SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**

ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(21) **1416-93**

(22) 14.12.93

(31) 07/991 639

(32) 16.12.92

(33) US

(43) 07.09.94

(86)

(13) **A3**

(51) **B 01 D 3/42**

(71) STERLING WINTROP INC, New York, NY, US;

(72) HOLLISTER Kenneth Robert, Chester Springs, US;
LADD David L., Weyne, PA, US;
MCINTIRE Gregory L., West Chester, PA, US;
NA George C., Ft Washington, PA US;
RAJAGOPALAN Natarajan, Phoenixville, PA, US;
YUAN Barbara O-Ching, Villanova, PA, US;

(54) **Použitie vyčistených povrchových modifikátorov na zamedzenie agregácie častíc počas sterilizácie**

(57) Je popísaný prostriedok obsahujúci nanočastice, ktoré majú na svojom povrchu adsorbovanú vyčistenú polymérnu povrchovo aktívnu látku ako povrchový modifikátor a s ním spojený modifikátor bodu zákalu, kde modifikátor bodu zákalu je prítomný v množstve dostatočnom na zvýšenie bodu zákalu povrchového modifikátora, a taktiež spôsob výroby takýchto nanočastíc. Výhodnou vyčistenou povrchovo aktívnou látkou sú vyčistené polyalkylénoxidom susbtituované etyléndiamínové povrchovo aktívne látky a medzi výhodné modifikátory bodu zákalu sa zaluřuje polyetylénglykol.

PV 1416-93

Použitie vyčistených povrchových modifikátorov pre zamedzenie agregácie častíc počas sterilizácie

Oblasť techniky

Tento vynález sa týka terapeutických alebo diagnostických prípravkov s upraveným bodom zákalu a spôsobu jeho výroby.

Doterajší stav techniky

Nanočastice, popísané v US patente č. 5 145 684, sú častice pozostávajúce z obmedzene rozpustného terapeutického alebo diagnostického prípravku, na ktorom je adsorbovaný nezosieťovaný povrchový modifikátor, a ktoré majú priemernú veľkosť častíc menšiu ako asi 400 nm (nanometrov).

Dôsledkom ich malej veľkosti je, že sterilizácia terapeutických alebo diagnostických prípravkov v nanopartikulárnej forme, stabilizovaných povrchovým modifikátorom (povrchovo aktívnou látkou) je obťažná. Filtrácia pri použití filtra s veľkosťou pórov 0,22 µm je postačujúca pre odstránenie väčšiny baktérií a vírusov, ale nanočastice sa väčšinou nemôžu sterilne filtrovať v dôsledku ich veľkosti. Zvyčajné autoklávovanie (teplom pary) pri teplote 121 °C bude spôsobovať agregáciu a/alebo podstatný rast veľkosti častíc, čo poskytuje nepoužiteľné výsledné častice.

Agregácia nanočatíc po zahriatí je v priamom vzťahu ku zrážaniu a/alebo oddeľovaniu fázy povrchového modifikátora (povrchovo aktívnej látky) pri teplote nad bodom zákalu povrchovo aktívnej látky, kde viazané molekuly povrchovo aktívnej látky sú pravdepodobne disociované z nanočastíc a zrážané a/alebo fázovo oddelené, čím nechávajú nanočastice nechránené. Tieto nechránené nanočastice sa potom môžu agregovať do zhlukov častíc. Po ochladení sa povrchovo aktívna látka znovu rozpúšťa v roztoku, ktorý potom poťahuje agregované častice a zabraňuje im disociovať na menšie častice.

Tento vynález je zameraný na nové prostriedky, ktoré umožňujú autoklávovať nanočastice pri zníženom raste veľkosti častíc

alebo bez tohoto rastu. Tieto prostriedky dovoľujú upraviť povrchovo aktívnu látku adsorbovanú na nanočasticich tak, že nanočastice neaglomerujú počas autoklávovania. Tento vynález je taktiež zameraný na spôsob výroby takýchto prostriedkov.

Podstata vynálezu

Podľa tohoto vynálezu sa získava prostriedok obsahujúci nanočastice, ktoré majú na svojom povrchu adsorbovanú vyčistenú polymérnu povrchovo aktívnu látku ako povrchový modifikátor a s ním spojený modifikátor bodu zákalu, pričom modifikátor bodu zákalu je prítomný v množstve dostatočnom pre zvýšenie bodu zákalu povrchového modifikátora. Pri výhodnom uskutočnení bod zákalu povrchového modifikátora sa zvyšuje nad teplotu sterilizácie nanočastíc, ako nad teplotu používanú pri autoklávovaní, aby sa zabránilo aglomerácii nanočastíc.

Ďalší znak tohoto vynálezu sa týka spôsobu výroby nanočastíc, ktoré majú na svojom povrchu adsorbovanú vyčistenú polymérnu povrchovo aktívnu látku ako povrchový modifikátor a s ním spojený modifikátor bodu zákalu, pričom spôsob spočíva v tom, že sa nanočastice uvedú do styku s modifikátorom bodu zákalu na čas a za podmienok, ktoré postačujú na zvýšenie bodu zákalu povrchového modifikátora.

Prehľad obrázkov na výkrese

Obr. 1 až 3 ukazujú rozloženie veľkosti častíc etyl-(3,5-diacetamido-2,4,6-trijódbenzoátu) (EEDA), obsahujúcich povrchový modifikátor T-908 a modifikátor bodu zákalu PEG-400, pred a po autoklávovaní, pri čistote T-908 zodpovedajúcej 88, 92 a 99 %.

Obr. 4 ukazuje rozloženie veľkosti častíc etyl-(3,5-diacetamido-2,4,6-trijódbenzoátu), obsahujúcich povrchový modifikátor T-908 a zodpovedajúcich 88, 92 a 99 % čistote a modifikátor bodu zákalu PEG-400, po autoklávovaní pri teplote 121 °C počas 20 minút.

