



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2646039 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 36/185 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 31/716 (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2014.09.29
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2014.05.14
(86)	Europeisk søknadsnr	12716670.0
(86)	Europeisk innleveringsdag	2012.01.30
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2013.10.09
(84)	Utpekte stater	AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR
(73)	Innehaver	THD S.p.A., Via Dell'Industria 1, 42015 Correggio, Reggio Emilia, IT-Italia
(72)	Oppfinner	BASTIA, Filippo, Via Canale 564, I-41019 Sozzigalli di Soliera (Modena), IT-Italia SACCOMANNO, Maurizio, Via Ancona 27, I-73014 Gallipoli (Lecce), IT-Italia
(74)	Fullmektig	Hynell AS, Parkveien 53 B, 0256 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	En sammensetning og anvendelse derav i behandlingen av analragader
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A1-98/46205 DATABASE WPI Week 200417 Thomson Scientific, London, GB; AN 2004-174827 XP002681035, & JP 2004 051533 A (ICHIMARU PHARCOS INC) 19 February 2004 (2004-02-19) BRYANT L A ET AL: "PROCESSING, FUNCTIONAL, AND NUTRITIONAL PROPERTIES OF OKRA SEED PRODUCTS", JOURNAL OF FOOD SCIENCE, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING, INC, US, vol. 53, no. 3, 1 January 1988 (1988-01-01), pages 810-816, XP002049248, ISSN: 0022-1147, DOI: 10.1111/J.1365-2621.1988.TB08960.X

Beskrivelse

[0001] Foreliggende oppfinnelse angår en sammensetning som omfatter minst én proteinekstrakt av hibiscus og/eller minst ett betaglukan. Dessuten omhandler foreliggende oppfinnelse anvendelsen av nevnte sammensetning for behandlingen av analragader.

[0002] En analragade er en ulcerasjon av epitelet i den nedre analkanalen, vanligvis

5 lokalisert ved nivået av den bakre kommissuren av kanalen og ledsaget av en sammentrekning av den indre ringmuskelen.

[0003] Laserasjonen på analslimhinnen på stedet for ragaden utløser lett blødning, som forekommer i løpet av defekasjon. Tilstanden med sammentrekning av den indre ringmuskelen resulterer i analkanalhypertoni, som er årsaken til smerte (dominerende

10 symptom). Smerten er så intens og akutt, spesielt i løpet av og etter defekasjon (opp til 3-4 timer), at det forårsaker at subjektet unngår defekasjon, konsekvensen er en mulig forherdelse av feces og, derfor, forverring av problemet.

[0004] En analragade kan forekomme i individer med ulik alder uten forskjell mellom kjønnene; det har imidlertid, blitt vist eksperimentelt at individer på 20-40 års alder er mest

15 eksponert for risiko. Analragader representerer den nest vanligste årsaken som fører til en proktologisk undersøkelse etter en hemorridisk patologi; faktisk er frekvensen av analragader ved en proktologi poliklinisk klinikk 9-12 %. I henhold til data i den årlige rapporten fra SICCR (Italiensk forening for kolorektal kirurgi) for 2009, ble det observert totalt 5199 tilfeller av analragader og 37 % av pasientene (1924) gjennomgikk kirurgi.

20 **[0005]** Selv om de kliniske manifestasjoner av ragader er velkjent, forblir deres etiopatogenese fremdeles uklar.

[0006] I henhold til den mekaniske teorien, er den utløsende faktoren ofte representert ved en strevsom defekasjon og traumet på grunn av avføringen av hard feces. Dette forårsaker en sterk, vedvarende smerte, som forårsaker at individet undertrykker stimulusen og fortrenger

25 den, noe som forårsaker en ytterligere forherding av feces blir enda hardere og forverring av tilstanden.

[0007] Det er således mulig at en traumatisk faktor utløser ragadene, som imidlertid ville heles, hvis andre faktorer ikke tilstøter. Den første av disse er nærværet av en vedvarende hypertoni ved den indre anale ringmuskelen, og den andre er en tilstand av lokalisert iskemi

30 ved det nivået i analkanalen. Analkanalen, hvor ragadene er lokalisert, blir faktisk tilført blod ved den inferiore rektalarterien. I 85 % av individer med ragader er det imidlertid mulig å observere (ved angiografi) en relativ arteriell mangel ved nivået av den bakre kommissuren av

analkanalen. Blodstrømmen avtar dessuten med økende analtrykk og vice versa. Derfor er hypertonien og iskemien nært korrelerte fenomener.

[0008] Analragader kan bli delt inn i en akutt og en kronisk form.

[0009] Den akutte formen er en overfladisk radial lesjon av anoderma (dvs. den epiteliale

5 bekledning av analkanalen), kjennetegnet ved glatte kanter og en rosa-farget bakgrunn. Den er vanligvis assosiert med svært alvorlig smerte. Den akutte formen kan tendere mot cikatrikasjon, men vender ofte tilbake eller utvikler seg til den kroniske formen.

[0010] En ragade blir vurdert som akutt når den foreligger i mindre enn 6 uker. Spontan helbredelse av akutte analragader forekommer i 70 % av tilfellene.

10 **[0011]** Den terapeutiske behandlingen for en akutt ragade er av en konservativ type; faktisk, blir kirurgi utført bare i tilfelle terapeutisk svikt.

[0012] En kronisk analragade er en dyp radial lesjon av anoderma, kjennetegnet ved forhøyede hvitaktige kanter med fibre av den glatte ringmuskelen synlig i bakgrunnen. Den er ofte ledsaget av nærværet av en hypertrofisk anal papill, det vil si, et lite, mykt utspring av

15 analkanalens epitel. En ragade blir vurdert som kronisk når den foreligger i mer enn 6 uker. Kroniske ragader helbredes vanligvis spontant i bare 20 % av tilfellene, maksimalt.

[0013] I lys av det faktum at kroniske analragader har en svært lav prosentsats av helbredelse, har det blitt gjennomført atskilling forskning med det mål å identifisere nye stadig bedre terapeutiske tilnærmelser, enten de er av en konservativ eller kirurgisk type.

20 **[0014]** Akutte analragader kan bli helbredet på en konservativ måte også ved å eliminere spasmen i den indre ringmuskelen som er ansvarlig for hypertonien.

