totale del materiale secco	200 mg	400 mg	800 mg	1600 mg

Come riempitivo per compresse è stato utilizzato anche isomalto, amido 1500 o fosfato bicalcico, sulla base della formula di cui sopra (vedere Tabella 13).

Tabella 13

Granulazione	Riempitivo	CaCl ₂ :leucina:Linacotide	Riempitivo per Compresse
Letto fluido	isomalto	60:30:1	isomalto
			amido 1500
			fosfato bicalcico
Letto fluido	Avicel	60:30:1	amido 1500
Granulazione a umido	Avicel	100:50:1	amido 1500
Granulazione a umido	Avicel	60:30:1 + 5% saccarosio	amido 1500

Dopo due settimane di conservazione a 40 °C e 75% di umidità relativa, tutte le compresse descritte nella Tabella 13 hanno mostrato che i valori di saggio del linacotide sono superiori al 90%.

Esempi 27-53: Preparazione di Formulazioni di Linacotide

Le formulazioni di linacotide degli Esempi 27-53 sono state prodotte sostanzialmente come descritto nello Schema di Formulazione A e negli Esempi 1-15. La soluzione di rivestimento di linacotide conteneva lo 0,7% di legante (peso/vol), e la soluzione di rivestimento è stata spruzzata su perle di Celphere CP-305 come descritto negli Esempi 1-15. La Tabella 14 fornisce il tipo di catione, ammina e/o altro eccipiente, insieme ai loro rapporti molari rispetto al linacotide, nonché al tipo di legante utilizzato, mentre la Tabella 15 fornisce le condizioni alle quali le perle sono state rivestite:

Tabella 14

Esempio	Catione	Ammina	Rapporto molare	Legante	Additivo
27	CaCl ₂ •2H ₂ O	--	20:0:1	Ipromellosa	-
28	MnCl ₂ •4H ₂ O	--	20:0:1	Ipromellosa	-

29	KCl	--	20:0:1	Ipromellosa	-
30	AlCl ₃ •6H ₂ O	--	20:0:1	Ipromellosa	-
31	CaCl ₂ •2H ₂ O	Leucina	60:30:1	Ipromellosa	--
32	Ca Alginato	Leucina	60:30:1	Ipromellosa	--
33	CaHPO ₄	Leucina	60:30:1	Ipromellosa	-
34	Ca Stearato	Leucina	60:30:1	Ipromellosa	--
35	CaSO ₄ •2H ₂ O	Leucina	60:30:1	Ipromellosa	--
36	Zn(OAc) ₂	Leucina	60:30:1	Ipromellosa	--
37	CaCl ₂ •2H ₂ O	Isoleucina	60:30:1	Ipromellosa	--
38	CaCl ₂ •2H ₂ O	Valina	60:30:1	Ipromellosa	--
39	CaCl ₂ •2H ₂ O	Metionina	60:30:1	Ipromellosa	--
40	CaCl ₂ •2H ₂ O	Fenilalanina	60:30:1	Ipromellosa	--
41	--	Istidina	0:20:1	Ipromellosa	-
42	-	Triptofano	0:20:1	Ipromellosa	-
43	CaCl ₂ •2H ₂ O	--	0:20:1:20 (Vit. E)	Ipromellosa	Vitamina E
44	--	acido 1-aminocicloesano carbossilico	0:20:1	Ipromellosa	--
45	-	cicloesilammina	0:20:1	Ipromellosa	--
46	--	2-metilbutilammina	0:20:1	Ipromellosa	--

47	-	chitosano	0:20:1	Ipromellosa	-
48	CaCl ₂ •2H ₂ O	Leucina	60:30:1	Polivinilpirrolidone	--
49	CaCl ₂ •2H ₂ O	Leucina	60:30:1	Metilcellulosa (Methocel A15)	--
50	CaCl ₂ •2H ₂ O	Leucina	60:30:1	Idrossipropil cellulosa	--
51	NaCl	--	20:0:1	Ipromellosa	--
52	CaCl ₂ •2H ₂ O	Leucina	60:30:1	Gelatina	--
53	CaCl ₂ •2H ₂ O	Glicina	60:30:1	Ipromellosa	--

* "Catione" si riferisce al catione contenuto nel sale utilizzato nell'esempio, "Ammina" si riferisce all'ammina primaria stericamente impedita, "Rapporto molare" si riferisce al rapporto molare di catione:ammina:linacotide:additivo (se applicabile).

