



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

252559

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.⁴

A 61 K 9/10
C 08 G 69/10

(22) Přihlášeno 22 03 85
(21) PV 2062-85

(40) Zveřejněno 12 02 87

(45) Vydáno 15 03 88

(75)

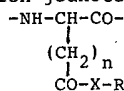
Autor vynálezu

RYPÁČEK FRANTIŠEK RNDr. CSc., DROBNÍK JAROSLAV doc. RNDr. CSc.,
SAUDEK VLADIMÍR RNDr. CSc., PRAHA

(54) Polymerní stabilizátor emulze typu voda v oleji

Řešení se týká polymerního stabilizátoru emulzí vodní fáze ve fázi s vodou nemísitelné kapaliny, zejména při přípravě mikročástic.

Předmětem řešení je polymerní stabilizátor emulze typu vody v oleji vyznačený tím, že sestává z derivátů poly(alfa-aminokyselin) na bázi monomerních jednotek obecného vzorce



kde $n = 1$ až 2 , X představuje kyslík nebo skupinu -NH- a R je vodík, alkyl, hydroxyalkyl, kde alkyl může být lineární, cyklický nebo rozvětvený alifatický řetězec s 1 až 18 atomy uhlíku, nebo arylalkyl, přičemž kopolymer může v řetězci obsahovat monomerní jednotky různých typů.

Vynález se týká polymerního stabilizátoru emulzí vodní fáze ve fázi s vodou nemísitelné kapaliny, zejména při přípravě mikročástic.

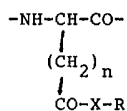
Suspenze malých sférických částic představují velmi perspektivní formu aplikace léčivých látek ve farmakologii nebo nacházejí své uplatnění v diagnostice. Tato forma v sobě spojuje výhody pevných implantačních forem pro kontrolované dávkování léčivých látek s výhodami roztokové formy - tj. snadný způsob dávkování, aplikace injekčně, možnost ovlivnění distribuce v organismu, kontrolované šíření krevním oběhem a podobně.

Sférické mikročástice na bázi hydrofilních nebo vodorozpustných polymerů jsou připravovány obvykle v disperzním systému v podmínkách, kdy vodný roztok příslušného polymeru nebo monomeru je dispergován v kontinuální fázi ve formě emulze typu voda v oleji a v průběhu přípravy dojde vhodným způsobem například působením bifunkčního síťovadla k solidifikaci dispergované vodné fáze ve formě sférických částic.

Obtížným bodem v této přípravě je stabilizace disperze zvláště ve stadiu před gelací, kdy viskozita částic prudce vzrůstá, částice se stávají lepivé a mají tendenci agregovat. Agregaci částic se brání jednak intenzivním mícháním disperze, čímž dochází k oddělování částic působením střížných sil, jednak dodáním vhodného stabilizátoru, tj. povrchově aktivní látky, která stabilizuje rozhraní mezi vodnou a organickou fází. Stabilizační účinnost povrchově aktivních látek roste s molekulovou hmotností a nejúčinnějšími stabilizátory jsou polymery obsahující hydrofilní a hydrofobní části molekuly. Příkladem je poly-vinylacetát.

Částice připravované pro lékařské účely, zejména ty určené k parenterálnímu použití v humánní medicíně, musí vyhovovat toxikologickým požadavkům na bezpečnost a biologickou nezávadnost použitých látek a materiálů. Pro případný stabilizátor z těchto požadavků vyplývá, že musí být buďto kompletně odstranitelný z výsledného materiálu, což je tím obtížnější, čím účinnější je stabilizátorem, nebo být látkou netoxickou, inertní eventuálně metabolizovatelnou a vyloučitelnou z organismu. V případě polymerního stabilizátoru je tento požadavek obtížně splnitelný pro polymery, které nejsou biologicky degradovány.

Zjistili jsme nyní, že účinným polymerním stabilizátorem emulze při přípravě mikročástic v suspenzi typu voda v oleji jsou polymery a kopolymery vyznačené tím, že jsou to deriváty poly(alfa-aminokyselin) na bázi monomerních jednotek obecného vzorce



kde $n = 1$ až 2 , X představuje kyslík nebo skupinu -NH- a R je vodík, alkyl, hydroxyalkyl, kde alkyl může být lineární, cyklický nebo rozvětvený alifatický řetězec s 1 až 18 atomy uhlíku, nebo arylalkyl, přičemž kopolymer může v řetězci obsahovat monomerní jednotky různých typů.