Obr. 5 ukazuje rozloženie veľkosti častíc etyl-(3,5-diacet-

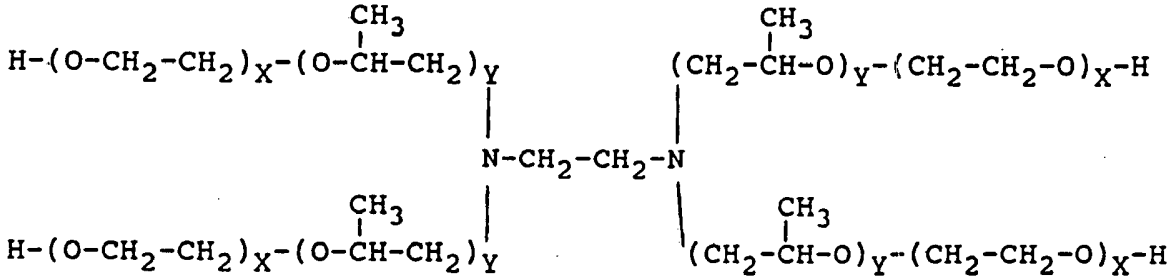
amido-2,4,6-trijódbenzoátu), obsahujúcich povrchový modifikátor T-908 pri čistote zodpovedajúcej 88, 92 a 99 % a modifikátor bodu zákalu PEG-400, po autoklávovaní pri teplote 110 °C počas 90 minút.

Obr. 6 ukazuje rozloženie veľkosti častíc etyl-(3,5-diacetamido-2,4,6-trijódbenzoátu), obsahujúcich povrchový modifikátor T-908 pri čistote zodpovedajúcej 88, 92 a 99 % a modifikátor bodu zákalu PEG-400, pred autoklávovaním.

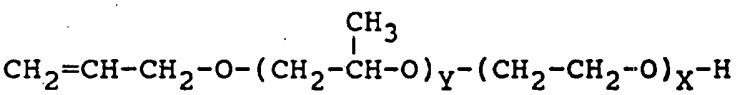
Teraz sa uvádza detailný popis vynálezu.

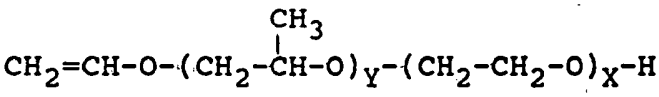
Nanočastice vhodné pri uskutočňovaní tohoto vynálezu obsahujú povrchový modifikátor. Pritom tu používané povrchové modifikátory fyzikálne priľnú na povrchu terapeutického alebo diagnostického prípravku v nanočasticovej forme, ale nereagujú chemicky s týmto prípravkom sami o sebe. U jednotlivých adsorbovaných molekúl povrchového modifikátora sa v podstate nevyskytuje intramolekulové zosieťovanie. Vhodné povrchové modifikátory podľa tohoto vynálezu sú vyčistené polymérne povrchovo aktívne látky.

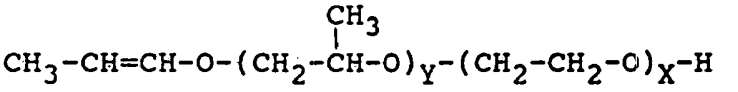
Polymérnou povrchovo aktívnou látkou je povrchovo aktívna látka, ktorá pozostáva zo dvoch alebo väčšieho počtu opakujúcich sa monomérnych jednotiek. Príkladom polymérnych povrchovo aktívnych látok je Tetronic 908 (T-908) a Tetronic 1508 (T-1508), ktoré patria do súboru polyalkylénoxidom substitovaných etyléndiamínových povrchovo aktívnych látok, ktoré majú idealizovanú štruktúru vyjadrenú všeobecným vzorcom

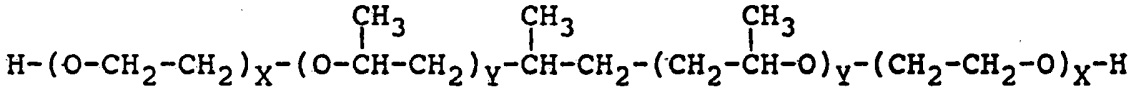


Tieto povrchovo aktívne látky sa líšia v tom, že T-908 má číselnú strednú molárnu hmotnosť približne 25 000, zatiaľ čo T-1508 má číselnú strednú molárnu hmotnosť približne 30 000. Ako bolo stanovené, tieto povrchovo aktívne látky obsahujú rôzne nečistoty, pre ktoré boli zistené štruktúry zodpovedajúce všeobecným vzorcom









Analýza vylučovacou vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou (SEC-HPLC, size exclusion high perfomance liquid chromatography) ukazuje na celkový obsah pol ymérnych látok vo vzorcoch komerčne dostupných látok T-908 a T-1508 v rozmedzí od približne 10 do viac ako 30 %. I keď nepolymérne nečistoty by sa dali odstrániť celkom ľahko, pokusy o odstránenie týchto polymérnych nečistôt obvyklým premývaním rozpúšťadlami a rekryštalizačnými postupmi vedú iba k miernemu zníženiu nečistôt, maximálne o polovicu počiatočného obsahu.

Iným príkladom povrchovo aktívnej látky, ktorá bola vyčistená, je tyloxapol.

Vyčistenou polymérnou povrchovo aktívnou látkou je polymérna povrchovo aktívna látka, ktorá je v podstate zbavená nečistôt spôsobom podľa tohoto vynálezu. Tento spôsob zahrňuje použitie extenzívnej vodnej diafiltrácie, ako tu bude rozobraté inde, extrakciu nevodnými rozpúšťadlami alebo spracovanie s hydrofilnými živicami, iónomeničovými živicami a podobne.