Tabella 15

Esempio	Temp Spruzzatura Prodotto (°C)	Temp Ingresso (°C)	Velocità Spruzzo (g/min)	Pressione di Atomizzazione (psig)	Flusso di Aria
27	25.1-35.1	37.0-50,1	0,44-0,62	20	Basso
28	24.1-35.8	37.3-50,9	0,30-0,61	18-20	Basso
29	28.1-34.7	37.6-47.8	0,50-0,63	18	Basso
30	29.8-35.0	33.9-50,2	0,32-0,47	20	Basso
31	25.5-35.1	34.6-50,4	0,40-0,61	20	Basso
33	30,4-35.2	38.7-51.0	0,48-0,52	20	Basso
35	29.9-34.9	37.8-50,4	0,37-0,76	20	Basso

36	29.9-35.4	38.0-50,1	0,38-0,50	21	Basso
37	27.3-34.9	36.2-50,1	0,45-0,54	20	Basso
38	27.6-36.2	36.9-47.3	0,43-0,66	20	Basso
39	30,1-35.8	40,6-47.1	0,30-0,48	20	Basso
40	31.7-37.5	41.3-51.0	0,40-0,67	18	Basso
41	29.4-36.2	41.7-49.5	0,48-0,53	20	Basso
42	31.0-38.6	42.4-51.2	0,52-0,64	20	Basso
44	31.0-37.6	39.5-48.8	0,40-0,46	18	Basso
45	28.7-36.5	37.1-49.2	0,49-0,61	18	Basso
46	28.6-35.2	37.1-47.2	0,39-0,53	18	Basso
47	33.4-38.7	40,6-48.5	0,48-0,47	18-26	Basso
48	31.6-36.1	41.6-46.7	0,36-0,72	18	Basso
49	28.5-36.5	36.8-48.1	0,45-0,51	18	Basso
50	27.9-36.4	37.1-48.6	0,35-0,60	18	Basso
51	29.3-37.9	36.7-49.2	0,42-0,55	18	Basso
52	29.8-36.3	36.1-49.1	0,44-0,54	18	Basso
53	28.9-35.8	36.5-47.7	0,45-0,52	18	Basso

Durante la spruzzatura sulle perle si sono verificati problemi di lavorazione per gli esempi 32 (Alginato di Calcio Alginato), 34 (Calcio Stearato) e 43 (CaCl₂:Vitamina E). Pertanto, la soluzione di rivestimento è stata mescolata con le perle Celphere e le perle sono state essiccate su un vassoio.

Esempio 54: Prova di Stabilità di una Formulazione di Linaclotide

Per le formulazioni degli Esempi 27-53, capsule di gelatina sono state riempite con circa 225 mg di perle attive (600 µg di linaclotide/capsula). Cinque capsule riempite sono state poste in flaconi di plastica. I flaconi contenevano 1 g di essiccante e sono stati sigillati a induzione. I flaconi sono stati conservati a 40 °C/75 % RH per tre mesi o sei mesi.

Il contenuto di linaclotide (µg/mg) e la percentuale di purezza cromatografica (% PC) sono stati misurati sostanzialmente come descritto nell'Esempio 21 o con un metodo equivalente. I risultati sono forniti nella Tabella 16A (stabilità a tre mesi) o nella Tabella 16B (stabilità a sei mesi).

