



Patentdirektoratet
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 3301/86

(51) Int.Cl.5

C 08 J 3/14

(22) Indleveringsdag: 11 jul 1986

B 01 J 13/02

(41) Alm. tilgængelig: 13 jan 1987

(45) Patentets meddelelse bkg. den: 25 apr 1994

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 12 jul 1985 SE 8503459

(73) Patenthaver: BO MAGNUS *EKMAN; Mänstigen 9; 216 19 Malmö, SE, ÅKE RIKARD *LINDAHL; Ringduvevaegen 50;
274 00 Skurup, SE

(72) Opfinder: SAMME

(74) Fuldmægtig: Kontor for Industriel Eneret

(54) Fremgangsmåde til fremstilling af små, kugleformede polymerpartikler

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

3301-86

Fremgangsmåde til fremstilling af små, kugleformede
polymerpartikler

Små, kugleformede polymerpartikler fremstilles fra et system omfattende to væskeformige faser, hvorved den ene fase indeholdende et eller flere opløste stoffer dispergeres i form af små dråber i den anden fase til dannelse af en emulsion, hvorefter dråberne bringes til at overgå til fast form. Ifølge opfindelsen anvender man som væskeformige faser to med hinanden ikke blandbare vandholdige faser.

Den foreliggende opfindelse angår en fremgangsmåde til fremstilling af små, kugleformede polymerpartikler ud fra et system omfattende to væskefaser, hvorved den ene fase indeholdende en eller flere opløste substanser dispergeres i form af små dråber i den anden fase til dannelse af en emulsion, hvorefter dråberne bringes til at gå over til fast form og danne polymere partikler.

Der kendes et stort antal fremgangsmåder af den ovenfor angivne type. De kendte måder adskiller sig hovedsageligt fra hinanden ved anvendelse af forskellige principper til overførsel af dråberne til fast (uopløselig) form.

Fx angives der i DE-B-1.443.359 en fremgangsmåde ved hvilken den i den ene fase opløste substans udgøres af et polysakkarid og overføringen af dråberne til fast form (gelform) sker ved tilsætning af et tværbindingmiddel, hvorved der dannes et tværbundet polysakkarid som udfældes.

Ved en anden kendt fremgangsmåde, der er angivet i US-patentskrift nr. 3.634.394, udnytter man som opløst substans en sådan hvis opløselighed er pH-afhængig og bevirker udfældning (og overføring af dråberne til fast form) ved ændring af pH-værdien.

Ifølge US-patentskrift nr. 4.061.466, som angiver yderligere en kendt fremgangsmåde af ovennævnte art, er de opløste stoffer monomere i et polymerisationssystem, og overføringen af dråberne til fast form sker ved polymerisation af monomererne til dannelse af en uopløselig polymer.

Ved samtlige de kendte fremgangsmåder udgøres den ene fase af en vandfase, mens der til den anden fase anvendes et organisk opløsningsmiddel som er ikke blandbart med vand, hvilket medfører visse ulemper.

Således er anvendelse af organiske opløsningsmidler af denne type mindre ønskelig fra miljøsynspunkter og arbejderbeskyttelsessynspunkter. I mange tilfælde fordrer det fremstillede partikelformige produkts anvendelsesformål (fx terapeutiske anvendelsesformål) en omhyggeligt rensning af produktet for at fjerne de sidste rester af opløs-

ningsmidlet. I andre tilfælde kan de fremstillede partikler eller i partiklerne indkapslede eller på anden måde immobiliserede, biologisk aktive molekyler tage skade af det organiske opløsningsmiddel.

5 Det er derfor et formål for den foreliggende opfindelse at tilvejebringe en fremgangsmåde af den indledningsvis angivne art, der udføres under anvendelse af et tofaset væskesystem af i væsentlig grad mindre farlig art end de tidligere anvendte tofasesystemer og muliggør fremstilling af immobiliserede, i forhold til organiske opløsningsmidler ømtålelige stoffer uden at disse stoffer tager skade.

15 Dette opnås ifølge den foreliggende opfindelse ved en fremgangsmåde at den foran angivne art, der er ejendommelig ved at man som væskefaser anvender to med hinanden ikke blandbare vandfaser.

Systemer omfattende to eller flere med hinanden ikke blandbare vandholdige faser er tidligere kommet til anvendelse ved adskillelse af makromolekylære stoffer, se fx
20 EP-B1-0.011.837 og USA-A-3.897.414.