[0015] Den konservative terapien foreslår en diett som er rik på fiberrik kost og et rikelig inntak av væsker så vel som svært grundig, følsom lokal hygiene. Når ragader er assosiert med forstoppelse er det anbefalt å bruke glidemidler og/eller fiber for å gjøre feces mykere.

25 **[0016]** Den medisinske terapeutiske tilnærmelse streber etter det formål å redusere hypertonien av den indre anale ringmuskelen for å fremme helbredelse av ragadene. Nyere studier på fysiopatologien av den anale ringmuskelen har bevist at nitrogenoksid er en inhibitor av indre anal ringmuskeltonisitet. Derfor kan det bli utført en såkalt "reversibel kjemisk sfinkterotomi" ved å lokalt påføre en salve basert på trinitroglyserin (TNG), som er i

30 stand til å medføre en avslapning av den indre anale ringmuskelen.

[0017] En gjennomsnittlig helbredelse på 58 % av tilfeller innen to måneder etter behandling har blitt vist, mens tilbakefall forekommer i 11 til 46,2 % av tilfellene.

[0018] Den hyppigste komplikasjonen ved denne behandlingen er hodepine, som forekommer i 57 % av tilfellene i gjennomsnitt og noen ganger krever at behandlingen blir

avbrutt. Alternativt foreslår den medisinske terapien for ragader å injisere botulinumtoksin inn i den glatte indre ringmuskelen for å helbrede dem ved å medføre en reduksjon i indre anal ringmuskeltonisitet. Vanligvis, noen få timer etter administrasjonen av toksinet forekommer en slapp paralyse som har tendens til å vedvare i 3-4 måneder.

- 5 **[0019]** Cikatrikasjon av ragader forekommer innen to måneder etter behandlingen i 2-96 % av tilfellene, med tilbakefall i 30 % av tilfellene.

[0020] I 18 % av tilfellene tilkjennegir imidlertid denne behandlingen en svært invalidiserende bivirkning, dvs. midlertidig fekal inkontinens.

- [0021]** Et ytterligere terapeutisk alternativ sørger for administrasjonen av
10 kalsiumkanalblokkere. Disse medfører en reduksjon i det maksimale ringmuskeltrykket ved hvile, med alvorlige overdosebivirkninger i de kardiopatiske og diabetiske pasientene.
- [0022]** Når tilfredsstillende responser ikke blir oppnådd med konservative eller farmasøytiske terapeutiske behandlinger, eller hvis ragadene vender tilbake og blir verre over tid, blir kirurgisk behandling nødvendig; dette kan involvere ulike teknikker som er invasive i en
15 større eller mindre grad. En "moderne" versjon av anal divulsjon (nå vurdert som foreldet), definert som "mekanisk anal sphincteroclasia", kan bli utført. Denne teknikken sørger for anvendelsen av en gummiballong, som blir ført inn i analkanalen og pumpet opp ved et kontrollert trykk. Den indre ringmuskelen blir derved utvidet noen få minutter (omtrent 5) og en får bukt med ringmuskelhypertonien. En negativ hendelse kan være begynnelse av fekal
20 inkontinens av varierende grader, også vedvarende, i en betydelig prosentandel av tilfellene (8-35 %).

[0023] "Gull-standard" behandlingen for analragader er "lateral indre sfinkterotomi". Den blir definert som "åpen" når den sørger for et hudsnitt med eksponering av ringmuskelen, og den blir definert som "lukket" når den utføres transkutant uten eksponering av ringmuskelen.

- 25 **[0024]** Begge teknikkene er i stand til å garantere helbredelse i en høy prosentandel av pasienter (over 90 % av tilfellene helbredes innen 2 måneder etter behandlingen).

[0025] Den alvorligste komplikasjonen er fekal inkontinens, som i hoveddelen av tilfellene er forbigående (8,9 %-13,0 % av tilfeller), men kan i noen tilfeller bli vedvarende (0,6 % - 6,9 %).

- 30 **[0026]** Kirurgien kan også bli modulert med en "regulert lateral indre sfinkterotomi", som tillater at enheten av seksjonen det skal bli snittet i blir regulert basert på graden av ragaden, lengden av ringmuskelen og den målte graden av hypertoni. Dette tjener til å redusere de mislykkede tilfellene på grunn av vedvarenhet eller tilbakefall av ragaden og komplikasjonene relatert til inkontinens.

[0027] Gitt den vidstrakte naturen av denne patologiske tilstanden, de fleste gangene assosiert med svært alvorlig, invalidiserende smerte, er det fremdeles et sterkt følt behov for nye terapeutiske tilnærmelser som er i stand til å helbrede analragader eller i det minste lindre smerten derav. Spesielt fokuserer klinisk forskning på dette feltet alltid mye oppmerksomhet mot å identifisere nye terapier av en konservativ type, f.eks. farmakologiske protokoller, for å redusere behovet for kirurgi, som, som tidligere beskrevet, er i stand til å helbrede analragader, men ofte forårsaker inkontinens, som er en ikke-fysiologisk tilstand som er like invalidiserende for et individ, spesielt fra psykologisk-sosialt ståsted.

[0028] Foreliggende oppfinnelse passer inn i denne konteksten og omhandler den medisinske anvendelsen av en sammensetning som omfatter minst én proteinekstrakt av hibiscus og/eller minst ett betaglukan eller et salt derav, spesielt for behandlingen av analragader, som beskrevet i de vedlagte kravene.

[0029] JP2004 051533 legger frem den kosmetiske anvendelsen av en sammensetning som omfatter okraekstrakt (Hibiscus) og beta-glukan.

[0030] WO98/46205 legger frem en sammensetning som omfatter proteiner ekstrahert fra Hibiscus esculentus for kosmetisk anvendelse, spesielt for hud- og hårpleieanvendelser.

[0031] Bryant L et al, 1988 legger fram en fremgangsmåte for fremstillingen av okrafrømel, proteinkonsentrat og proteinisolat for matvareprodukter.

[0032] Søkeren har overraskende funnet at anvendelsen av en sammensetning som omfatter én proteinekstrakt av hibiscus og/eller ett betaglukan på analragader er i stand til å forbedre en symptomatisk eller asymptomatisk tilstand forårsaket av analragader helt fra de aller første påføringene.