Tabella 16A

Esempio	% Saggio [peso/peso] dell'Iniziale*	% PC	% PC [% dell'Iniziale]
27	96.30	93.98 %	98.07
28	96.82	93.59 %	96.07
29	101.56	92.71 %	95.40
30	109.06	93.07 %	95.76
31	103.59	95.98 %	99.12
32	66.53	82.66 %	85.27
33	96.81	91.94 %	93.55
34	30,75	55.47 %	56.88
35	101.37	93.07 %	95.02
36	105.27	91.49 %	93.45
37	109.22	95.73 %	97.99
38	99.24	95.79 %	97.59

39	95.22	95.76 %	97.82
40	102.98	95.68 %	97.60
41	110,92	94.03 %	96.30
42	120,05	88.57 %	91.65
43	58.51	70,99 %	74.06
44	98.83	93.84 %	96.88
45	91.72	90,07 %	93.71
46	90,17	89.45 %	91.67
47	105.70	88.59 %	91.31
48	106.92	95.11 %	97.62
49	96.48	94.62 %	96.60
50	112.30	95.86 %	98.98
51	102.92	91.80 %	99.79
52	108.12	83.10 %	86.80
53	104.22	95.25 %	97.95

* La variabilità dei valori per il Saggio [% peso/peso dell'Iniziale] riflette il controllo imperfetto dell'uniformità dei contenuti per questi lotti di capsule, i quali sono prodotti su piccola scala.

Si ritiene che le difficoltà incontrate durante la lavorazione e la risultante procedura di lavorazione modificata per gli Esempi 32, 34 e 43 (vedere sopra) possano spiegare la minore stabilità osservata in questi campioni.

Tabella 16B

Esempio	% Saggio [peso/peso] di Iniziale	Area % mediante HPLC			
		Linacotide (% dell'Iniziale)	Ossidazione	Idrolisi	Immina da ùFormaldeide
27	91.58	89.68 (93.58)	0,09	0,60	1.59
28	93.36	88.44 (90,78)	0,24	0,41	1.55
29	93.73	87.79 (90,34)	0,18	0,53	1.82
30	108.63	93.93 (96.65)	0,39	1.11	0,44
31	94.53	86.83 (89.67)	-	0,41	0,98
32	69.28	73.15 (75.46)	0,97	1.93	1.69
33	88.91	85.96 (87.46)	0,97	3.86	0,17
34	77.37	70,42 (72.21)	0,67	0,99	1.78
35	95.34	88.85 (90,71)	0,39	1.80	0,33

36	102.83	87.27 (89.14)	3.31	1.86	0,21
37	99.33	87.23 (89.29)	-	0,59	0,25
38	93.97	86.27 (87.89)	-	0,42	0,45
39	87.78	85.23 (87.07)	-	0,40	0,31
40	94.36	86.28 (88.01)	-	0,46	0,41
41	104.28	90,04 (92.22)	0,33	1.61	0,52
42	117.92	76.85 (79.52)	0,14	1.21	0,10
43	54.21	59.54 (62.12)	5.92	4.44	1.83
44	92.56	90,24 (93.17)	0,16	1.47	0,54
45	76.23	79.57 (82.78)	0,17	0,87	1.22
46	73.07	78.92 (80,88)	0,51	0,66	0,65

47	97.65	82.73 (85.27)	0,92	0,60	2.68
48	93.94	85.24 (87.49)	0,05	0,69	0,20
49	51.65	63.46 (64.79)	0,96	0,58	2.24
50	104.75	92.61 (95.62)	-	0,38	0,48
51	94.15	88.19 (92.01)	-	0,58	1.35
52	100,06	72.81 (75.62)	0,06	0,49	0,41
53	95.74	89.80 (92.35)	0,06	0,36	1.40

I valori della purezza cromatografica per gli Esempi 27-53 in corrispondenza del punto temporale dei sei mesi appaiono atipicamente bassi, in particolare in relazione ai punti temporali dei tre mesi per questi campioni. È possibile stabilire trend relativi per gli effetti stabilizzanti e destabilizzanti mediante il confronto con l'Esempio 27 e l'Esempio 31 come esperimenti di riferimento interni, per i quali i valori della purezza cromatografica erano inferiori di circa il 6-8% rispetto a quanto osservato in modo costante in altri studi che sono stati condotti (vedere, per esempio, Esempi 2 e 9). I dati dei tre mesi forniti nella Tabella 16A per le stesse formulazioni mostrano valori di purezza cromatografica più tipici. Pertanto, è probabile che i bassi valori di purezza cromatografica a sei mesi siano dovuti a una capacità insufficiente dell'essiccante a sei mesi per queste condizioni di conservazione particolari. Questa ipotesi è supportata dai picchi di impurità che vengono osservati e che sono indicativi di

un'esposizione all'umidità.