Výraz "v podstate zbavený polymérnych nečistôt" ako sa tu používa, znamená, že takéto nečistoty sú prítomné vo vyčistenej polymérnej povrchovo aktívnej látke, používanej podľa tohoto vynálezu, na množstvo menšie ako približne 15 %. S výhodnou sú takéto nečistoty prítomné v množstve menšom ako približne 1 %.

Podľa iného uskutočnenia, množstvo polymérnych nečistôt v počiatočnej vzorke polymérnej povrchovo aktívnej látke môže byť znížené na hodnotu vyjadrenú koeficientom okolo 50 %. S výhodou sa takéto zníženie hladiny polymérnych nečistôt vyjadrí koeficientom okolo 90 % a predovšetkým výhodne okolo 95 %. Polymérne povrchovo aktívne látky sú obchodne a priemyselne dostupné a/alebo sa môžu vyrobiť technickými spôsobmi známymi v odbore.

Nanočastice vhodné pri uskutočňovaní tohoto vynálezu sa môžu vyrobiť podľa spôsobov popísaných v US patente č. 5 145 684. V krátkosti zhrnuté, nanočastice sa pripravujú dispergovaním obmedzene rozpustného terapeutického alebo diagnostického prípravku v kvapalnom dispergačnom prostredí a mletím prípravku na mokro v prítomnosti mlecieho prostredia, pre zníženie veľkosti častíc kontrastného činidla na účinnú priemernú veľkosť častíc menšiu ako približne 400 nm. Veľkosť častíc sa môže zmenšiť v prítomnosti povrchového modifikátora, napríklad počas procesu mletia na mokro.

Všeobecný spôsob výroby častíc vhodných pre uskutočňovanie tohoto vynálezu je tento:

Zvolený terapeutický alebo diagnostický prípravok sa dostane na trhu a/alebo sa vyrobí technickým spôsobom, ktorý je známy v odbore, ako je popísané vyššie, vo zvyčajnej hrubozrnnej forme. Je výhodné, avšak nie nutné, aby veľkosť častíc hrubozrnného zvoleného terapeutického alebo diagnostického prípravku bola menšia ako asi 100 µm, podľa stanovenia sitovou analýzou. Pokiaľ veľkosť hrubozrnných častíc takéhoto prípravku je väčšia ako približne 100 µm, potom je výhodné, aby sa veľkosť hrubozrnných častíc terapeutického alebo diagnostického prípravku znížila na veľkosť menšiu ako 100 µm pri použití zvyčajného spôsobu mletia, ako založeného na použití vzduchovej trysky alebo fragmentačného mletia.

Hrubozrnný zvolený terapeutický alebo diagnostický prípravok sa potom môže pridať ku kvapalnému prostrediu, v ktorom je v podstate nerozpustný, za vzniku premixu. Koncentrácia terapeutického alebo diagnostického prípravku v kvapalnom prostredí sa môže meniť od približne 0,1 do 60 % hmotnostných, s výhodou od 5 do 30 % hmotnostných. Je výhodné, avšak nie nutné, keď je v premixe prítomný povrchový modifikátor. Koncentrácia povrchového modifikátora sa môže meniť v rozmedzí od približne 0,1 do 90 % hmotnostných, s výhodou od 1 do 75 % hmotnostných, výhodnejšie od 10 do 60 % hmotnostných a predovšetkým výhodne od 10 do 30 % hmotnostných, vztiahnuté na celkovú hmotnosť kombinácie účinnej látky a povrchového modifikátora. Zdanlivá viskozita suspenzie premixu je s výhodou menšia ako približne 1000 mPa.s.

Premix sa môže použiť priamo pri mletí na mokro na zníženie priemernej veľkosti častíc v disperzii na menej ako 400 nm. Je výhodné, pokiaľ sa premix použije priamo, keď sa na roztieranie použije guľový mlyn. Pri inom uskutočnení vynálezu sa terapeutický alebo diagnostický prípravok a poprípade povrchový modifikátor môžu dispergovať v kvapalnom prostredí pri použití vhodného spôsobu premiešavania, napríklad pomocou valcového mlyna alebo mixéru typu Cowles, pokiaľ sa nestanoví homogénna disperzia, v ktorej nie sú voľným okom viditeľné veľké aglomeráty. Je výhodné, keď sa premix podrobí takémuto stupňu predbežného rozomletia disperzie, pokiaľ sa pre rozotieranie použije mlyn s recirkulujúcim prostredím.

Mletie na mokro sa môže uskutočňovať v ľubovoľnom vhodnom dispergačnom mlecom zariadení, vrátane napríklad guľového mlyna, roztieracieho mlyna, vibračného mlyna a mlyna obsahujúceho prostredie, ako je pieskový mlyn a guličkový mlyn. Prostredie v mlyne je výhodné v dôsledku relatívne kratších časov mletia, ktoré sa požadujú pre dosiahnutie zamýšľaného výsledku, to znamená zmenšenia veľkosti častíc. Pre mletie v prostredí je zdanlivá viskozita premixu s výhodou od približne 100 do asi 1000 mPa.s. Pre mletie v guličkovom mlyne je zdanlivá viskozita premixu s výhodou od približne 1 až do asi 100 mPa.s. Takéto rozmedzie má sklon dosiahnuť optimálnu vyváženosť medzi účinnou fragmentáciou častíc a eróziou prostredia.