[0033] Søkeren har spesielt funnet at denne sammensetningen er i stand til å lindre smerten assosiert med defekasjon ved å utøve en reparerende virkning på det lokale epitel og likeledes en reduksjon i hypertonien av den indre ringmuskelen, og således fremme avslapning av den glatte muskelen av analkanalen.

[0034] Et første aspekt av foreliggende oppfinnelse omhandler den minst ene proteinekstrakten av hibiscus, som foretrukket er en proteinekstrakt av Hibiscus esculentus, ellers kjent som okra eller Abelmoschus esculentus, det vil si en plante som tilhører familien Malvaceae, som generelt vokser i tropiske regioner.

[0035] Nevnte minst ene proteinekstrakt av hibiscus er foretrukket minst én proteinfraksjon, mer foretrukket minst én løselig proteinfraksjon, som har opphav, foretrukket, fra hibiscusfrø. Spesielt avledes proteinekstrakten fra hibiscusfrø, foretrukket et grovt mel av hibiscusfrø, mer foretrukket delipiderte frø og/eller grovt mel.

[0036] Nevnte proteinekstrakt eller nevnte proteinfraksjon er foretrukket et proteinhydrolysat som kan oppnås, foretrukket, fra det naturlige proteinet. Hydrolysatet kan bli oppnådd ved enzymatisk hydrolyse og/eller kjemisk hydrolyse. Alternativt blir hydrolysatet oppnådd ved biotransformasjon.

5 **[0037]** I konteksten av foreliggende oppfinnelse betyr biotransformasjon en prosess som er i stand til å gjøre en substans mer løselig i vann, for eksempel ved å funksjonalisere den ved hydrolyse, oksidasjon, reduksjon eller konjugering, for å introdusere eller eksponere de hydrofile gruppene.

[0038] I noen utførelsesformer er nevnte hydrolysat en blanding av oligopeptider.

10 Foretrukket er nevnte hydrolysat i en blanding med et bindemiddel, mer foretrukket med et dekstrin. I foretrukne utførelsesformer, er forholdet mellom nevnte hydrolysat og nevnte bindemiddel foretrukket 1:1.

[0039] Blandingen av oligopeptider foretrukket for formålene ved foreliggende oppfinnelse er det kommersielle produktet med Myoxinol™ varemerket.

15 **[0040]** Konsentrasjonen av nevnte minst ene proteinekstrakt av hibiscus spenner mellom 0,1 og 10 %; den spenner foretrukket mellom 0,4 og 5 %.

[0041] Et andre aspekt av foreliggende oppfinnelse omhandler betaglukanet, som foretrukket er karboksymetyl beta-glukan og/eller et salt derav, mer foretrukket natrium karboksymetyl beta-glukan.

20 **[0042]** Konsentrasjonen av nevnte betaglukan spenner mellom 0,004 og 0,4 %; det spenner foretrukket mellom 0,02 og 0,08 %.

[0043] Forholdet mellom nevnte minst ene proteinekstrakt av hibiscus og nevnte minst ene betaglukan er foretrukket 50-10 : 1, mer foretrukket 35-20 : 1.

25 **[0044]** Sammensetningen ifølge foreliggende oppfinnelse er kjennetegnet ved en pH som foretrukket spenner fra 5 til 8; mer foretrukket spenner den mellom 5,5 og 6,5. For det formål å justere pH-verdien av sammensetningen ifølge oppfinnelsen, kan det bli anvendt et pH-regulerende middel (som vi vil definere som pH-regulator), foretrukket en basisk substans, for eksempel trietanolamin.

30 **[0045]** Konsentrasjonen av nevnte middel spenner mellom 0,03 og 1 %; den spenner foretrukket mellom 0,1 og 0,6 %.

[0046] I foretrukne utførelsesformer, er sammensetningen ifølge oppfinnelsen foretrukket formulert som en gelkrem (dvs. gelemulsjon), kjennetegnet ved en viskositet som foretrukket spenner mellom 5000 og 30000; mer foretrukket spenner den mellom 7000 og 25000 (mPas).

[0047] Sammensetningen ifølge foreliggende oppfinnelse kan videre omfatte minst én farmakologisk akseptabel eksipiens, eller en forbindelse akseptabel per farmasøytisk anvendelse eller for kosmetisk anvendelse, som er nyttig i fremstilling av sammensetningen og generelt er biologisk trygg og ikke-toksisk.

5 **[0048]** Nevnte eksipiens kan være minst ett kondisjoneringsmiddel, foretrukket et fuktende, okklusivt eller mykgjørende kondisjoneringsmiddel for huden eller håret.

[0049] Spesielt er nevnte kondisjoneringsmiddel valgt i gruppen bestående av: dimetikon eller dimetyl polysiloksan, foretrukket lineær, glyserol, mandelolje (foretrukket *Prunus amygdalus dulcis* olje), fenyl trimetikon, agurkurtolje (foretrukket olje fra frøene av *Borago officinalis*), kattostekstrakt og/eller mucilago, foretrukket mucilago fra *Malva sylvestris*,
10 pantenol, ekstrakt av calendula, foretrukket av *Calendula officinalis*, etylheksylglyserol, kaprylylglykol, asparginsyre, maltodekstriner og glyserylstearat.

[0050] Konsentrasjonen av nevnte kondisjoneringsmiddel spenner foretrukket mellom 15 og 35 %, foretrukket mellom 20 og 25 %.

15 **[0051]** Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte dimetikon eller dimetylpolysiloksan mellom 2,5 og 10 %; mer foretrukket spenner den mellom 3,5 og 7 %.

[0052] Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte glyserol mellom 2,5 og 10 %; mer foretrukket spenner den mellom 3,5 og 7 %.

[0053] Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte mandelolje mellom 2 og 8 %; mer
20 foretrukket spenner den mellom 3 og 6 %.

[0054] Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte fenyl trimetikon mellom 1 og 4 %; mer foretrukket spenner den mellom 1,5 og 3 %.

[0055] Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte agurkurtolje mellom 1 og 4 %; mer foretrukket spenner den mellom 1,5 og 3 %.