Esempio 55: Prova di Stabilità di una Formulazione di Linaclotide a 25°C/60% di RH per 24 mesi

Per le formulazioni degli Esempi 8-15 e 17, capsule di gelatina sono state riempite con circa 225 mg di perle attive. Cinque capsule riempite sono state poste in flaconi di plastica. I flaconi contenevano 1 g di essiccante e sono stati sigillati a induzione. I flaconi sono stati conservati a 25 °C/60 % RH per 24 mesi.

Il contenuto di linaclotide e la purezza, nonché la quantità di sostanze associate al linaclotide, sono stati misurati sostanzialmente come descritto nell'Esempio 21 o con un metodo equivalente. I risultati sono forniti nella Tabella 17.

Tabella 17

Esempio	% Saggio [peso/peso] di Iniziale	Area % mediante HPLC			
		Linaclotide (% dell'Iniziale)	Ossidazione	Idrolisi	Immina da Formaldeide
8	94.36	94.58 (101.7)	0,21	1.26	0,53
9	94.08	95.09 (97.86)	0,14	0,36	0,93
10	80,80	87.82 (90,84)	0,38	0,26	3.77
10a ¹⁾	89.29	91.55 (94.95)	0,50	0,39	1.60
10b ²⁾	88.41	91.19 (95.02)	0,44	0,34	1.61

10c ³⁾	72.35	72.36 (75.76)	0,30	0,26	19.13
11	87.50	90,25 (92.82)	1.03	0,42	1.94
12	62.82	66.77 (68.62)	2.20	1.24	2.11
13	90,59	93.79 (95.93)	1.21	0,65	0,77
14	91.41	94.88 (97.09)	0,18	0,47	0,65
15	90,91	90,31 (96.18)	0,17	0,56	1.64
17	91.45	92.92 (96.81)	0,71	0,56	0,73

¹⁾ Come per l'Esempio 10 con un rivestimento protettivo aggiuntivo di Aquacoat (Dispersione Acquosa di Etilcellulosa Aquacoat 15% peso/peso, FMC Biopolymer, ECD-30)

²⁾ Come per l'Esempio 10 con un rivestimento protettivo aggiuntivo di Opadry (dispersione AMB Opadry, 20% peso/peso, Colorcon).

³⁾ Come per l'Esempio 10 con un rivestimento protettivo aggiuntivo di Eudragit (Eudragit E PO, Degussa, Roehm Pharma Polymers; SLS, Acido Stearico)

Esempio 56: Formulazione di Compresse di Linaclotide e Prova di Stabilità

Granuli attivi di linaclotide sono stati realizzati mediante granulazione a letto fluido sostanzialmente come descritto nell'Esempio 26 utilizzando i reagenti descritti nella Tabella 18. I granuli di linaclotide sono stati

mescolati con gli eccipienti descritti nella Tabella 19 e compressi in compresse con una durezza di ~4kp.

35 compresse sono state confezionate in un flacone da 60 cc con 5 grammi di essiccante, e conservate a 40 °C/75 % RH fino a 3 mesi o a 30 °C/65 % RH fino a 3 mesi.

Il contenuto di linaclotide e la purezza, nonché la quantità di sostanze associate al linaclotide, sono stati misurati sostanzialmente come descritto nell'Esempio 21 o con un metodo equivalente. I risultati sono forniti nella Tabella 20.