I vandholdige tofasesystemer af den foreliggende type indeholder hver af faserne som regel mindst én opløst polymer. Eksempler på sådanne tofasesystemer af polymerholdige opløsninger er: Dextran/vandopløselig sampolymer af sakkarose og epiklorhydrin ("Ficoll"[®])/vand, dextran/hydroxypropyldextran/vand, polyætylenglykol/dextransulfat/vand, dextran/polyætylenglykol/vand, polypropylenglykol/metoxypolyætylenglykol/vand, polypropylenglykol/polyætylenglykol/vand, polypropylenglykol/polyvinylalkohol/vand, polypropylenglykol/polyvinylpyrrolidon/vand, polypropylenglykol/hydroxypropyldextran/vand, polypropylenglykol/dextran/vand, polyætylenglykol/polyvinylalkohol/vand, polyætylenglykol/polyvinylpyrrolidon/vand, polyætylenglykol/"Ficoll"[®]/vand, polyætylenglykol/opløselig stivelse/vand, polyætylenglykol/glykogen/vand, polyvinylalkohol/metylcellulose/vand, polyvinylalkohol/hydroxypropyldextran/vand, polyvinylalkohol/dextran/vand, polyvinylpyrrolidon/metyl-

cellulose/vand, polyvinylpyrrolidon/dextran/vand, metylcellulose/hydroxypropyldextran/vand, metylcellulose/dextran/vand og ætylhydroxyætylcellulose/dextran/vand.

Andre grupper vandholdige tofasede væskesystemer er: mindst én polymer/mindst ét salt/vand og mindst én polymer/mindst ét med vand blandbart organisk opløsningsmiddel/vand. Saltet kan være et uorganisk eller organisk salt som er opløseligt i vand, fx et sulfat, et fosfat eller et klorid som fx magnesiumsulfat, kaliumfosfat eller natriumklorid. Eksempler på vandopløselige organiske opløsningsmidler som kan anvendes i vandholdige tofasesystemer i forbindelse med fremgangsmåden ifølge opfindelsen er propylalkohol, glycerol, ætanol, acetone og isopropylalkohol.

I visse af de ovennævnte systemer kan den polymere komponent i den ene fase bringes til at gå over i fast form. Ved anvendelse af andre systemer kan man udnytte en tredje polymerkomponent som opløser sig i den ene af de to faser og derefter kan bringes til at gå over i fast form.

Ved de tilfælde hvor der forekommer en tredje polymerkomponent vælges der et tofasesystem i hvilket den ene komponent er fordelt hovedsageligt i den ene fase. Desuden bør polymeren i den fase, hvor nævnte komponent i hovedsagen er til stede, være en sådan at den er fysiologisk ufarlig når slutproduktet er beregnet til terapeutiske formål, eftersom nævnte polymer vil komme til at indgå i slutproduktet.

Overføringen af dråberne med deri opløst substans til fast form ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan ske både ved fysiske og kemiske metoder, og valget af opløste substans har afgørende betydning for valget af metode.

Ifølge en udførelsesform for fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvender man som opløst substans i den fase som dispergeres til små dråber, en sådan der har begrænset opløselighed i vand, og bringer dråberne til at gå over i fast form ved fjernelse af vand derfra.

Eksempler på substanser som kan anvendes i denne sammenhæng er stivelse, agar, gelatine, pektin, kollagen, karragenan og fibrin.

5 Fjernelse af vand fra den dispergerede fase kan ske ved at ligevægten i tofasesystemer forstyrres og en ny ligevægt forsøger at indstille sig ved at vand overføres fra den dispergerede fase til den kontinuerlige fase, hvilket fører til udfældning af en eller flere substanser som indgår i den dispergerede fase og har begrænset opløselighed i vand, når dens eller deres opløselighedsevne
10 overskrides.

En fremgangsmåde til at opnå fjernelse af vand fra den dispergerede fase er sådanne metoder som afdampning, dialyse og ultrafiltrering.

15 Ved afdampning forøges indholdet af osmotisk aktive stoffer i den kontinuerlige fase ("solvent evaporation"). Afdampningen kan udføres ved opvarmning under omrøring. Processen kan om ønsket også udføres ved nedsat tryk.

Når der anvendes dialyse sker der også en berigelse af osmotisk aktive komponenter. Til dette formål anvendes der en membran med permeabilitet for kun vand, hvilket også muliggør nøjagtig kontrol af vandindholdet i den dispergerede fase.
20

Samme resultat opnås ved ultrafiltrering.

25 En anden metode til at opnå fjernelse af vand fra den dispergerede fase består i at man sætter stoffer til den kontinuerlige fase, hvilket resulterer i at vand ved fx osmose transporteres fra den disperse fase.

Fx i det tilfælde hvor polyætylenglykol udgør polymeren i den kontinuerlige fase (ydre fase), tilsættes der i første række yderligere polyætylenglykol dertil, hvorved tilsætningen hensigtsmæssigt sker i form af en vandig opløsning med højere indhold af polyætylenglykol end den opløsning som oprindeligt anvendtes til denne fase. Tilsætningen kan imidlertid også udgøres af en vandig opløsning af NaCl eller andre osmoseforhøjende salte af Mg, Zn, eller andre metaller.
30
35

Når partiklerne er udformet i gelform, kan der tilsættes vandblandbare opløsningsmidler såsom ætanol eller acetone for at trænge mere vand ud fra gelpartiklerne.