25 **[0056]** Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte kattostekstrakt mellom 1 og 4 %; mer foretrukket spenner den mellom 1,5 og 3 %.

[0057] Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte pantenol mellom 0,5 og 2 %; mer foretrukket spenner den mellom 0,75 og 1,5 %.

[0058] Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte calendulaekstrakt mellom 0,1 og 0,4
30 %; mer foretrukket spenner den mellom 0,15 og 0,3 %.

[0059] Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte kaprylylglykol mellom 0,1 og 0,4 %; mer foretrukket spenner den mellom 0,15 og 0,3 %.

[0060] Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte maltodekstriner mellom 0,1 og 0,4 %; mer foretrukket spenner den mellom 0,15 og 0,3 %.

[0061] Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte glyserylstearat mellom 0,4 og 1,8 %; mer foretrukket spenner den mellom 0,5 og 1,2 %.

[0062] Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte etylheksylglyserol mellom 0,05 og 0,2 %; mer foretrukket spenner den mellom 0,75 og 0,15 %.

5 **[0063]** Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte asparginsyre mellom 0,0002 og 0,001 %; mer foretrukket spenner den mellom 0,0003 og 0,0008 %.

[0064] Nevnte eksipiens kan i tillegg være en surfaktant, foretrukket en emulgerende eller rengjørende surfaktant. Mer foretrukket er nevnte surfaktant valgt i gruppen bestående i: cetylalkohol, cetyl(20)OE eller cetet-20, stearyl(20)OE eller stearet-20 og PEG-75 stearat.

10 **[0065]** Konsentrasjonen av nevnte surfaktant spenner foretrukket mellom 1 og 3 %; mer foretrukket spenner den mellom 1,2 og 2 %.

[0066] Konsentrasjonen av nevnte cetylalkohol spenner foretrukket mellom 0,5 og 1 %; eller konsentrasjonen av nevnte PEG-75 stearat spenner foretrukket mellom 0,2 og 1 %; eller konsentrasjonen av nevnte cetet-20 eller nevnte stearet-20 spenner foretrukket mellom 0,05
15 og 0,25 %. I tillegg kan nevnte eksipiens være et konserveringsmiddel, foretrukket fenoksyetanol; ellers kan nevnte eksipiens være en antioksidant, foretrukket valgt mellom tokoferol og lakrisrot (*glycyrrhiza glabra*) tørr ekstrakt.

[0067] Konsentrasjonen av nevnte konserveringsmiddel spenner foretrukket mellom 0,3 og 1 %, mer foretrukket mellom 0,5 og 1 %; konsentrasjonen av nevnte antioksidant spenner
20 foretrukket mellom 0,1 og 1 %, mer foretrukket mellom 0,2 og 0,6 %.

[0068] Nevnte eksipiens kan i tillegg være et bindemiddel, foretrukket valgt fra blant dekstrinene; ellers kan nevnte eksipiens være et stabiliserende middel, foretrukket et emulgerende stabiliserende middel, mer foretrukket en kryssbundet akryl-kopolymer; ellers kan nevnte eksipiens være en chelatdanner, foretrukket trinatrium etylendiamin disuccinat.
25 Foretrukket spenner konsentrasjonen av nevnte bindemiddel mellom 0,5 og 2 %, mer foretrukket mellom 0,75 og 1,5 %; konsentrasjonen av nevnte chelatdanner spenner foretrukket mellom 0,01 og 0,08 %, mer foretrukket mellom 0,02 og 0,06 %; og konsentrasjonen av nevnte stabiliserende middel spenner foretrukket mellom 0,15 og 0,6 %, mer foretrukket mellom 0,2 % og 0,4 %.

30 **[0069]** Prosentandelene gitt over for konsentrasjonen av de ulike komponentene av sammensetningen ifølge oppfinnelsen skal bli vurdert som vekt/vekt prosentandeler, og refererer således til 100 gram produkt.

[0070] Sammensetningen ifølge foreliggende oppfinnelse blir produsert i et løsemiddel, som er vann og/eller 1,2-heksandiol.

[0071] Med nevnte løsemiddel, blir sammensetningen brakt til 100 % av dens endelige vekt.

[0072] Et ytterligere aspekt av foreliggende oppfinnelse omhandler sammensetningen ifølge oppfinnelsen formulert for topisk anvendelse, spesielt, formulert som en krem, gelkrem, gel, olje, emulsjon, gelemulsjon (emulgel) salve, spray eller suppositorie eller stikkpille (slik som en kakaosmør stikkpille).

[0073] Alternativt kan sammensetningen ifølge foreliggende oppfinnelse være formulert for oral anvendelse, foretrukket som en pastill, tablett eller granuler, eller for injiserbar anvendelse.

[0074] Sammensetningen kan bli formulert for å frigi de aktive prinsippene inneholdt deri hurtig, eller på en forsinket og/eller kontrollert måte etter administrasjon.

[0075] Et ytterligere aspekt av foreliggende oppfinnelse omhandler anvendelsen av en sammensetning som omfatter minst én hibiscusekstrakt og minst ett betaglukan eller et salt derav som en medisinerings.

[0076] Et ytterligere aspekt av foreliggende oppfinnelse omhandler anvendelsen av en sammensetning som omfatter minst én hibiscusekstrakt og/eller minst ett betaglukan eller et salt derav for behandlingen av analragader, foretrukket akutte analragader.

[0077] I en foretrukket utførelsesform, blir sammensetningen ifølge oppfinnelsen administrert topisk, foretrukket minst én gang daglig, mer foretrukket minst to ganger daglig. Administrasjon blir foretrukket utført i en periode på minst én uke, mer foretrukket i minst to uker. De beste resultatene blir oppnådd med en behandling på minst tjue dager.

[0078] Sammensetningen ifølge foreliggende oppfinnelse kan bli administrert alene eller i kombinasjon med ytterligere midler som er effektive eller adjuvante i behandlingen av ragader.

[0079] Alternativt kan sammensetningen bli anvendt i assosiasjon med andre metoder og/eller protokoller for å behandle analragader. Foretrukne eksempler på nevnte metoder og/eller protokoller angår anvendelsen av analdilatatorer.