Tabella 18

Ingredienti	Funzione	Granuli, 150 µg 7 di linaclotide/53.7 mg di granuli
Linaclotide	API	0,15 mg
Mannitolo, USP	Riempitivo per granuli	50 mg
Leucina, USP	Stabilizzante	0,64 mg
CaCl ₂ •2H ₂ O, USP	Stabilizzante	0,72 mg
PVP K30, USP	Legante	2.2 mg
Soluzione di HCl (pH 2.5)	--	--

Tabella 19

Ingredienti	Funzione	Compressa (200 mg di peso totale)
Granuli di linaclotide	Attivo	53.4
Isomalto, USP	Riempitivo per compresse	134.1
Croscarmellosa Sodica, USP	Disintegrante	10
Magnesio stearato, USP	Lubrificante	1.5

Talco, USP	Scivolante	1.0
------------	------------	-----

Tabella 20

Condizione	Tempo	Variazione della % del Saggio	Degradazione Totale
40°C/75 %RH	Iniziale	100	2.27
40°C/75 % RH	1 mese	96.2	2.09
40°C/75 % RH	2 mesi	102	2.15
40°C/75 % RH	3 mesi	99.5	1.52
30°C/65 % RH	3 mesi	100,1	1.19

Esempio 57: Formulazione di Capsule di Linaclotide

La formulazione di linaclotide dell'Esempio 57 è stata prodotta sostanzialmente come descritto nell'Esempio 16. La Tabella 21 fornisce gli ingredienti della soluzione di rivestimento e i loro pesi teorici (mg/g) e (kg/lotto) per la Soluzione di Strato Farmacologica di Linacloride in Perle. La Tabella 22 fornisce gli ingredienti e i pesi teorici (mg/g) e (kg/lotto) per la preparazione per le Perle Attive di Linaclotide. La formulazione di linaclotide è stata incapsulata in capsule rigide di gelatina di grandezza 2 (peso 61 mg), sostanzialmente come descritto nell'Esempio 20. Le capsule di linaclotide da 150 µg contenevano 56 mg di perle di linaclotide (600 µg di linaclotide/225 mg di perle) mentre le capsule di linaclotide da 300 µg contenevano 113 mg di perle di (600 µg di linaclotide/225 mg di perle).

Tabella 21

Ingredienti	Funzione	Peso Teorico (mg/g)	Peso Teorico (kg/lotto)
Linaclotide	API	2.67	0,067
CaCl ₂ •2H ₂ O, USP, EP, BP, JP	Stabilizzante	15.41	0,385

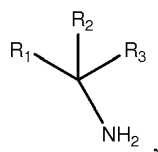
L-Leucina, USP	Stabilizzante	6.87	0,172
Idrossipropil Metilcellulosa, USP (Methocel E5 Premium LV)	Legante	7.00	0,175
Acqua purificata, USP	--	--	16.666
HCl (36.5-38.0), NF	--	--	0,114

Tabella 22

Ingredienti	Funzione	Peso Teorico (mg/g)	Peso Teorico (kg/lotto)
Soluzione di Strato Farmacologica di Linacloride in Perle	Soluzione di rivestimento	31.95	0,799
Sfere di cellulosa microcristallina NF (Celphere CP-305)	Perle	968.05	24.201
Totale Finale: Perle di Linaclotide, 600 µg/225 mg)	Perle attive	1000	25.000

Rivendicazioni

1. Composizione farmaceutica comprendente un vettore farmaceuticamente accettabile, linaclotide, un catione scelto da Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} , e un'ammina primaria stericamente impedita, in cui la composizione farmaceutica è una composizione solida idonea per la somministrazione orale.
2. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1, in cui detto Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} è fornito come cloruro di magnesio, cloruro di calcio, fosfato di calcio, solfato di calcio, acetato di zinco, cloruro di manganese, cloruro di potassio, cloruro di sodio o cloruro di alluminio.
3. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 o la rivendicazione 2, in cui detto catione è Ca^{2+} .
4. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1, in cui detto catione è Ca^{2+} ed è fornito come cloruro di calcio.
5. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui l'ammina primaria stericamente impedita è un amminoacido, un'ammina polimerica o un composto della formula