Stabilizátor je dále charakterizován tím, že molekulová hmotnost použitých polymerů a kopolymerů může být v rozmezí 10^3 až 10^6 , přičemž stabilizační účinek je vyšší u polymerů s vyšší molekulovou hmotností.

Výhodou stabilizátoru podle vynálezu je to, že hydrofobní část polymerního stabilizátoru je tvořena převážnou částí polymerní molekuly, přičemž její hydrofobicita a tím i afinita ke kontinuální fázi je řízena hydrofobicitou alkylu, například počtem uhlíkových atomů alifatického alkylu. Jako hydrofilní část molekuly polymerního stabilizátoru podle vynálezu mohou být buďto koncové karboxylové skupiny vzniklé hydrolýzou alkylesterových vazeb, nebo alkoholické skupiny zavedené aminolýzou aminoalkoholy, například aminoethanolem.

Zvláště výhodnou vlastností polymerního stabilizátoru podle vynálezu je skutečnost, že

stabilizační účinek může průběhem reakce narůstat zvyšováním polaritu hydrofilní části řetězce, který je ve styku s vodnou fází, v důsledku hydrolýzy dalších alkyl-esterových vazeb a vzniků nových polárních skupin, čímž se účinně brání zvýšené tendenci k agregaci částic vodné fáze, například vlivem nárůstu viskozity.

Zvlášť výhodným důsledkem vysoké účinnosti stabilizace je možnost postupovat podle vynálezu tak, že po počátečním rozmíchání disperze je možné snížit intenzitu míchání, či míchání zcela zastavit a solidifikační reakci dokončit, aniž by došlo k opětovnému spojování částic. Zvláště významnou výhodou polymerů typu poly(gama-alkyl-L-glutamátů) a poly(beta-alkyl-L-aspartátů) použitých jako stabilizátorů emulze je skutečnost, že tyto polymery mohou být v organismu degradovány na netoxické produkty, které jsou buďto metabolizovány, nebo vyloučitelny z organismu.

K degradaci polymeru působením enzymů štěpících peptidické vazby může docházet buďto po hydrofilizaci polymerů například hydrolýzou alkylesterových vazeb po solidifikaci částic, nebo přímo v organismu po odštěpení alkylových skupin působením enzymů esteráz nebo přímou hydrolýzou.

Degradovatelnost stabilizátoru způsobuje, že není na závalu pokud se část stabilizátoru zabuduje do mikročástic tak, že nejsou odstraněny v průběhu přípravy, neboť tyto zbytky jsou v organismu degradovány a nemají toxikologický význam. To činí stabilizátor podle vynálezu zvláště vhodným pro přípravu kompletně biodegradovatelných částic pro parenterální použití v humánní medicíně.

Stabilizátor podle vynálezu je doložen následujícími příklady, aniž je jimi omezen.

P ř í k l a d 1

4 mg poly(gama-benzyl-L-glutamátu) (PBG) ($\bar{M}_w = 110\,000$) bylo rozpuštěno v 8 ml 1,2-dichlorethanu ve válcové reakční nádobě opatřené míchadlem a temperované na 50 °C. Přidáno 2 ml vodného roztoku obsahujícího 0,8 g dextranu T-40 (Pharmacia, Uppsala) a 0,2 g hydroxidu sodného (NaOH). Otáčky míchadla nastaveny na 750 ot/min., čímž byla vodná fáze dispergována na částice o průměru cca 60 μm . Přidáno 0,39 ml (5 mmol) čerstvě destilovaného epichlorhydrinu. Za konstantního míchání probíhala reakce 8 h. Průměrná velikost částic na konci reakce byla $52 \pm 18 \mu\text{m}$. Částice byly odfiltrovány, promyty 5x 50 ml dioxanu a suspendovány v 50 ml 0,5 mol.l⁻¹ hydroxidu sodného (NaOH). Po 6 h stání za občasného protřepání byla suspenze odfiltrována a promyta vodou. Získané gelové částice jsou hydrofilní, kulového tvaru separované bez tendence k agregaci. Výtěžek 0,65 g suché hmotnosti částic.