[0080] Et ytterligere aspekt av foreliggende oppfinnelse omhandler en fremgangsmåte for fremstilling av en sammensetning som omfatter minst én proteinekstrakt av hibiscus og/eller minst ett betaglukan i henhold til foreliggende oppfinnelse.

[0081] Nevnte fremgangsmåte omfatter de følgende trinnene:

- (i) smelte kondisjoneringsmidlene, foretrukket de okklusive og/eller mykgjørende kondisjoneringsmidlene, og/eller surfaktantene, foretrukket de emulgerende og/eller rengjørende surfaktantene, ved en temperatur som spenner mellom 70 og 90 °C; mer foretrukket spenner den mellom 75 og 80 °C;

(ii) blande løsemidlet, kondisjoneringsmidlene, foretrukket fuktighetsgivende, chelatdannerene og/eller de stabiliserende emulgerende midlene med råmaterialene smeltet i henhold til trinn (i);

(iii) tilsette minst én hibiscusekstrakt til blandingen i henhold til trinn (ii);

5 (iv) tilsette minst ett betaglukan til blandingen i henhold til trinn (iii).

[0082] Nevnte hibiscusekstrakt i henhold til trinn (iii) er solubilisert, foretrukket i vann, og mer foretrukket i rensset vann. Solubilisering blir oppnådd ved en temperatur som foretrukket spenner mellom 40 og 60 °C; mer foretrukket spenner den mellom 50 og 55 °C.

10 **[0083]** Nevnte minst ene betaglukan i henhold til trinn (iv) blir foretrukket tilsatt som en 1-5 % vandig løsning (prosentandelen er en vekt/vekt prosentandel), mer foretrukket 1,5-2,5 %. Temperaturen for blandingen som nevnte minst ene betaglukan blir tilsatt til spenner foretrukket mellom 35 og 45 °C, mer foretrukket mellom 32 og 37 °C.

[0084] Blanding av komponentene i sammensetningen ifølge oppfinnelsen fortsetter foretrukket inntil det er oppnådd et semi-prosessert produkt. Nevnte semi-prosesserte produkt
15 kan være klart for bruk eller for innpakning.

[0085] Et ytterligere aspekt av foreliggende oppfinnelse omhandler et kit som omfatter en sammensetning som omfatter minst én proteinekstrakt av hibiscus og/eller minst ett betaglukan eller et salt derav.

20 **[0086]** Foretrukket er sammensetningen i kitet formulert som en krem, gel eller emulsjonsgel. Mer foretrukket omfatter kitet minst én, foretrukket minst tjue dispenser (for eksempel klemmetuber) som inneholder sammensetningen ifølge oppfinnelsen, foretrukket i en forhåndsdosert mengde. Dispenserene er foretrukket for engangs-bruk og, mer foretrukket, er forsynt med en applikator som foretrukket er inkorporert i nevnte dispenser for det formål å forenkle påføringen av sammensetningen på ragaden som skal bli behandlet.

25 **[0087]** Foretrukket er dispenserene dimensjonert på en slik måte for å levere, ved påføring, den forhåndsdoserte, tilstrekkelige, nødvendige mengden av sammensetningen.

EKSEMPEL

30 Fremgangsmåte for fremstilling av sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse i form av en gelkrem.

[0088] Introduser råmaterialene i mikseren i henhold til prosedyren og mengdene regnet med i formuleringen. Råmaterialene som krever en smelteprosess før de blir blandet med de andre ingrediensene i formuleringen blir smeltet i smelteenheten ved en temperatur som spenner fra 75-80 °C.

[0089] Påfølgende blir temperaturen i blandingen senket til 50-55 °C og Myoxinol solubilisert i varmt rensset vann (50-55 °C) blir tilsatt og betaglukanet (2 % løsning) blir påfølgende tilsatt sammen med de andre komponentene som ikke krever smelting eller solubilisering. Disse ingrediensene blir tilsatt til blandingen ved en temperatur under 35 °C og blandingen fortsetter inntil det blir oppnådd et semi-prosessert produkt klart for bruk/innpakning.

Formuleringseksempler

[0090] Et eksempel på sammensetningen ifølge oppfinnelsen formulert som en gel/krem og som fungerer for formålene ved de krevede anvendelsene er gitt under i Tabell 1.

Tabell 1

INCI EU	%
Renset vann	q.s. til 100
Glyserol	5,0000 %
Dimetyl polysiloksan	5,0000 %
Søtmandelolje (Prunus dulcis)	4,0000 %
Kattost mucilago (Malva sylvestris)	2,0000 %
Agurkurtolje (Borago officinalis)	2,0000 %
Fenyl trimetikon	2,0000 %
d-pantenol	1,0000 %
Dekstrin	0,8625 %
Hydrolysert hibiscusekstrakt	0,8625 %
Cetylalkohol	0,8625 %
Glycerylstearat	0,8625 %
Fenoksyetanol	0,5000 %
Stearat(75)OE	0,4250 %
Kryssbundet akrylkopolymer	0,3000 %
Trietanolamin	0,3000 %
Calendula tørr ekstrakt	0,2000 %
Lakrisrot tørr ekstrakt	0,2000 %
Cetyl(20)OE	0,1750 %
Stearyl(20)OE	0,1750 %
Tokoferol	0,1000 %

Etylheksylglyserol	0,0800 %
Karboksymetyl beta-glukan natriumsalt	0,0300 %

Rektal slimhinneirritasjonstest av med sammensetningen ifølge oppfinnelsen.

[0091] Sammensetningen ifølge oppfinnelsen i form av en gelkrem ble underkastet en rektal slimhinneirritasjonstest. Testen ble utført på 6 hann albinokaniner.

- 5 **[0092]** Spesielt ble 3 kaniner behandlet med 1 ml av gel/krem sammensetningen, 3 kaniner ble behandlet med 1 ml saltløsning (kontroller). Behandlingen sørger for at gel/krem (behandlede prøver) eller saltløsning (kontrollprøver) blir introdusert direkte inn i rektum på hvert dyr ved anvendelse av et mykt kateter. Denne behandlingen ble gjentatt 5 påfølgende dager.

- 10 **[0093]** Rektalslimhinnen for hvert dyr ble observert daglig for det formål å detektere ethvert irritasjonsfenomen, for eksempel erytem og/eller nærværet av skorper. Tjuefire timer etter den siste dagen med behandling, ble dyrene avlivet og en prøve ble tatt av rektalslimhinnen på dyrene for det formål å utføre en histologisk undersøkelse.