Ved fremstilling af tofasesystemet er det også muligt at gå således frem at de to polymerer, der skal indgå i hver sin fase, opløses hver for sig i vand, hvorved koncentrationen af polymerene i de respektive opløsninger vælges på en sådan måde at en sammenføring af opløsningerne under omrøring til dannelselse af en emulsion fører til overgang af vand fra den indre fase (den disperse fase) til den ydre fase.

Ved denne udførelsesform anvendes der fortrinsvis polyætylenglykol som polymer i den kontinuerlige fase, hvorved middel-molekylvægten ($\bar{M}_w$) for polyætylenglykolen som regel vælges inden for området 100-2.000.000 Dalton.

Valget af koncentrationen af polymererne i de to faser styres dels af ønsket om at der skal dannes et to-faset væskesystem, dels af ønsket om en høj koncentration af polymer i den disperse fase for at den mængde vand, der skal fjernes for at tilvejebringe udfældning af polymerpartiklerne, skal blive lille. En hensigtsmæssig koncentration i det enkelte tilfælde fastsættes lettest ved simple forsøg ved hvilke man opløser de to polymerer i vand.

Det er herved fordelagtigt at fastlægge en hensigtsmæssig (høj) koncentration for den polymer som skal danne den indre fase, og variere koncentrationen af den anden polymer for at opnå dannelselse af et tofasesystem.

Generelt gælder det ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen at koncentrationen af polymeren i den kontinuerlige fase vælges tilstrækkelig høj til at der opnås et klart udformet tofasesystem og at der ikke opnås nogen fordel ved at øge indholdet derudover.

Ifølge en anden udførelsesform for fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvender som opløst stof i den disperse fase metylcellulose eller et flere proteiner, og fremkalder omdannelse af dråberne til fast form ved opvarmning.

Denne udførelsesform er baseret på det forhold at visse polymerer faseadskiller sig over thetatemperaturen. Ved denne udførelsesform dehydratiseres polymeropløsningen ved faseadskillelse, og den disperse fase udfældes som faste partikler.

Ved anvendelse af metylcellulose som polymer i den disperse fase kan der som polymer i den kontinuerlige fase fx anvendes polyvinylpyrrolidon, polyvinylalkohol, hydroxypropyl-dextran eller dextran.

Polymerne opløses hensigtsmæssigt hver for sig, og opløsningerne sammenblandes derefter under omrøring på kendt måde så at der dannes en dispersion. Derefter hæves temperaturen gradvis indtil der er dannet partikler eller til en temperatur i nærheden af kogepunktet, fx til 95°C. De dannede perler centrifugeres eller frafiltreres, hvilket bør ske i et varmt miljø for at forhindre genopløsning af metylcellulosen, og derefter tørres de.

Hensigtsmæssige koncentrationer af polymererne i de to faser kan fastlægges ved simple forsøg på samme måde som er beskrevet ovenfor i forbindelse med den udførelsesform, hvor den disperse fase bringes til at overgå i fast form ved fjernelse af vand fra denne fase.

Når der anvendes et eller flere proteiner som polymer i den disperse fase forudsættes opvarmningen at finde sted på en sådan måde at proteinerne denatureres og derved overgår til fast form. Denne fremgangsmåde bør selvsagt ikke anvendes i de tilfælde hvor man ønsker at bevare proteinet i udenatureret form.

Som polymer i den kontinuerlige fase anvendes der i første række polyætylenglykol, men der kan også komme andre polymerer såsom dextran eller polyvinylalkohol på tale. Middel-molekylvægt ($\bar{M}_w$) for polyætylenglykolen vælges som regel inden for det foran nævnte område på 100-2.000.000 Dalton.

For at lette dannelse af et tofasesystem kan det være nødvendigt at anvende proteinet sammen med en anden polymer som fx dextran med en middelmolekylvægt på 40.000-2.000.000 Dalton. En anden anvendelig polymer i denne sam-

menhæng er metylcellulose.

Dannelse og isolering af partiklerne udføres analogt med hvad der er beskrevet foran i forbindelse med metylcellulose.

5 Ifølge en tredje udførelsesform for fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvender man som opløst stof en polymer hvis opløselighed i vand er stærkt temperaturafhængig, og man bevirker omdannelsen af dråberne til fast form ved afkøling.

10 Eksempler på egnede polymerer i den disperse fase i denne sammenhæng er stivelse, agar, gelatin, pektin og karragenan. Stivelse kan være af forskellige typer og også stivelsesderivater kan anvendes under forudsætning af at de danne geler i vand.

15 Polymeren opløses i vand ved høj temperatur, fortrinsvis ved så høj temperatur som muligt for vedkommende polymer og til en koncentration så nær ved polymerens opløselighedsgrænse som muligt.