- in cui R_1 , R_2 e R_3 , in modo indipendente, sono scelti da: H; $-C(O)OH$; alchile C_1-C_6 , facoltativamente sostituito da $-CO_2H$, $-CONH_2$, o un arile o eteroarile a 5-10 elementi; alcossialchile C_1-C_6 ; o tioalcossialchile C_1-C_6 , in cui uno qualsiasi dei gruppi alchilici o arilici di cui sopra può essere sostituito in uno o più modi con alogeno o NH_2 , e a condizione che non più di due di R_1 , R_2 e R_3 siano H.
6. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 4, in cui l'ammina primaria stericamente impedita è istidina, fenilalanina, alanina, acido glutammico, acido aspartico, glutammina, leucina, metionina, asparagina, tirosina, treonina, isoleucina, triptofano o valina.
 7. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 4, in cui l'ammina primaria stericamente impedita è leucina.
 8. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui la composizione comprende inoltre uno scivolante farmaceuticamente accettabile, un lubrificante farmaceuticamente accettabile o

un additivo farmaceuticamente accettabile che agisce come scivolante e lubrificante.

9. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui la composizione comprende inoltre uno o più di un antiossidante, un legante farmaceuticamente accettabile, o un riempitivo farmaceuticamente accettabile.

10. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 9, in cui la composizione comprende un legante farmaceuticamente accettabile scelto da alcol polivinilico, polivinilpirrolidone (povidone), un amido, maltodestrina o un etere di cellulosa.

11. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 10, in cui il legante farmaceuticamente accettabile è un etere di cellulosa scelto da metilcellulosa, etilcellulosa, carbossimetilcellulosa, idrossietil cellulosa, idrossietil metilcellulosa, idrossipropil cellulosa e idrossipropil metilcellulosa.

12. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 9 a 11, in cui la composizione comprende un riempitivo farmaceuticamente accettabile e il riempitivo farmaceuticamente accettabile è cellulosa, isomalto, mannitolo o fosfato di calcio bibasico.

13. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 12, in cui la cellulosa è scelta da cellulosa microfina e cellulosa microcristallina.

14. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui l'ammina primaria stericamente impedita è leucina, e il rapporto molare tra leucina e linaclotide è di almeno 10:1.

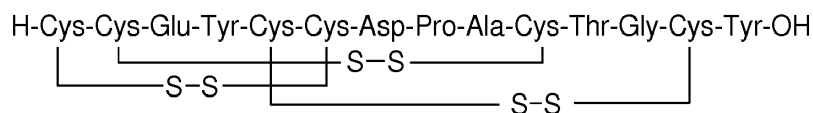
15. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui il catione è Ca^{2+} , l'ammina primaria stericamente impedita è leucina, e il rapporto molare tra Ca^{2+} e leucina è di almeno 1:1.

16. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui il rapporto molare di catione:ammina primaria stericamente impedita:linaclotide è di 40-100:20-50:1.

17. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui il catione è Ca^{2+} , l'ammina primaria stericamente impedita è leucina, e il rapporto molare di Ca^{2+} :leucina:linaclotide è di 60:30:1.

18. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui:

(i) un prodotto di idrolisi avente una struttura di:



comprende meno del 2% in peso rispetto al peso del linaclotide; oppure

(ii) un prodotto di ossidazione del linaclotide avente un peso molecolare di 1542,8 comprende meno del 2% in peso rispetto al peso del linaclotide.

19. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui la composizione comprende:

linaclotide;

Ca²⁺;

leucina; e

idrossipropil metilcellulosa,

in cui il linaclotide è presente nella composizione farmaceutica in una quantità tra 100 µg e 600 µg, e il rapporto molare di Ca²⁺:leucina:linaclotide è tra 5-100:5-50:1.

20. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 19, in cui il Ca²⁺ è fornito come CaCl₂.

21. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui la composizione comprende perle rivestite e le perle sono rivestite con una soluzione di rivestimento comprendente linaclotide.

22. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 21, in cui la soluzione di rivestimento comprende:

linaclotide;

Ca²⁺;

leucina; e

idrossipropil metilcellulosa,

in cui il linaclotide è presente nella composizione farmaceutica in una quantità tra 100 µg e 600 µg, e il rapporto molare di Ca²⁺:leucina:linaclotide è di 5-100:5-50:1.

23. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 22, in cui le perle comprendono cellulosa microcristallina.

24. Metodo per preparare una composizione farmaceutica comprendente linaclotide o un suo sale, il metodo comprendendo:

(a) fornire una soluzione acquosa comprendente:

(i) linaclotide o un suo sale farmaceuticamente accettabile;

(ii) un catione scelto da Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+ o Al^{3+} , e un'ammina primaria stericamente impedita; e,

(iii) facoltativamente, un legante farmaceuticamente accettabile; e

(b) applicare la soluzione acquosa a un riempitivo farmaceuticamente accettabile per generare un riempitivo rivestito con linaclotide.

25. Metodo secondo la rivendicazione 24, in cui la soluzione acquosa è applicata al riempitivo mediante spruzzatura.

26. Composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 23, per l'utilizzo in un metodo per il trattamento di un paziente che soffre di motilità intestinale compromessa, sindrome da colon irritabile, costipazione, dispepsia, gastroparesi, pseudo-ostruzione cronica intestinale, morbo di Crohn, colite ulcerosa, malattia infiammatoria intestinale, o dolore associato a costipazione.

27. Composizione farmaceutica per l'utilizzo secondo la rivendicazione 26, in cui detta sindrome da colon irritabile è una sindrome da colon irritabile con costipazione predominante o una sindrome da colon irritabile alternata.

28. Composizione farmaceutica per l'utilizzo secondo la rivendicazione 27, in cui detta sindrome da colon irritabile è una sindrome da colon irritabile con costipazione predominante.

29. Composizione farmaceutica per l'utilizzo secondo la rivendicazione 26, in cui detta costipazione è costituita da costipazione cronica, costipazione idiopatica, ileo post-operatorio, o costipazione causata dall'uso di oppioidi.

30. Composizione farmaceutica per l'utilizzo secondo la rivendicazione 29, in cui detta costipazione è una costipazione cronica.

31. Composizione farmaceutica per l'utilizzo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 26 a 30, in cui la composizione farmaceutica contiene da 50 µg a 1 mg di linaclotide.

32. Composizione farmaceutica per l'utilizzo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 26 a 30, in cui la composizione farmaceutica contiene 67,5 µg, 133 µg, 150 µg, 266 µg o 300 µg di linaclotide.
33. Composizione farmaceutica per l'utilizzo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 26 a 30, in cui la composizione farmaceutica contiene 266 µg di linaclotide.
34. Composizione farmaceutica per l'utilizzo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 26 a 30, in cui la composizione farmaceutica contiene 133 µg di linaclotide.
35. Composizione farmaceutica per l'utilizzo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 26 a 34, in cui la composizione farmaceutica viene somministrata una volta al giorno o due volte al giorno.
36. Composizione farmaceutica per l'utilizzo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 26 a 35, in cui la composizione farmaceutica viene somministrata una volta al giorno come una o due compresse o capsule.
37. Composizione farmaceutica per l'utilizzo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 26 a 36, in cui la composizione farmaceutica viene somministrata al paziente per un periodo di almeno quattro settimane.
38. Composizione farmaceutica per l'utilizzo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 26 a 37, in cui il trattamento con la composizione migliora almeno un sintomo scelto da dolore addominale ridotto, un aumento del numero di movimenti intestinali spontanei completi (CSBM) in una settimana, un aumento del numero di movimenti intestinali spontanei (SBM) in una settimana, consistenza delle feci migliorata, sforzo ridotto, disagio addominale ridotto, gonfiore ridotto o ridotta gravità dei sintomi della sindrome da colon irritabile con costipazione (IBS-c).
39. Forma di dosaggio unitario comprendente una composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 23.
40. Contenitore sigillato comprendente una pluralità di forme di dosaggio unitario secondo la rivendicazione 39.
41. Utilizzo di una composizione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 23 per la produzione di un medicinale per il trattamento di un paziente che soffre di motilità intestinale compromessa, sindrome da colon irritabile, costipazione, dispepsia, gastroparesi, pseudo-ostruzione cronica intestinale, morbo di Crohn, colite ulcerosa, malattia infiammatoria intestinale, o dolore associato a costipazione.