Mlecie prostredie použité pre stupeň znižovania veľkosti častíc sa môže zvoliť z tuhých prostredí, s výhodou sférických alebo partikulárnych (časticových), vo forme, ktorá má priemernú veľkosť menšiu ako asi 3 mm a výhodnejšie menšiu ako približne 1 mm. Takéto prostredie môže s výhodou poskytnúť častice podľa vynálezu pri skrátenom čase spracovania a môže nastávať menšie vydretie mlecieho zariadenia. Výber materiálu pre mlecie prostredie sa nejaví byť rozhodujúcim. Avšak výhodné prostredie má špecifickú hmotnosť väčšiu ako približne 3 g/cm^3. Oxid zirkoničitý, ako je 95 % oxid zirkoničitý stabilizovaný oxidom horečnatým, ortokremičitan zirkoničitý a sklo ako mlecie prostredie poskytujú častice, ktoré majú hladinu kontaminácie, ktorá sa pokladá za prijateľnú pre výrobu terapeutických alebo diagnostických prípravkov. Jestvuje však domnienka, že vhodné sú taktiež iné prostredia, ako je nehrdzavejúca oceľ, oxid titaničitý, oxid hlinitý a 95 % oxid zirkoničitý stabilizovaný ytriom.

Čas rozotierania sa môže v rozsiahlej miere meniť a závisí predovšetkým od špeciálne vybraného mlyna pre mletie na mokro. Pre valcové mlyny sa môže vyžadovať čas spracovania až do 5 dní alebo dlhšie. Na rozdiel od toho čas spracovania kratší ako 1 deň (čas zotrvania od približne 1 minúty až do niekoľkých hodín) poskytuje požadované výsledky pri použití mlynov s vysokým strihom v prostredí.

U častíc sa musí znižovať veľkosť pri teplote, ktorá nespôsobuje významnú degradáciu terapeutického alebo diagnostického prípravku. Všeobecne výhodné sú prevádzkové teploty nižšie ako približne 30 až 40 °C. Ak je to žiadúce, výrobné zariadenie sa môže chladiť zvyčajným chladiacim zariadením. Spôsob sa bežne uskutočňuje v podmienkach laboratórnej teploty a za prevádzkového tlaku, ktorý je bezpečný a účinný pre proces mletia. Napríklad prevádzkový tlak zodpovedajúci okoliu je obvyklý u guľových mlynov, roztieracích mlynov a vibračných mlynov. Prevádzkové tlaky až do približne 140 kPa sú typické pre mletie v prostredí. Povrchový modifikátor, pokiaľ nie je prítomný v premixe, sa musí pridávať k disperzii po rozotretí v množstve aké je predpísané pre premix. Potom sa disperzia môže miešať, napríklad intenzívnym pretrepávaním. Podľa potreby sa disperzia môže podrobiť stupňu,

v ktorom sa pôsobí ultrazvukom, napríklad pri použití dodávanej ultrazvukovej energie. Disperzia sa môže napríklad podrobiť pôsobeniu ultrazvukovej energie, ktorá má frekvenciu od 20 do 80 kHz po čas od približne 1 do 120 sekúnd.

Relatívne množstvo terapeutického alebo diagnostického prípravku a povrchového modifikátora sa môže v rozsiahlej miere meniť a optimálne množstvo povrchového modifikátora môže závisieť napríklad od jednotlivého terapeutického alebo diagnostického prípravku a zvoleného povrchového modifikátora, kritickej koncentrácie micel povrchového modifikátora, pokiaľ je vo forme micel, hydrofilno-lipofilnej rovnováhy (HLB) stabilizátora, teploty topenia stabilizátora, jeho rozpustnosti vo vode, povrchového napätia vodných roztokov stabilizátora a podobne. Povrchový modifikátor je s výhodou prítomný v množstve od približne 0,1 do 10 mg/m^2 plochy povrchu terapeutického alebo diagnostického prípravku. Povrchový modifikátor môže byť prítomný v množstve od 0,1 do 90 % hmotnostných, s výhodou od 1 do 75 % hmotnostných, výhodnejšie od 10 do 60 % hmotnostných a predovšetkým výhodne od 10 do 30 % hmotnostných, vztiahnuté na celkovú hmotnosť suchých častíc.

Terapeutické alebo diagnostické prípravky vhodné v prostriedku podľa tohoto vynálezu obsahujú prípravky popísané v US patente č. 5 145 684 a v publikovanej Európskej patentovej prihláške č. 0 498 482A. Výhodným diagnostickým prostriedkom je zobrazovacie činidlo pre röntgenové žiarenie, tvorené etyl-(3,5-diacetamido-2,4,6-trijódbenzoátom) (EEDA), etylesterom kyseliny diatrizoovej.

Pokiaľ sa tu používa veľkosť častíc, táto sa vzťahuje ku priemernej veľkosti častíc, ktorá sa stanovuje obvyklým technickým spôsobom merania veľkosti častíc, ktorý je dobre známy pracovníkovi v odbore, ako sedimentačnou frakcionáciou tokom v poli, fotónovou korelačnou spektroskopiou alebo diskovým odstreďovaním. Výraz "účinná priemerná veľkosť častíc menšia ako asi 400 nm" znamená, že najmenej 90 % častíc má hmotnostnú priemernú veľkosť častíc menšiu ako približne 400 nm, pokiaľ sa meria vyššie uvedenými technickými spôsobmi. Pri výhodnom uskutočnení tohoto vyná-

lezu je účinná priemerná veľkosť častíc menšia ako asi 300 nm a výhodnejšie menšia ako približne 250 nm. Pri niektorých uskutočneniach vynálezu sa dosahuje účinná priemerná veľkosť častíc menšia ako asi 200 nm. V súvislosti s účinnou priemernou veľkosťou častíc je výhodné, ak najmenej 95 % a výhodnejšie najmenej 99 % častíc má veľkosť menšiu ako je účinný priemer, napríklad 400 nm. Pri predovšetkým výhodných uskutočneniach v podstate všetky častice majú veľkosť menšiu ako 400 nm. V určitých prípadoch v podstate všetky častice majú veľkosť menšiu ako 250 nm.