20 Generelt gælder det at man som polymer i den kontinuerlige fase kan anvende en hvilken som helst polymer som danner et tofasesystem med polymeren for den indre fase under forudsætning af at den ikke opfører sig på samme måde som sidstnævnte polymer ved temperaturændringer. Når polymeren i den disperse fase er stivelse, kan der som polymer i den kontinuerlige fase i første række komme poly-
25 ætylenglykol med en middelmolekylvægt som foran nævnt på tale.

Polymeren for den kontinuerlige fase opløses for sig, og man giver opløsningen en sådan temperatur at der ikke
30 sker en for hurtigt afkøling af den opløsning som skal danne den disperse fase ved dennes tilsætning under omrøring til førstnævnte opløsning til dannelse af et tofasesystem i form af en dispersion. Afkøling må derfor ske ved afsva-
ling hvorved polymeren i den disperse fase efterhånden ud-
35 fældes. Når blandingen har nået stuetemperatur isoleres partiklerne fx ved filtrering. Eventuelt kan der sættes et dehydratiseringsmiddel såsom ætanol eller acetone til den under afkøling værende blanding før filtreringen. I henhold

til en fjerde udførelsesform på fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvender man som opløst stof en polymer indeholdende hydroxylgrupper og/eller aminogru-
pper eller grupper indeholdende strukturen $\text{CH}_2=\text{CH}-$ og tilvejebringer omdannelsen af dråber til fast form ved en tværbindingsreaktion.

De hydroxylgruppeholdige polymerer som i første række kommer på tale i denne sammenhæng er polysakkarider. Disse forbindelser kan tværbindes ved hjælp af biofunktionelle tværbindingsmidler såsom et bifunktionelt glycerol-
derivat af typen diklorhydrin eller dibromhydrin, eller tilsvarende ved fraspaltning af halogenbrinte opnåelige epoxidforbindelser, dvs. epiklorhydrin eller epibromhydrin, eller et diepoxid som fx 1,2-3,4-diepoxibutan.

Fx kan der, i tilfælde af at polymeren i den disperse fase udgøres af dextransulfat, anvendes en vandig opløsning af et salt som danner et tofasesystem med dextransulfat til den ydre fase. Tværbindingen kan tilvejebringes ved tilførsel af epiklorhydrin opløst i ætanol.

Eksempler på polymere stoffer indeholdende amino-
grupper der kan anvendes ved denne udførelsesform, er polypeptider herunder proteiner. Disse stoffer kan tværbindes ved i og for sig kendte fremgangsmåder, fx med glutaraldehyd eller formaldehyd som tværbindingsmiddel.

Som polymer i den kontinuerlige fase anvendtes der i dette tilfælde fortrinsvis polyætylenglykol.

Polymeren til den kontinuerlige fase og polypeptidet opløses hver for sig i vand, fortrinsvis ved stuetemperatur. Derefter sammenføres opløsningerne under omrøring til dannelse af et tofasesystem hvor opløsningen indeholdende polypeptidet danner en dispers fase. Når tofasesystemet er udviklet tilsættes der en vandig opløsning af tværbindingsmidlet under fortsat omrøring. Man lader som regel tværbindingsreaktionen finde sted ved stuetemperatur. Det er også muligt at arbejde ved noget forhøjet temperatur, men ved tilstedeværelse af et biologisk aktivt stof, hvis aktivitet man ønsker bibeholdt, skal man selvfølgelig ikke arbejde ved en så høj temperatur at denne aktivitet ødelægges.

Det dannede faste produkt isoleres ved konventionelle metoder såsom filtrering og tørres.

Eksempler på polymerer med grupper indeholdende strukturen $\text{CH}_2=\text{CH}-$ til anvendelse ved denne udførelse
5 for opfindelsen er akrylsubstituerede polysakkarider som fx akryldextran og akrylstivelse.

Som polymer i den kontinuerlige fase anvendes der i denne sammenhæng fortrinsvis polyætylenglykol (molekylvægt som ved de tidligere nævnte udførelsesformer
10 ved hvilke denne polymer kommer til anvendelse), men også andre polymerer er tænkelige til denne anvendelse, fx metylcellulose når der bruges akryldextran i den disperse fase.

Polymererne opløses hver for sig i vand og opløsningen for den disperse fase sættes til den anden opløsning under omrøring, hensigtsmæssigt ved stuetemperatur, til dannelsen af en dispersion. Når tofasesystemet er etableret tilsættes der en vandig opløsning af en katalysator for tværbindingsreaktionen, fx ammoniumperoxosulfat og
20 N,N,N',N'-tetrametylætylendiamin. Efter afsluttet reaktion isoleres de dannede partikler på konventionel måde, fx ved centrifugering eller filtrering.