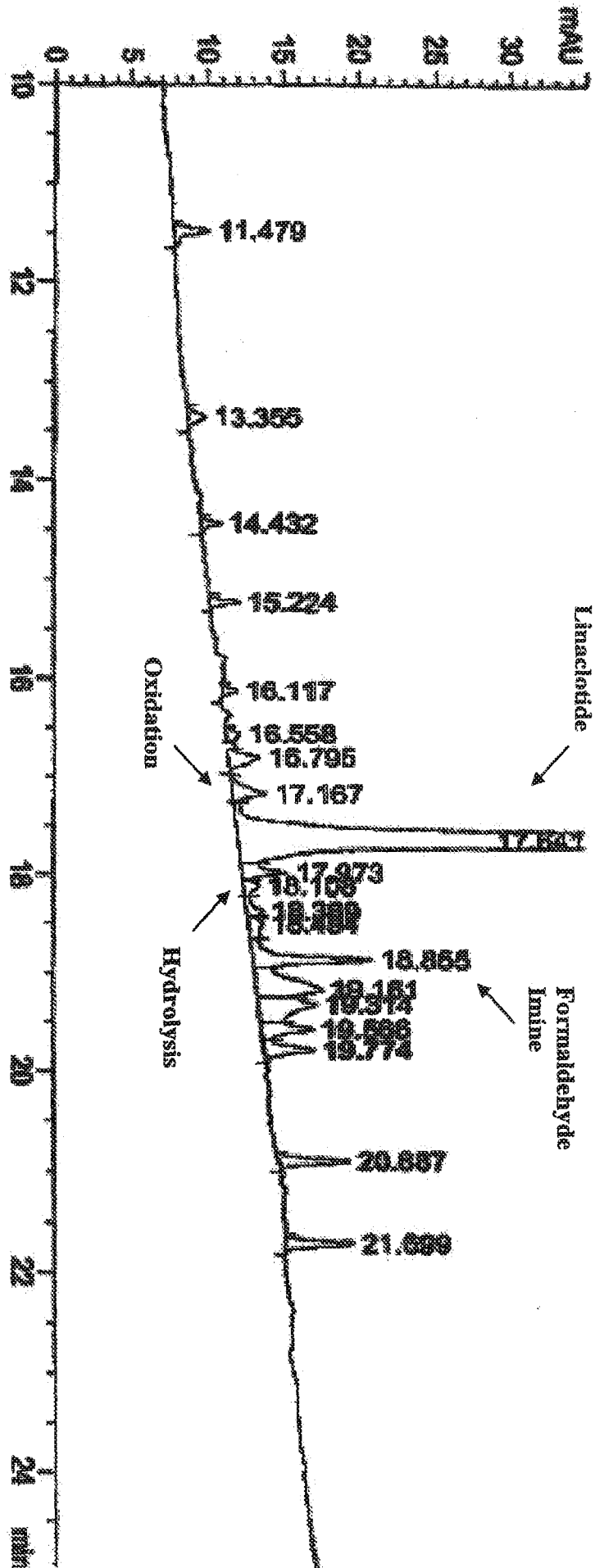


FIGURE 1 OF 1

EX5579R – TRADUZIONE LEGENDE

FIGURE 1 OF 1	FIGURA 1 DI 1
FORMALDEHYDE IMINE	IMMINA DA FORMALDEIDE
OXIDATION	OSSIDAZIONE
HYDROLYSIS	IDROLISI