P ř í k l a d 2

8 mg poly(gama-benzyl-L-glutamátu) (PBG) ($\bar{M}_w = 110\,000$) bylo rozpuštěno v 8 ml 1,2-dichlorethanu. Přidáno bylo 2,6 ml vodného roztoku obsahujícího 1,2 g rozpustného škrobu (Lachema) a 0,2 g hydroxidu sodného (NaOH). Otáčky míchadla nastaveny tak, aby částice byly asi 60 μm v průměru, a mícháno 20 min při teplotě 40 °C. Přidáno 0,31 ml (4 mmol) epichlorhydrinu a mícháno ještě 5 min. Poté míchání zastaveno a reakční směs (disperze) ponechána v klidu při teplotě 40 °C 18 h. Průměrná velikost částic dispergované fáze na počátku reakce byla $62 \pm 22 \mu\text{m}$ na konci reakce byla $56 \pm 28 \mu\text{m}$. Výsledné sférické částice byly promyty 50 ml 1,2-dichlorethanu, 3x 50 ml 1,4-dioxanu a dále zpracovány jako v příkladě 1. Získáno 0,8 g suché hmotnosti částic.

P ř í k l a d 3

4 mg poly(gama-metyl-L-glutamátu) ($\bar{M}_w = 3\,000\,000$) a 0,2 ml dichloroctové kyseliny ponecháno 20 h při teplotě 60 °C. Přidáno 7,65 ml 1,2-dichlorethanu a 0,35 ml reietylaminu a získán roztok při teplotě 60 °C. Teplota snížena na 40 °C a přidáno 2,6 ml vodného roztoku

obsahujícího 1,2 g rozpustného škrobu (Lachema) a 0,2 g hydroxidu sodného (NaOH). Otáčky míchadla nastaveny na 750 ot/min a byla získána disperze o velikosti částic $16 \pm 8 \mu\text{m}$. Přidáno 0,4 ml (5 mmol) epichlorhydrinu a reakční směs ponechána bez míchání při teplotě 40°C 18 h. Získány sférické gelové částice o průměrné velikosti průměru $18 \pm 12 \mu\text{m}$. Částice sedimentovány centrifugací, promyty 3x 50 ml dioxanu, suspendovány v 50 ml $0,3 \text{ mol l}^{-1}$ fosfátového pufru pH 8,0. Po 20 h stání při teplotě místnosti byly částice promyty vodou. Získané částice jsou sférického tvaru, hydrofilní, neagregující ve vodném prostředí. Výtěžek 0,75 g suché hmotnosti částic.

P ř í k l a d 4

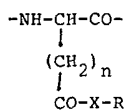
30 mg poly(gama-benzyl-L-glutamátu) (PBG) rozpuštěno v 30 ml 1,2-dichlorethanu. Přidán roztok 1 g lidského sérového albuminu v 5 ml $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ fosfátového pufru pH 7,6 a mícháním vytvořena disperze o střední velikosti částic cca $40 \mu\text{m}$. Reakční nádoba temperována na 4°C a přidáno 0,2 ml glutaraldehydu. Po 2 h reakce při 4°C přidáno 0,2 ml 2-aminoetanolu a ponecháno ještě 1 h při 4°C . Suspenze částic promyta 3x 150 ml dichlorethanu, jedenkrát krátce vychlazeným dichlorethanem s acetonem (1:1) a převedena do vody, promyta vodou s 0,1 % alfa-(4-oktylfenyl)-polyoxiran (Triton X-100) a suspendováno v $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ fosfátovém pufru pH 8,0. Po 20 h stání při 4°C získány neagregující albuminové mikrosféry.

P ř í k l a d 5

4 mg poly(beta-benzyl-L-asparátu) $\bar{M}_w = 60\,000$ byly zpracovány postupem použitým pro PBG v příkladu 1. Získány byly hydrofilní gelové částice kulového tvaru bez tendence k agregaci. Výtěžek byl 0,65 g suché hmotnosti částic.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Polymerní stabilizátor emulze typu voda v oleji vyznačený tím, že sestává z derivátů poly(alfa-aminokyseliny) na bázi monomerních jednotek obecného vzorce



kde $n = 1$ až 2 , X představuje kyslík nebo skupinu -NH- a R je vodík, alkyl, hydroxyalkyl, kde alkyl může být lineární, cyklický nebo rozvětvený alifatický řetězec s 1 až 18 atomy uhlíku, nebo arylalkyl, přičemž kopolymer může v řetězci obsahovat monomerní jednotky různých typů a polymery a kopolymery mají molekulovou hmotnost v rozmezí 10^3 až 10^6 .