I henhold til en femte udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvender man som opløst stof en polymer hvis opløselighed er stærkt pH-afhængig, og iværksætter omdannelsen af dråberne til fast form ved en ændring af pH-værdien for den disperse fase.
25

Eksempler på polymerer hvis vandopløselighed er pH-afhængig og som derfor kan komme til anvendelse ved denne udførelsesform er alginsyre, karboxymethylcellulose, celluloseacetatftalat, pektin og stivelse.
30

Som polymer i den kontinuerlige fase kommer ved denne udførelsesform i første række polyætylenglykol (molekylvægt som nævnt foran) med NaCl tilsat på tale. Også andre polymerer er tænkelige i denne sammenhæng. Fx for det tilfælde at polymeren i den disperse fase udgøres af karboxymethylcellulose, kan der til den kontinuerlige fase anvendes polypropylenglykol, metoxypolyætylenglykol, polyvinyl-
35

alkohol, polyvinylpyrroliden, metylcellulose, ætylhydroxy-ætylcellulose eller hydroxypropyldextran, hvorved der i samtlige disse tilfælde tilsættes NaCl.

5 Ved tilberedning af opløsningen af polymeren for den disperse fase kan tilsætning af alkali, fortrinsvis NaOH, blive nødvendig for at tilvejebringe en pH-værdi ved hvilken polymeren er opløselig.

10 Opløsningen af polymeren til den disperse fase gøres så koncentreret som muligt. Den øvre grænse for koncentrationen kan her foruden af polymerens opløselighed bestemmes af opløsningens viskositet.

De vandige opløsninger til brug for de to faser tilberedes hensigtsmæssigt hver for sig, hvorpå de føres sammen; fortrinsvis sættes opløsningen for den disperse fase til den anden opløsning under omrøring til dannelse af en dispersion.

20 Efter at tofasesystemet er dannet tilsættes der dråbevis en fortyndet syre, fortrinsvis en uorganisk syre såsom saltsyre, under fortsat omrøring indtil den disperse fase er overgået i fast form. Samtlige operationer udføres hensigtsmæssigt ved stuetemperatur.

De dannede partikler isoleres på konventionel måde, fx ved centrifugering eller filtrering.

25 I henhold til en sjette udførelsesform for fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvendes som opløst stof en polymer som danner et tungtopløselig salt med en eller anden, fortrinsvis ikke-toxisk modion, og bevirker omdannelsen af dråberne til fast form ved tilførsel af en sådan modion.

30 Eksempler på polymerer som kan komme til anvendelse ved denne udførelsesform fra fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ladede polymerer såsom natriumalginat, der kan danne tungtopløselige salte med en eller flere af ionerne Ca^{2+} , K^{+} , m. fl. Eksempler på andre polymerer er pektin og karragenan, der danner en gel med en eller flere af ionerne K^{+} , Ca^{2+} , Cs^{+} og Rb^{+} .

Som polymer i den kontinuerlige fase kommer i første række polyætylenglykol med middel-molekylvægt som foran nævnt på tale.

De vandige opløsninger for de to faser tilberedes
5 hensigtsmæssigt hver for sig hvorpå de sammenføres, hvorved opløsningen til den disperse fase fortrinsvis sættes til den anden opløsning under omrøring til dannelse af en dispersion.

Efter at det tofasede system er dannet tilsættes
10 der en vandig opløsning af et vandopløseligt salt indeholdende den ion som danner et tungtopløseligt salt med polymeren i den disperse fase. Når den pågældende ion er en metalion anvendes der som salt sædvanligvis et klorid såfremt det er vandopløseligt.

15 De dannede partikler isoleredes på konventionel måde, fx ved centrifugering eller filtrering.

Alle operationerne udføres med fordel ved stuetemperatur.

Ifølge en syvende udførelsesform for fremgangsmåden
20 ifølge opfindelsen anvender man som opløst stof mindst ét stof der udgør en komponent i et system af mindst to stoffer som reagerer med hinanden til dannelse af et i vandigt medium uopløseligt konjugat eller kompleks, og man bevirker omdannelse af dråberne til fast form ved hjælp af de
25 andre i det nævnte system indegående komponenter.

Systemer som kan komme på tale i denne sammenhæng er fx antigen-antistoffer, heparin-protaminer, proteiner-negativt ladede hydrokolloider. Ved lave indhold foretrækkes det at tilsætte en hjælpepolymer såsom dextran for at
30 lette dannelsen af tofasesystemet.

Som polymer i den sammenhængende fase kommer i første række polyætylenglykol (med middel-molekylvægt som foran) på tale.

En opløsning af en af komponenterne i det ovennævnte
35 system og en opløsning af polymeren til den kontinuerlige fase tilberedes hver for sig, hvorefter de to opløsninger føres sammen, fortrinsvis således at opløsningen til den disperse fase sættes til den anden opløsning under omrøring

til dannelse af dispersion.

Efter at dispersionen er dannet tilsættes der en vandig opløsning af systemets øvrige komponenter.

De dannede partikler isoleres på konventionel måde, fx ved centrifugering eller filtrering.

Alle disse operationer udføres med fordel ved stuetemperatur.