[0094] De detekterte mikroskopiske reaksjonene ble evaluert på basis av dataene vist i Tabell

- 15 3.

Tabell 3

Reaksjon	Numerisk klassifisering
1. Epitel	
Normal, intakt	0
Celled degenerering eller utflating	1
Metaplasi	2
Fokal erosjon	3
Generalisert erosjon	4
2. Infiltrasjon av leukocytter (for "high power field")	
Fraværende	0
Minimal (mindre enn 25)	1
Svak (fra 26 til 50)	2
Moderat (fra 51 til 100)	3
Markert (større enn 100)	4
3. Vaskulær kongestion	
Fraværende	0

Minimal	1
Svak	2
Moderat	3
Markert, med karruptur	4
4. Ødem	
Fraværende	0
Minimal	1
Svak	2
Moderat	3
Markert	4

[0095] I den makroskopiske undersøkelsen, blir de inflammatoriske reaksjonene detektert i påføringsområdet for dyrene behandlet med testsammensetningen sammenlignet med de detektert i kontrolldyrene.

- 5 **[0096]** Poengene for de mikroskopiske evalueringene for alle dyrene behandlet med testsammensetningen blir lagt sammen og dividert med antallet dyr for å oppnå det gjennomsnittlige irriterende potensiale for den behandlede gruppen. Den samme beregningen blir utført for kontrollgruppen.

- 10 **[0097]** Et poengttall på 9 i den mikroskopiske evalueringen av kontrollvev kan indikere en underliggende patologi eller, i et kontrolldyr, kan den indikere et traume på grunn av administrasjon. Begge situasjoner kan kreve en ny test hvis andre dyr i test- eller kontrollgruppen viser de samme høye poengene. Kontrollgruppens gjennomsnitt blir trukket fra testgruppens gjennomsnitt for å oppnå irritasjonsindeksen.

[0098] Irritasjonsindeksene er vist i Tabell 4.

15

Tabell 4

IRRITASJONSINDEKS	
GJENNOMSNIITTLIG POENG	BESKRIVELSE
0	Ingen
1-4	Minimal
5-8	Svak
9-11	Moderat
12-16	Alvorlig

[0099] Resultatene av den makroskopiske evalueringen er vist i Tabell 5.

Tabell 5

Behandlet kanin nr.			Gjennomsnitt (x)
<u>1199</u>	<u>1200</u>	<u>1201</u>	
0	0	0	0,00
0	0	0	0,00
0	0	0	0,00
Kontrollkanin nr.			Gjennomsnitt (x)
<u>1202</u>	<u>1203</u>	<u>1204</u>	
0	0	0	0,00
0	0	0	0,00
0	0	0	0,00

[0100] Ingen anomali på grunn av behandling med testsammensetningen eller med saltløsningen ble detektert i dyrene.

5 [0101] De mikroskopiske resultatene er oppsummert i Tabell 6.

Tabell 6

Parametere	Behandlet kanin nr		
	<u>1199</u>	<u>1200</u>	<u>1201</u>
Epitel	0	0	0
Leukocyttinfiltrasjon	0	0	0
Vaskulær kongestion	0	0	0
Ødem	0	0	0
Parametere	Kontrollkanin nr		
	<u>1202</u>	<u>1203</u>	<u>1204</u>
Epitel	0	0	0
Leukocyttinfiltrasjon	0	0	0
Vaskulær kongestion	0	0	0
Ødem	0	0	0

[0102] Basert på resultatene vist i Tabell 6, viser sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse et irriterende potensiale lik null. Rektalirritasjonsindeksen er faktisk null.

10 [0103] Som konklusjon kan sammensetningen ifølge foreliggende oppfinnelse bli vurdert som ikke-irriterende for rektalslimhinnen.

Forsinket hypersensitivitetstest - Marsvin maksimeringstest (GPMT) med sammensetningen ifølge oppfinnelsen.

[0104] Testen ble utført på hvite hunn marsvin; spesielt ble en gruppe på 10 dyr (gruppe 1) behandlet med sammensetningen ifølge oppfinnelsen, mens 5 dyr dannet kontrollgruppen (gruppe 2).

[0105] Gruppe 1 ble behandlet med sammensetningen i form av en gel/krem, mens gruppe 2 ble behandlet med en saltløsning.

[0106] Gruppe 1 ble behandlet med en 1-50:50 (v:v) intradermal injeksjon (prøve 1) av en stabil emulsjon av Friends komplette adjuvans (FCA) med saltløsning og produktet som blir testet fortynnet 50:50 (v:v) med en stabil emulsjon av FCA og saltløsning (50 %).

[0107] Dyrene i gruppe 2 ble behandlet med en 1-50:50 (v:v) intradermal injeksjon (prøve 2) av en stabil emulsjon av Friends komplette adjuvans (FCA) med saltløsning. Saltløsningen ble fortynnet 50:50 (v:v) med en stabil emulsjon av FCA og saltløsning (50 %).

[0108] Dyrene anvendt i studien ble tilfeldig valgt blant de egnede dyrene tilgjengelig på tidspunktet for studien. Dyrene ble delt inn i grupper, med et maksimum på 5 dyr per bur.

[0109] Tjuefire timer før behandling ble det barbert et område på omkring 50 cm² på ryggen av dyrene.

[0110] Testen består i en induksjonsfase og en utfordringsfase.

[0111] I løpet av induksjonsfasen på dag null (0), ble tre par av intradermale injeksjoner, som hver inneholder 0,1 ml av prøven beskrevet over, utført på alle dyrene på den ene eller andre siden av medianlinjen, i de subskapulære områdene.

[0112] På dag seks av induksjonsfasen, etter de intradermale injeksjonene, ble 1 ml 10 % natriumlaurylsulfat topisk påført, ved en forsiktig massasje, på alle dyrene.

[0113] På dag 7 av induksjonsfasen, etter de intradermale injeksjonene, ble 1 ml av prøven topisk påført under en okklusiv forbindelse på alle dyrene. Påføringen ble påført tilfeldig i forhold til injeksjonsstedet.