Spôsob výroby nanočasticového prostriedku podľa tohoto vynálezu zahrňuje stupne zavedenia terapeutického alebo diagmostického prípravku, kvapalného prostredia, mlecieho prostredia a poprípade povrchového modifikátora do mlecej nádoby, mletie na mokro, pre zníženie veľkosti častíc terapeutického alebo diagnostického prípravku na menej ako približne 400 nm a oddelenie častíc a poprípade kvapalného prostredia z mlecej nádoby od mlecieho prostredia, napríklad odsatím, filtráciou alebo odparením. Pokiaľ povrchový modifikátor nie je prítomný počas mletia na mokro, môže sa s časticami zmiešať po uskutočnení týchto stupňov. Kvapalné prostredie, najčastejšie voda, môže slúžiť ako farmaceuticky prijateľná nosná látka. Spôsob sa s výhodou uskutočňuje za aseptických podmienok. Potom sa nanočasticový prostriedok podrobuje sterilizačnému procesu.

Pokiaľ je tu kdekoľvek zmienka o sterilnej filtrácii, táto veľmi často neposkytuje zodpovedajúcu sterilizáciu pre nanočastice. Preto sa vyžadujú iné spôsoby sterilizácie. Napríklad sa môže používať sterilizácia parou alebo teplom vo vlhkom prostredí pri teplote okolo 121 °C počas približne 15 minút. V nadmorských výškach približne na úrovni morskej hladiny sa takéto podmienky dosahujú pri použití pary o tlaku približne 100 kPa nad atmosferickým tlakom.

Sterilizácia suchým teplom sa môže taktiež uskutočňovať, i keď teploty používané pre sterilizáciu suchým teplom sú zvyčajne 160 °C počas časového obdobia od 1 do 2 hodín.

Bod zákalu je teplota, pri ktorej sa povrchový modifikátor (povrchovo aktívna látka) vyzráža z roztoku, ako je popísané vyššie. Výraz "modifikátor bodu zákalu" označuje zlúčeninu, ktorá ovplyvňuje bod zákalu povrchových modifikátorov. Predovšetkým modifikátory bodu zákalu používané podľa tohoto vynálezu zvyšujú bod zákalu povrchových modifikátorov adsorbovaných na nanočasticiach. Týmto spôsobom sa dosahuje, že povrchové modifikátory nedisociujú z povrchu nanočastíc pri teplotách používaných pri autoklávovaní. Preto nanočastice takto upravené neaglomerujú počas sterilizačného procesu a tak zachovávajú svoju účinnú priemernú veľkosť častíc menšiu ako asi 400 nm po sterilizácii.

Príklady modifikátorov bodu zákalu zahrňujú neiónové zlúčeniny, ako sú polyetylénglykoly, napríklad PEG 400, ktorý je dostupný u firmy J. T. Baker Chemical Co., propylénglykol, cyklodextrín a etanol, aniónové povrchovo aktívne látky ako je dodecylsulfonát sodný a dioktylsulfosukcinát sodný, katiónové povrchovo aktívne látky, ako je centrimid, mastné kyseliny, ako je kyselina kaprylová a kyselina kaprínová, a fosfolipidy s nábojom, ako je dimyristoylfosfatidylglycerol, kardiolipin a dimyristoylfosfatidylserín. Výhodným modifikátorom bodu zákalu je polyetylénglykol.

Modifikátor bodu zákalu môže byť prítomný v prostriedkoch podľa tohoto vynálezu v množstve postačujúcom na zvýšenie bodu zákalu vyčistenej polymérnej povrchovo aktívnej látky. Výhodné množstvo modifikátora povrchovo aktívnej látky je od 0,01 do 20 % hmotnostno objemových, pričom výhodnejšie množstvo modifikátora bodu zákalu je od 0,05 do 10 % hmotnostno objemových.

Tento vynález je ďalej založený na stanovení spôsobu výroby nanočastíc, ktoré majú na svojom povrchu adsorbovanú polymérnu povrchovo aktívnu látku a s ňou spojený neiónový modifikátor bodu zákalu.

Tento spôsob spočíva vo výrobe nanočastíc terapeutického alebo diagnostického prípravku, o ktorom je tu kdekoľvek zmienka, a spočíva v tom, že sa tieto nanočastice uvedú do styku s modifikátorom bodu zákalu, pričom uvádzanie do styku sa môže uskutočniť zmiešaním suspenzie nanočastíc s roztokom modifikátora bodu zákalu a potom sa suspenzia nanočastíc sterilizuje pri teplote a po

čas postačujúci pre účinnú sterilizáciu nanočasticovej suspenzie.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Vynález bude teraz ilustrovaný v súvislosti s ďalej uvedenými príkladmi, ktoré v žiadnom prípade nie sú mienemé ako jeho obmedzenie.

Príklad 1

Spôsob čistenia T-908

2 % roztok T-908 o čistote 88 %, ako sa stanoví vylučovacou vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou (SEC-HPLC) so stanoveným indexom lomu vo vode, sa vyrobí podľa týchto diafiltračných pokusov:

(1) Približne 50 ml 2 % roztoku T-908 sa umiestni do miešaných buniek Amicon 50 ml s membránou YM-5 a diafiltruje sa proti vode. Zachytia sa tieto diafiltrátové frakcie:

Frakcie	Množstvo
LDD-988-128-1-A	43 ml
1-B	44 ml
1-C	17 ml
1-D	45 ml
celkom	145 ml

Dialýzovaný roztok sa označí ako LDD-988-128-1 (približne má objem 50 ml). Jeho čistota je 88 %, stanovené vylučovacou vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou.