I henhold til en ottende udførelsesform for fremgangsmåden ifølge opfindelsen bevirker man omdannelse af dråberne til fast form ved fraspaltning af hydrofile substituent-
10 ter og/eller indføring af hydrofobe substituent i det opløste stof.

Strukturændringen i polymeren i den disperse fase kan ske ved kemiske eller enzymatiske metoder.

15 I princippet gennemføres denne udførelsesform på en sådan måde at polymererne til de to faser opløses hver for sig i vand, hvorpå de to opløsninger sammenføres under omrøring til dannelse af en dispersion. Når dispersionen er dannet tilsættes der en vandig opløsning af det kemiske
20 reagens eller det system, der bevirker strukturændringen af polymeren i den disperse fase til dannelse af et vand-uopløseligt stof. Det dannede partikelformige faste stof isoleres på konventionel måde, fx ved centrifugering eller filtrering.

25 Ved alle de foran nævnte udførelsesformer kan partikelstørrelse kontrolleres på i og for sig kendt måde, fx ved forskellig omrøringsintensitet eller ved at man vælger egnede viskositeter for de forskellige faser. Ved systemet polyætylenglykol-stivelse er det også muligt at regulere
30 partikelstørrelse ved valgt af molekylvægten af polyætylenglykolen, hvorved en højere molekylvægt af polyætylenglykolen bevirker større partikler.

De i henhold til opfindelsen fremstillede partikler er i hovedsagen amofe (de indeholder i almindelighed
35 mere end 80% amorft materiale).

Ifølge et yderligere træk ved opfindelsen kan et eller flere ved dråbernes omdannelse til fast form inerte, fortrinsvis makromolekylære stoffer indgå som opløste stof-

fer i den disperse fase og indesluttet eller indspærres i partiklerne ved disses dannelse.

Desuden kan også hele (levende) celler, celleorganeller, faste partikler eller små oliedråber indkapsles ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

Ved denne indeslutning af stoffer i form af en partikel eller emulsionsdråbe forsynes partiklen eller emulsionsdråben med et hylle af den polymer som ifølge opfindelsen ønskes overført i fast form (til en partikel).
 10 Det stof som skal indesluttet i partiklen dispergeres så enten i fast form eller som oliedråber i en opløsning af nævnte polymer. Ved hjælp af en eller anden af de foran beskrevne udførelsesformer for fremgangsmåden ifølge opfindelsen dannes der derefter partikler med indkapslet komponent i fast form eller olieform.

Endvidere kan inkorporering af lavmolekylære stoffer i partikler bevirkes på den måde af den komponent, der skal inkorporeres, bindes kemisk ved kovalent binding eller ionisk binding til den partikeldannende polymer. Det er også muligt at binde mindre molekyler til en vandopløselig ionbytter, hvorefter ionbytteren indesluttet fysisk i partiklerne.

Lavmolekylære stoffer som kan inkorporeres på denne måde kan fx være lægemidler, vacciner eller insekticider.
 25 Ved indkapsling af varmfølsomme substanser bør man naturligvis undgå opvarmning til skadegørende temperatur.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen skal i det følgende belyses nærmere ved hjælp af nogle udførelsesseksempler.

30 Eksempel 1

Fremstilling af kugleformede partikler af stivelse

2 g kartoffelstivelse opløstes i 45 ml vand ved 90°C til dannelse af en første opløsning, der tempereredes til stuetemperatur. Der dannedes en anden opløsning ved opløsning af 5 g polyætylenglykol ($\bar{M}_w = 6000$). Stivelsesopløsningen sættes derefter til polyætylenglykolopløsningen ved stuetemperatur under omrøring til dannelse af en emul-

sion. Da tofasesystemet var dannet forhøjedes osmolariteten i den ydre fase ved tilsætning af en opløsning af 10 g polyætylenglykol i 40 ml vand.

10 minutter efter at tilsætningen af polyætylenglykolopløsningen var afsluttet frafiltreredes de dannede stivelsespartikler, der derefter opslæmmedes i 100 ml acetone. Opslæmningen filtreredes og stivelsespartiklerne lagdes ud på et underlag til lufttørring. Udbytte 90%.

10 Eksempel 2

Fremstilling af kugleformede partikler af metylcellulose

Der tilberedtes en første opløsning af 3 g metylcellulose (MC 4000 fra Dow Chemical Co., USA) og 47 ml vand, og en anden opløsning af 3 g dextran ($\bar{M}_w = 70.000$) i 47 ml vand ved stuetemperatur. Metylcelluloseopløsningen sættes til dextranopløsningen under omrøring til dannelse af en emulsion. Da tofasesystemet (med metylcelluloseopløsningen som indre fase) var dannet forøgedes temperaturen gradvis i løbet af en periode på 30 minutter til 60°C. Da denne temperatur var nået var den indre fase omdannet til partikelform. Der tilsattes 100 ml vand opvarmet til 60°C, hvorefter partiklerne frafiltreredes og tørredes i et tørreskab ved 60°C. Udbytte 85%.