[0114] Forbindingen fikk være på i 48 timer. Den samme behandlingen ble utført på kontrollgruppen ved anvendelse av saltløsning istedenfor sammensetningen ifølge oppfinnelsen.

[0115] Når det gjelder utfordringsfasen, på den tjueførste dagen ble alle marsvinene topisk behandlet under en okklusiv forbindelse på den høyre flanken med 1 ml av sammensetningen testet og fortynnet som beskrevet over. Forbindingen fikk være på i 24 timer.

[0116] På den tjuetredje dagen (24 timer etter fjerning av forbindingen) og på den tjuefjerde dagen (48 timer etter fjerning av forbindingen), ble hudreaksjonene i alle dyrene evaluert. Intensiteten av erytem og ødem ble evaluert i henhold til Magnusson og Kligman skalaen som vist i Tabell 7.

5

Tabell 7

Reaksjon	Numerisk skala
Ingen synlig endring	0
Diskret eller flekkvis erytem	1
Moderat og sammenløpende erytem	2
Intense erytem og opphovning	3

[0117] Magnusson og Kligman skalaverdier større enn eller lik 1 i testgruppen indikerer generelt sensitisering, forutsatt at verdier på mindre enn 1 har blitt observert i kontrolldyrene.

[0118] Hvis verdier større enn eller lik 1 er observert i kontrolldyrene, kan det antas at reaksjonene i testdyrene som overstiger den mest alvorlige reaksjonen for kontrolldyrene er på grunn av sensitisering.

[0119] Hvis responsen er tvetydig, er det nødvendig å utføre en ny utfordring for å bekrefte resultatene av den første utfordringen. Testutfallet er presentert som frekvensen av positive responser til utfordringen i test- og kontrolldyrene.

[0120] Resultatene er oppsummert i Tabell 8.

Tabell 8

Dyr behandlet med sammensetningen	Tid siden fjerning av forbindelse	
	24 timer	48 timer
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

Kontrolldyr	Tid siden fjerning av forbindelse	
	24 timer	48 timer
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0

[0121] Resultatene viser at ingenting unormalt ble detektert verken i dyrene behandlet med foreliggende sammensetning eller i kontrolldyrene og at prosentsatsen av sensitiserte marsvin således er lik null (0).

5

Første studie på forsøkspersoner rammet av analragader og behandlet med sammensetningen ifølge foreliggende oppfinnelse.

[0122] Ti forsøkspersoner med akutte analragader, i alder 21 til 72 år (midlere alder 38,7 år), gjennomgikk behandling med sammensetningen ifølge oppfinnelsen. Behandlingen varte én måned og ble utført ved topisk behandling av ragaden med sammensetningen i gelkrem-form tre ganger daglig.

[0123] Forsøkspersonene rapporterte ikke noen type bivirkning. Etter måneden med behandling, var det en komplett remisjon av smertefulle symptomer i 5 av 10 forsøkspersoner, mens en signifikant reduksjon av de samme ble observert i 4 andre forsøkspersoner. Smerte ble målt ved anvendelse av den Visuelle Analoge Skala (VAS) og den midlere VAS spente fra 9 til 3,25.

[0124] Hos 6 av 10 forsøkspersoner, ble fullstendig cikatrikasjon av ragaden sikret etter én måneds behandling.

[0125] Ved slutten av den topiske behandlingen, var en ytterligere dilaterende behandling nødvendig hos 7 forsøkspersoner, som den ble vel akseptert av med tanke på det faktum at de behandlede forsøkspersonene hadde sett en tydelig forbedring i symptomene sine.

[0126] Ved den andre undersøkelsen, utført etter 60 dager, ble det observert fullstendig cikatrikasjon i 9 av 10 forsøkspersoner.

[0127] Den eneste forsøkspersonen som ikke hadde blitt helbredet fullstendig fortsatte med en dilaterende behandling i ytterligere tjue dager og viste seg å ha blitt helbredet fullstendig ved den neste undersøkelsen (dvs. 90 dager etter starten av behandlingen).

25

Andre studie på forsøkspersoner rammet av analragader og behandlet med sammensetningen ifølge foreliggende oppfinnelse.

[0128] Ti forsøkspersoner med akutte analragader ble behandlet med sammensetningen
5 ifølge oppfinnelsen i gelkrem-form.

[0129] Behandlingen ble utført med doser på 3 gram/dag i 30 dager eller 3 gram/dag i 50 dager.

[0130] Forsøkspersonene gjennomgikk anoskopi på en poliklinisk basis for å komme til en diagnose av analragader.

10 **[0131]** Forsøkspersonene ble instruert om hvordan de skulle påføre gelkremen og i tilfellet med ledsagende forstoppelse, ble det administrert en terapi basert på fekal emollienser (FIBRAID, én dosepose to ganger daglig) i henholdsvis 30 eller 50 dager.

[0132] En klinisk oppfølging, bestående i en undersøkelse og anoskopi, ble utført ved 10 og 30 dager.

15 **[0133]** Det primære sluttpunktet var resolusjon av symptomene rapportert i løpet av den første undersøkelsen.

[0134] Det sekundære sluttpunktet var makroskopisk resolusjon av ragaden.

[0135] Karakteristikkene av forsøkspersonene og resultatene evaluert i oppfølgingen er oppsummert i Tabell 9. Forstoppelse var en tilstand som var til stede i omtrent 70 % av
20 forsøkspersonene.

[0136] 58 % av de behandlede forsøkspersonene observerte en umiddelbar fordel, med resolusjon eller en tydelig forbedring av symptomene så tidlig som 10 dager etter behandlingen; prosentsatsen øket til 75 % ved 30 dager.

25 **[0137]** Makroskopisk resolusjon av ragaden forekom hos to forsøkspersoner etter 10 dager - hos forsøkspersonene behandlet innen én måned etter begynnelsen av symptomer.

[0138] Ved 30 dager, ble resolusjon av ragaden observert i over 50 % av forsøkspersonene.

[0139] Den totale raten for behov for ytterligere behandling ved 27 %, med én forsøksperson tapt til oppfølging ved 50 dager.

30 **[0140]** Ingen ugunstige hendelser eller komplikasjoner ble rapportert ved forsøkspersonene i de ulike oppfølgingsperiodene.