(2) Približne 50 ml 2 % roztoku T-908 sa umiestni do miešaných buniek Amicon o objeme 50 ml s membránou YM-10 a diafiltruje sa proti vode. Zachytia sa tieto diafiltrátové frakcie:

Frakcie	Množstvo
LDD-988-128-2-A	32 ml
2-B	44 ml
2-C	35 ml
2-D	44 ml
celkom	155 ml

Dialýzovaný roztok sa označí ako LDD-988-128-2 (približne má objem 50 ml). Jeho čistota je 93 %, stanovené vylučovacou vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou. Diafiltrácia tohoto dialýzovaného roztoku proti vode pokračuje. Zo začiatku sa tento roztok ultrafiltruje na približne 20 ml a potom diafiltruje, pokiaľ sa nezachytí celkove približne 150 ml ultrafiltrátu a diafiltrátu, ktoré sa označia ako LDD-988-128-2F. Dialýzovaný roztok sa označí ako LDD-988-128-2R (približne má objem 20 ml), jeho čistota zodpovedá 97 %, stanovené vylučovacou vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou.

Zvyšok 2 % roztoku T-908 (o objeme 330 ml) sa umiestni do miešaných buniek Amicon o objeme 400 ml s membránou YM-10. Tento zvyšok sa potom ultrafiltruje na objem približne 130 ml a potom diafiltruje proti vode, pokiaľ sa nezachyytí približne 1500 ml ultrafiltrátu a diafiltrátu, ktoré sa označia ako LDD-988-129F. Dialýzovaný roztok sa označí ako LDD-988-129R. Tento roztok má čistotu 96 %, stanovené vylučovacou vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou.

Diafiltrácia tohoto dialýzovaného roztoku proti vode pokračuje, pokiaľ sa nezachytí približne 1250 ml diafiltrátu. Dialýzovaný roztok (o objeme približne 105 ml) sa označí ako LDD-988-129R1. Jeho čistota zodpovedá 98 %, stanovené vylučovacou vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou.

LDD-988-129F sa zahustí v miešanej bunke s membránou YM-3 a potom vysuší za zníženého tlaku. Získa sa 0,488 g bielej tuhej látky, ktorá sa označí ako LDD-988-129X.

Pre LDD-988-129X sa vylučovacou vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou stanoví obsah 74 % nečistoty alebo nečistôt o nízkej molekulovej hmotnosti (MW) a 26 % zložiek o vysokej molekulovej hmotnosti. NMR spektrálna analýza tejto látky ukazuje, že obsahuje tri olefinické zlúčeniny:

1) vinyléter: CH_2=CH-O-polymér,
2) propenyléter: CH_3CH=CH-O-polymér a
3) alyléter: CH_2=$CHCH_2$-O-polymér.

Príklad 2

5 % roztok T-908 (šarža WPMM-562B, o čistote 87 %, stanovené vylučovacou vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou) sa pripraví rozpúšťaním 50,0 g T-908 v 950 ml vody. 320 ml tohoto 5 % roztoku T-908 sa umiestni do miešaných buniek Amicon o objeme 400 ml s membránou YM-10 a diafiltruje proti vode. Diafiltrácia sa zastaví po zachytení 5760 (18 objemov) diafiltrátu. Dialyzovaný roztok (o objeme 305 ml) sa filtruje (nylon, veľkosť pórov 0,2 µm) a poskytne LDD-988-150 o čistote 97 %, stanovené vylučovacou vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou. 100 ml tohoto roztoku sa lyofilizuje a tak sa získa 4,55 g tuhej látky, ktorá sa označí ako LDD-988-150A.

Zostávajúcich 350 ml 5 % roztoku T-908 sa umiestni do miešaných buniek Amicon o objeme 400 ml s membránou YM-10 a diafiltruje proti vode, pokiaľ sa nezachytí 8175 ml diafiltrátu. Diafiltrát sa ultrafiltruje na objem približne 250 ml, filtruje a lyofilizuje. Získa sa 15,27 g bielej tuhej látky, ktorá sa označí ako LDD-988-151. Táto látka má čistotu 95 %, stanovené vylučovacou vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou.

Príklad 3

Vzorka komerčne dostupnej povrchovo aktívnej látky T-908 (od firmy BASF, šarža WPMM-562B) sa extenzívne diafiltruje za tlaku pri použití špirálovo vinutej diafiltračnej membrány Osmonics 52X-OPS-S2. Hladina polymérnych nečistôt, stanovená vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou, sa zníži z počiatočnej hodnoty

12,7 na 2,4 % po 10 obratoch diafiltrácie a dodatočne na nedetegovateľnú hladinu po 40 obratoch diafiltrácie.

Príklad 4

Vyčistené povrchovo aktívne látky sa použijú pre prípravu nanočasticových disperzií kontrastného činidla pre röntgenové žiarenie s polyetylénglykolom ako modifikátorom bodu zákalu spôsobom podľa tohoto vynálezu a vyvolajú stabilitu voči agregácii za podmienok potrebných pre autoklávovanie (teplota 121 °C počas 20 minút), pričom táto stabilita sa nedosiahne bez čistenia. Dosiahnuté hodnoty sú uvedené v tabuľke 1 a na obr. 1 až 6.

Tabuľka 1

Vzorka šarže č.	Čistota T-908	Priemerná veľkosť častíc (nm) Počiatočná	A*	B**
111200	88%	265	435	349
GLP Tox	92%	242	326	291
030600	99%	264	267	288

* Autoklávované pri teplote 121 °C počas 20 minút.