25 Eksempel 3

Fremstilling af kugleformede partikler af albumin

Der tilberedtes en første opløsning af 1 g okseserumalbumin og 5 ml vand og en anden opløsning af 9 g polyætylenglykol ($\bar{M}_w = 6000$) og 20 ml vand ved stuetemperatur.

Analogt med eksempel 2 førtes de to opløsninger sammen og der dannedes partikler ved opvarmning, hvorpå partiklerne isoleredes og tørredes.

35 Det er også muligt at fremstille partikler uden opvarmning såfremt den dispergerede fase dehydratiseres med et vandblandbart opløsningsmiddel som fx ætanol eller acetone.

Eksempel 4

Fremstilling af kugledeformede partikler af stivelse

5 g kartoffelstivelse opløstes i 95 ml vand ved ca. 90°C. Der tilberedtes en anden opløsning af 3 g polyætylen-
glykol ($\bar{M}_w = 6000$) og 47 ml vand. Denne opløsning opvarme-
des til ca. 70°C hvorpå den varme stivelsesopløsning til-
sattes under omrøring til dannelse af en emulsion. Da to-
fasesystemet (med stivelsesopløsningen som indre fase) var
dannet, lod man blandingen afkøle til stuetemperatur under
fortsat omrøring, hvorved den indre fase omdannedes til gel-
partikler. Disse frafiltreredes ved stuetemperatur og opslæm-
medes i 100 ml ætanol, hvorpå de frafiltreredes på ny og
blev lagt ud på et underlag til lufttørring. Udbytte 90%.

Eksempel 5

Fremstilling af kugleformede partikler af karragenan

Der tilberedtes en første opløsning af 2 g karrage-
nan og 48 ml vand ved ca. 65°C og en anden opløsning af 5
g polyætylenglykol ($\bar{M}_w = 6000$) og 45 ml vand. Polyætylen-
glykolopløsningen opvarmedes til ca. 60°C hvorpå den varme
karragenanopløsning tilsattes under omrøring til dannelse
af en emulsion. Da tofasesystemet (med karragenanopløsning-
en som indre fase) var dannet lod man blandingen afkøle
til stuetemperaur under fortsat omrøring, hvorved den indre
fase omdannedes til partikelform. Partiklerne isoleredes
på tilsvarende måde som stivelsespartiklerne i eksempel 4.
Udbytte 95%.

Eksempel 6

Fremstilling af kugleformede partikler af tværbundet dextran

Der fremstilledes en første opløsning af 5 g akryl-
dextran ($\bar{M}_w = 40.000$) og 45 ml vand (akryldextran er dex-
trankæder som er derivatiseret med akrylgrupper som senere
kan reagere under tværbindinger, hvorved der vindes en u-
opløselig gel; til fremstilling af akryldextran, se P. Edman
et al., J. Pharm. Sci. 69, nr. 7, 1980). Der fremstilledes

en anden opløsning af 7 g polyætylenglykol ($\bar{M}_w = 6000$) og 45 ml vand. Akryldextranopløsningen sættes til polyætylenglykolopløsningen ved stuetemperatur under omrøring til dannelse af en dispersion. Da tofasesystemet (med akryldextranopløsningen som indre fase) var dannet tilsættes der et par dråber af en vandig opløsning bestående af 500 mg ammoniumperoxodisulfat pr. ml vand. Derefter tilsættes der nogle dråber N,N,N',N'-tetrametylætylendiamin. Dette katalysatorsystem igangsatte tværbindingreaktionen, som man lod foregå i 15 minutter. Efter afsluttet reaktion frafiltreredes partiklerne. Udbytte 95%.

Eksempel 7

Fremstilling af kugleformede partikler af alginsyre

Der fremstilledes en første opløsning ved at man opløste 2 g natriumalginat i 45 ml vand og en anden opløsning ved at man opløste 2 g natriumklorid og 5 g polyætylenglykol ($\bar{M}_w = 6000$) i 43 ml vand. Alginatopløsningen sættes til polyætylenglykolopløsningen ved stuetemperatur under omrøring til dannelse af en emulsion. Da tofasesystemet (med alginatopløsningen som indre fase) var dannet tilsættes der dråbevis 5 ml 1N HCl, hvorved den indre fase overgik til partikelform. De på denne måde vundne partikler af alginsyre isoleredes ved filtrering. Tørring skete på tilsvarende måde som i eksempel 4 ved opslæmning i ætanol, filtrering og lufttørring. Udbytte 85%.