Tabell 9

Subjekt nr.	Varighet av symptomer frem til diagnose	Assosiert forstoppelse	Assosiert diaré	Resolusjon av symptomer 10 d	Resolusjon av ragader 10 d	Resolusjon av symptomer 30 d	Resolusjon av ragader 30 d	Behov for annen terapi
1	1 måned	+	-	+	-	+	+	-
2	15 dager	+	-	+	-	+	+	-
3	3 måneder	+	-	-	-	+	-	-
4	1 måned	-	-	+	-	+	+	-
5	20 dager	+	-	+	-	+	+	-
6	3 måneder	+	-	-	-	-	-	+
7	4 måneder	-	+	-	-	-	-	+
8	15 dager	+	-	+	-	+	+	-
9	1 måned	-	-	+	+	+	+	-
10	7 dager	+	-	+	+	+	+	-

Patentkrav

1. Sammensetning som omfatter minst én proteinekstrakt av hibiscus og minst ett betaglukan eller et salt derav for anvendelse som et medikament.
- 5 2. Sammensetning som omfatter minst én proteinekstrakt av hibiscus eller minst ett karboksymetyl-betaglukan eller et salt derav for anvendelse som et medikament.
3. Sammensetning for anvendelse ifølge krav 1 eller 2 for anvendelse i behandlingen av analragader.
- 10 4. Sammensetning for anvendelse ifølge krav 3, hvori analragadene er av en akutt og/eller kronisk type, foretrukket av en akutt type.
5. Sammensetning for anvendelse ifølge ett av kravene 1-4 i assosiasjon med en fremgangsmåte og/eller protokoll for behandling av analragader, foretrukket med en fremgangsmåte og/eller protokoll som anvender en analdilatator.
- 15 6. Sammensetning for anvendelse ifølge ett av kravene 1-5, hvori nevnte hibiscus er *Hibiscus esculentus*.
- 20 7. Sammensetning for anvendelse ifølge ett av kravene 1-6, hvori nevnte proteinekstrakt avledes fra frøene av nevnte hibiscus, foretrukket er nevnte frø er delipidert.
8. Sammensetning for anvendelse ifølge ett av kravene 1-7, hvori nevnte proteinekstrakt er minst en proteinfraksjon, foretrukket en løselig proteinfraksjon, foretrukket er et protein hydrolysat.
- 25 9. Sammensetning for anvendelse ifølge krav 8, hvori nevnte hydrolysat er en blanding av oligopeptider, foretrukket med et bindemiddel.
- 30 10. Sammensetning for anvendelse ifølge ett av kravene 1-9, hvori nevnte proteinekstrakt av hibiscus foreligger i en konsentrasjon som spenner mellom 0,1 og 10 %; den spenner foretrukket mellom 0,4 og 5 %.

11. Sammensetning for anvendelse ifølge ett av kravene 1-10, hvori nevnte minst ene betaglukan er karboksymetyl-betaglukan eller et salt derav; foretrukket er det natrium karboksymetyl-betaglukan.

5 **12.** Sammensetning for anvendelse ifølge ett av kravene 1-11, hvori nevnte betaglukan foreligger i en konsentrasjon som spenner mellom 0,004 og 0,4 % foretrukket mellom 0,02 og 0,08 %.

10 **13.** Sammensetning for anvendelse ifølge ett av kravene 1-12, hvori forholdet mellom nevnte minst ene proteinekstrakt og nevnte minst ene betaglukan er 50-10: 1, foretrukket 35-20: 1.

15 **14.** Sammensetning for anvendelse ifølge ett av kravene 1-13, som videre omfatter et kondisjoneringsmiddel valgt i gruppen bestående i: dimetikon eller dimetyl polysiloksan, foretrukket lineær, glyserol, mandelolje (foretrukket *Prunus amygdalus dulcis* olje), fenyl trimetikon, agurkurtolje (foretrukket olje fra frøene av *Borago officinalis*), kattostekstrakt og/eller mucilago, foretrukket mucilago av *Malva sylvestris*, pantenol, ekstrakt av *calendula*, foretrukket av *Calendula officinalis*, etylheksylglyserol, kaprylylglykol, asparginsyre, maltodekstriner og glyserylstearat.

20 **15.** Sammensetning for anvendelse ifølge ett av kravene 1-14, som videre omfatter en surfaktant valgt i gruppen bestående i: cetylalkohol, cetyl(20)OE eller cetet-20, stearyl(20)OE eller stearet-20 og PEG-75 stearat.

25 **16.** Sammensetning for anvendelse ifølge ett av kravene 1-15, som videre omfatter et konserveringsmiddel, foretrukket fenoksyetanol; eller en antioksidant, foretrukket tokoferol og/eller en lakrisrot (*glycyrrhiza glabra*) tørr ekstrakt; eller et bindemiddel, foretrukket en dekstrin; eller et stabiliserende middel, foretrukket et emulgerende stabiliserende middel, mer foretrukket en kryssbundet akrylkopolymer; eller en chelatdanner, foretrukket trinatrium
30 etylendiamin disuccinat.

17. Sammensetning for anvendelse ifølge ett av kravene 1-16, formulert som en krem, gelkrem, gel, olje, emulsjon, gelemulsjon (emulgel), salve, spray, suppositorie eller stikkpille.

18. Fremgangsmåte for fremstilling av en sammensetning ifølge ett av kravene 1-17 som omfatter de følgende trinnene:

- i. smelte kondisjoneringsmidlene, foretrukket de okklusive og/eller mykgjørende kondisjoneringsmidlene, og/eller surfaktantene, foretrukket de emulgerende og/eller rengjørende surfaktantene, ved en temperatur som spenner mellom 70 og 90 °C; mer foretrukket spenner den mellom 75 og 80 °C;
- ii. blande løsemiddel, kondisjoneringsmidlene, foretrukket fuktighetsgivende, chelatdannerene og/eller de stabiliserende emulgerende midlene med råmaterialene smeltet i henhold til trinn (i);
- iii. tilsette minst én hibiscusekstrakt til blandingen i henhold til trinn (ii);
- iv. tilsette minst ett betaglukan til blandingen i henhold til trinn (iii).