** Autoklávované pri teplote 110 °C počas 90 minút.

Príklad 5

Spôsob čistenia T-1508

T-1508 (o čistote 67,9 %, stanovené meraním indexu lomu a vylučovacou vysoko účinnou kvapalinovou chromatografiou) sa diafiltruje za použitia polysulfónovej membrány (Osmonics 192--HNO2, rozmedzie molekulovej hmotnosti od 15 000 do 25 000, dostupná u firmy Osmonics, Inc.), pokiaľ sa nedosiahne čistota 92 %. Stabilizované nanočastice s obsahom vyčisteného T-1508 sa tepelne sterilizujú na oveľa menšiu veľkosť častíc ako so surovým T-1508.

PV 1416-93

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Prostriedok, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, ž e pozostáva z nanočastíc, ktoré majú na svojom povrchu adsorbovanú vyčistenú polymérnu povrchovo aktívnu látku ako povrchový modifikátor a modifikátor bodu zákalu s ním spojený, pričom modifikátor bodu zákalu je prítomný v množstve postačujúcom na zvýšenie bodu zákalu povrchového modifikátora.

2. Prostriedok podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, ž e nanočastice obsahujú diagnostický alebo terapeutický prípravok.

3. Prostriedok podľa nároku 2, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, ž e diagnostickým prípravkom je etylester kyseliny diatrizoovej.

4. Prostriedok podľa nároku 2, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, ž e vyčistenou polymérnou povrchovo aktívnou látkou je vyčistená polyalkylénoxidom substituovaná etyléndiamínová povrchovo aktívna látka.

5. Prostriedok podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, ž e modifikátorom bodu zákalu je polyetylénglykol.

6. Prostriedok podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, ž e modifikátor bodu zákalu zvyšuje bod zákalu povrchového modifikátora nad sterilizačnú teplotu nanočastíc.

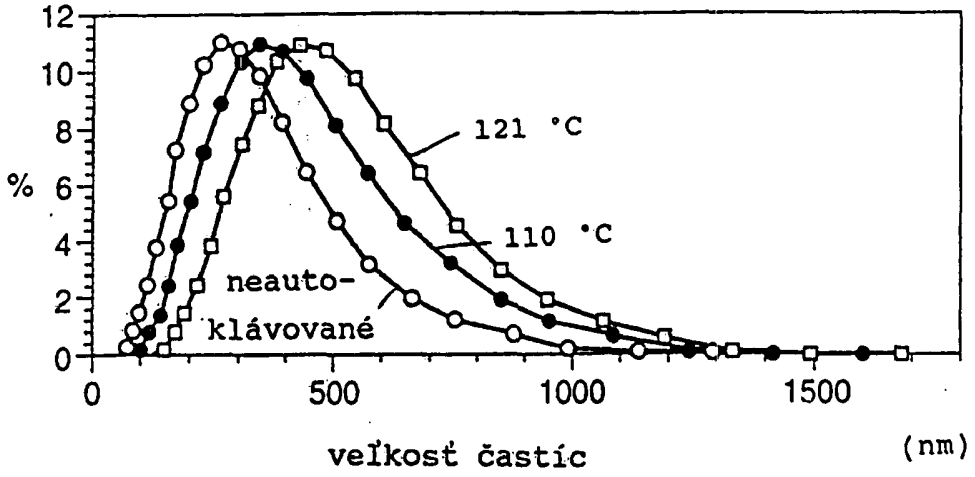
7. Spôsob výroby nanočastíc, ktoré majú adsorbovanú na svojom povrchu vyčistenú polymérnu povrchovo aktívnu látku ako povrchový modifikátor a s ním spojený modifikátor bodu zákalu, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, ž e sa nanočastice uvádzajú do styku s modifikátorom bodu zákalu po čas a za podmienok postačujúcich na zvýšenie bodu zákalu povrchového modifikátora.

8. Spôsob podľa nároku 7, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, ž e ďalej zahrňuje stupeň sterilizácie nanočastíc.

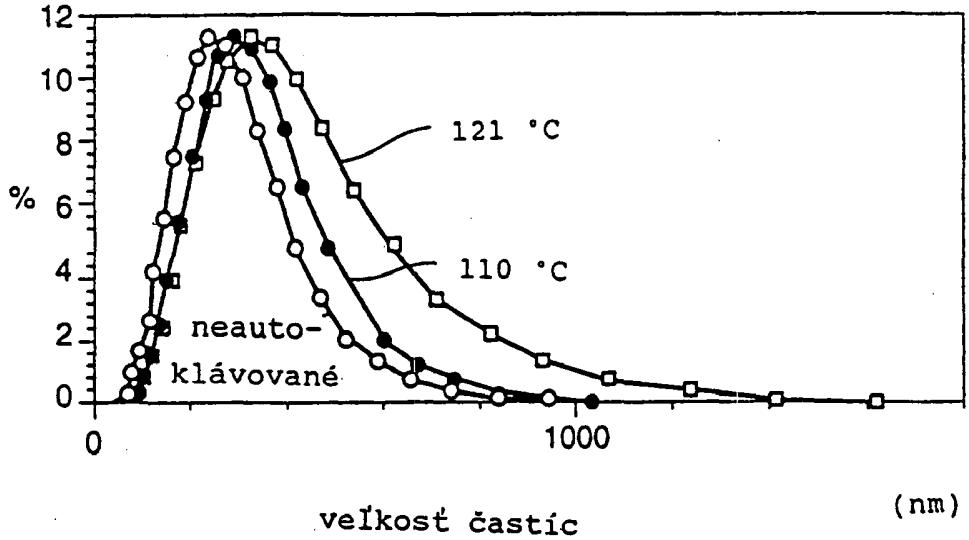
9. Spôsob podľa nároku 8, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, ž e sa sterilizuje autoklávovaním horúcou parou.