Eksempel 8

Fremstilling af kugleformede partikler af kalciumalginat

Der fremstilledes en første opløsning ved at man opløste 2 g natriumalginat i 48 ml vand, og en anden opløsning ved at man opløste 2 g natriumklorid og 5 g polyætylenglykol ($\bar{M}_w = 6000$) i 43 ml vand. Alginatopløsningen sættes til polyætylenglykolopløsningen ved stuetemperatur under omrøring til dannelse af en emulsion. Da tofasesystemet (med alginatopløsningen som indre fase) var dannet til-

sattes der dråbevis 5 ml 1M CaCl_2 , hvorved den indre fase omdannedes til partikelform. De på denne måde vundne partikler af kalciumalginat isoleredes ved filtrering. Partiklerne tørredes i et tørreskab ved 35°C . Udbytte 85%.

5 Eksempel 9

Fremstilling af kugleformede af pektingel

Der fremstilledes en første opløsning ved at man opløste 2,5 g pektin lavforestret med metoxygrupper i 47,5
10 ml vand og en anden opløsning ved at man opløste 5,0 g polyætylenglykol ($\bar{M}_w = 6000$) og 2 g natriumklorid i 43,0 ml vand. Pektinopløsningen sattes til polyætylenglykolopløsningen ved stuetemperatur under omrøring til dannelsen af en emulsion. Da tofasesystemet (med pektinopløsningen som indre
15 fase) var dannet tilsattes der dråbevis 5 ml 1M CaCl_2 , hvorved den indre fase omdannedes til partikelform. De derved vundne partikler af pektingel isoleredes ved filtrering og tørredes i et tørreskab ved 35°C . Udbytte 85%.

20 Eksempel 10

Fremstilling af kugleformede partikler af fibrin

Der fremstilledes en første opløsning ved at man opløste 0,2 g fibrinogen i 20 ml fysiologisk kogesaltsopløsning og en anden opløsning ved at man opløstes 1 g polyætylenglykol ($\bar{M}_w = 6000$) i 20 ml vand. Fibrinogenopløsningen sattes til polyætylenglykolopløsningen under omrøring til dannelsen af dispersion. Da tofasesystemet (med fibrinogenopløsningen som den indre fase) var dannet tilsattes
25 der et par dråber af en vandig opløsning af trombin, hvorved den indre fase omdannedes til gel af fibrin. De på denne måde vundne partikler dehydratiseredes ved ætanol og isoleredes ved filtrering eller centrifugering.

P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåde til fremstilling af små, kugleformede polymerpartikler ud fra et system omfattende to væskefaser, hvorved den ene fase indeholdende et eller flere opløste stoffer dispergeres i form af små dråber i den anden fase til dannelse af en emulsion, hvorpå dråberne bringes til at gå over til fast form og danne polymere partikler, k e n d e t e g n e t ved at man som væskefaser anvender to med hinanden ikke blandbare vandholdige faser.
- 10 2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at man som opløst stof i nævnte ene fase anvender et sådant med begrænset opløselighed i vand og bringer dråberne til at overgå til fast form ved fjernelse af vand fra dem.
- 15 3. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at man som opløst substans i nævnte ene fase anvender metylcellulose eller et eller flere proteiner og bevirker omdannelse af dråber til fast form ved opvarmning.
4. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at man som opløst stof anvender en polymer hvis opløselighed i vand er stærkt temperaturafhængig og bevirker omdannelse af dråberne til fast form ved afkøling.
- 20 5. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at man som opløst stof anvender en polymer indeholdende hydroxylgrupper og/eller aminogruupper eller grupper indeholdende strukturen $\text{CH}_2=\text{CH}-$ og bevirker omdannelse af dråberne til fast form ved en tværbindingsreaktion.
- 25 6. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at man som opløst stof anvender en polymer hvis opløselighed er stærkt pH-afhængig og bevirker omdannelse af dråberne til fast form ved en ændring af pH-værdi for den disperse fase.
- 30 7. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at man som opløst stof anvender en polymer som danner et tungtopløseligt salt med en, fortrinsvis ikke-toxisk modion og bevirker omdannelse af dråberne til fast form ved tilførsel af en sådan modion.
- 35

8. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at man som opløst stof anvender mindst ét stof som udgør en komponent i et system af mindst to stoffer som reagerer med hinanden til dannelse af et i vandholdigt medium
- 5 uopløseligt konjugat eller kompleks, hvorpå man bevirker omdannelse af dråberne til fast form ved hjælp af andre i nævnte system indgående komponenter.
9. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at man bevirker omdannelse af dråberne til fast form
- 10 ved fraspaltning af hydrofile substituenten og/eller indføring af hydrofobe substituenten i det opløste stof.
10. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af de foregående krav, k e n d e t e g n e t ved at et eller flere ved dråbernes omdannelse til fast form inerte, fortrinsvis
- 15 makromolekylære stoffer indgår som opløste stoffer i den disperse fase og indesluttet eller indespærret i partiklerne ved disses dannelse, eller at hele celler, celleorganer eller faste partikler eller små oliedråber er dispergerede i den disperse fase og indkapslet i partiklerne ved disses
- 20 dannelse.

25

30

35