PV 1416-93

Obr. 1

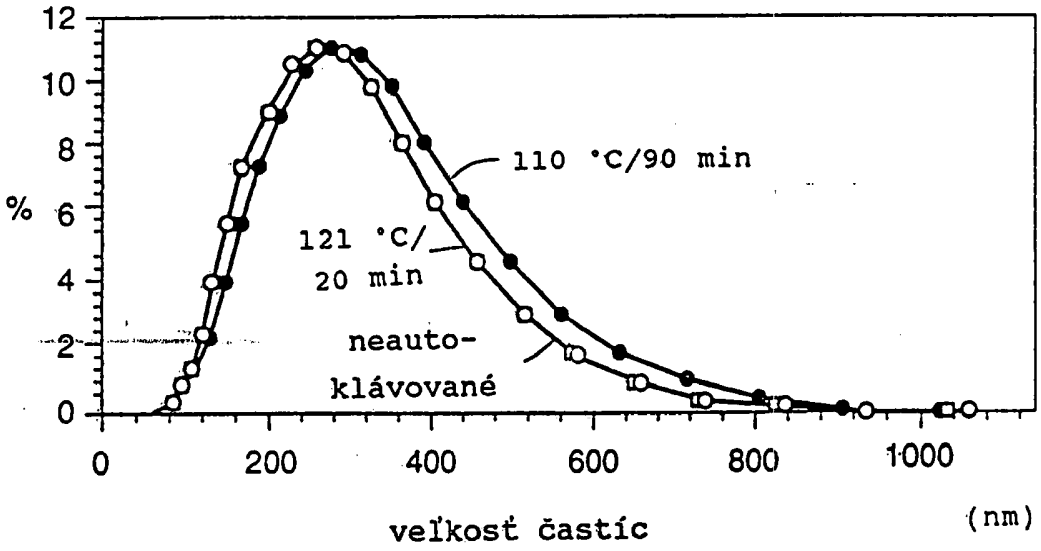


Obr. 2

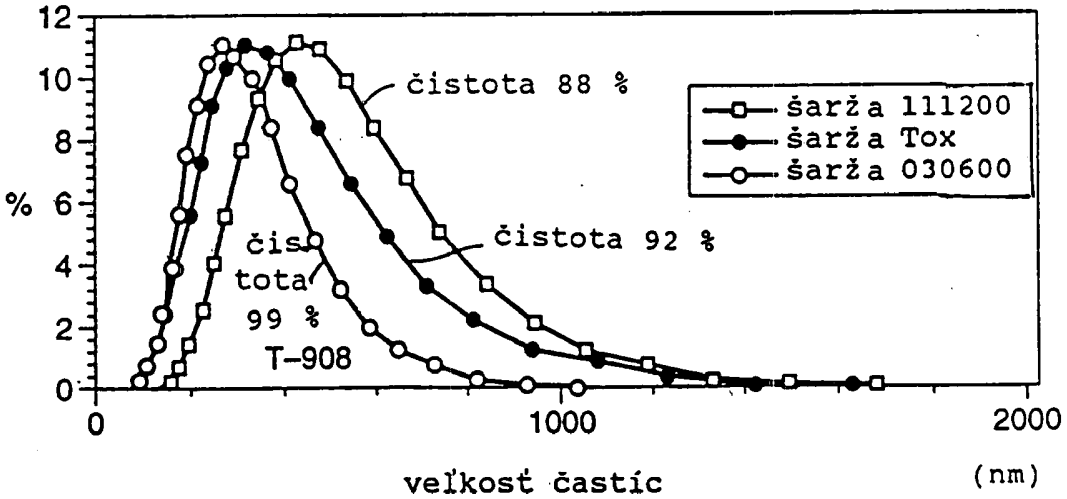


PV 1416-93

Obr. 3

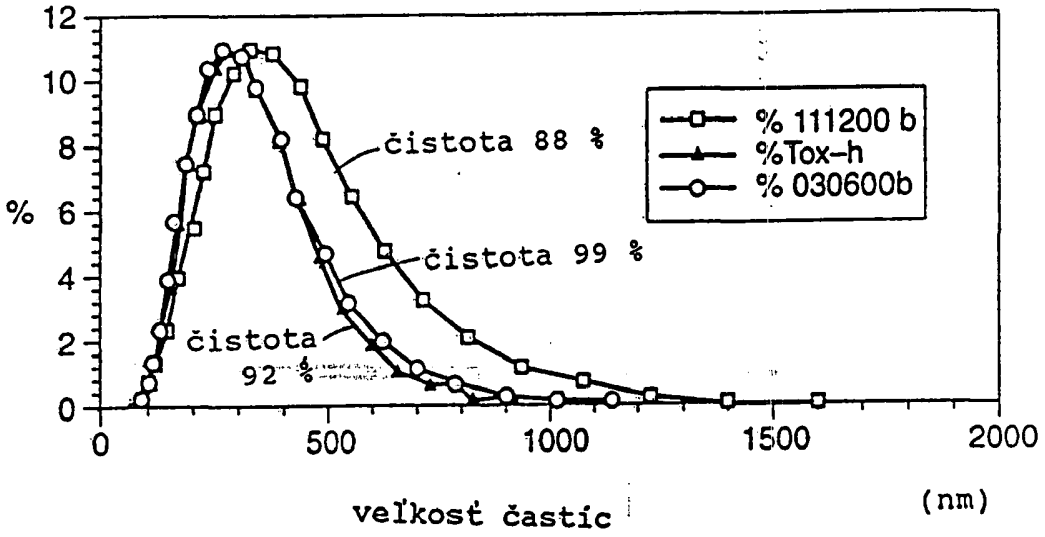


Obr. 4



PV 1416-93

Obr. 5



Obr. 6

