



NORGE

(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **310774**

(13) B1

(51) Int Cl⁷ C 08 B 30/12, A 61 K 31/715, 31/718

Patentstyret

(21) Søknadsnr	19971323	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	1995.09.26, PCT/EP95/03806
(22) Inng. dag	1997.03.21	(85) Videreføringssdag	1997.03.21
(24) Løpedag	1995.09.26	(30) Prioritet	1994.09.29, DE, 4434877
(41) Alm. tilgj.	1997.03.21		
(45) Meddelt dato	2001.08.27		

(71) Patenthaver	Fresenius AG, Gluckensteinweg 5, D-61350 Bad Homburg, DE
(72) Oppfinner	Klaus Sommermeyer, Rosbach, DE Michael Görg, Florstadt, DE Klaus Henning, Usingen, DE
(74) Fullmektig	Curo AS, 7231 Lundamo

(54) **Benevnelse** **Framgangsmåte for framstilling av stivelsesnedbrytningsprodukt**

(56) **Anførte publikasjoner** WO A 93/21008, US 5424302

(57) **Sammendrag** **Framgangsmåte for framstilling av stivelsesnedbrytningsprodukt med smal molvektfordeling ved å behandle stivelse eller stivelsesderivat med høytrykkshomogenisering. Det oppnådde stivelsesnedbrytningsprodukt framskaffes med høyt utbytte med en smal molvektfordeling.**

Oppfinnelsen angår en framgangsmåte for framstilling av stivelsesnedbrytnings-produkt med smal molvektfordeling ved spalting av stivelse eller stivelsesderivat.

Bakgrunn

5 Stivelsesnedbrytnings-produkter, særlig hydroksyetylstivelse (HES), spiller en viktig rolle i mange områder innenfor medisin, der den hovedsakelig anvendes som plasma-ekspander, men også ved dialyse (peritonealdialyse). Dessuten tildeles stivelsesbiprodukt dietetisk.

For framstilling av HES har en fram til nå benyttet hydrolytisk nebrutt eller amylase-ned-
10 brutt stivelse. Den enzymatiske framgangsmåten er beskrevet i for eksempel DE patent-skrift 33 13 600.

Med de ovennevnte kjemiske eller biokjemiske framgangsmåtene oppstår produkter med bred molvektfordeling med en betydelig andel av lavmolekylære forbindelser, slik som glukose, maltose eller oligosakkarider, hvorved en som biprodukt akkumulerer for
15 eksempel natriumklorid eller det anvendte enzym. Disse uønskete bestanddelene må deretter fjernes i ytterligere prosesstrinn, for eksempel ved felling med organiske løsningsmidler (acetone, isopropanol), eller ved ultrafiltrering, som representerer fordyrende tillegg og dessuten fører til lavere utbytte. Slike renseoperasjoner er imidlertid nødvendig siden en vanligvis har som mål å oppnå et produkt med mest mulig smal molvektfordeling og høy
20 renhetsgrad.

En slik framgangsmåte er kjent fra DE patentpublikasjon 41 32 701, der stivelse eller stivelsesderivat behandles med ultralyd i en vandig blanding (dispersjoner, suspensjoner eller løsninger). Med dette skal den ønskete midlere molvekt være innstillbar til ønsket verdi med svært smal molvektfordeling avhengig av behandlingstid og ultralyd-intensitet
25 og i praksis i fravær av uønskete lavmolekylære bestanddeler.

Denne framgangsmåten er imidlertid teknisk sett svært krevende og er dessuten beheftet med store energibehov for spalting av stivelsen.

Fra DE patentpublikasjon 33 04 775 er det kjent en framgangsmåte for depolymerisering av polysakkarider, som bare kan anvendes ved løsninger av polysakkarider med spiral-
30 struktur og ikke med løsninger av polysakkarider med enkeltkjedet struktur eller aggreterte former. For øvrig har det vist seg at ultralyd-depolymerisasjon ikke er egnet for kommersiell/industriell depolymerisasjon i større mengder.

Ifølge WO patentpublikasjon 93/21008 blir stivelse underlagt en eller flere voldsomme trykkendringer i et kammer (stempelanordning) for å modifisere de fysikalske egenskapene. Denne framgangsmåten gjør bruk av en pascalisator. Dermed utøves kun et statisk trykk på prøven eller væsken. Med denne framgangsmåten blir det ikke oppnådd noen molvekt-
5 nedbrytning. Denne framgangsmåten er dermed ikke egnet til framstilling av et stivelses-
nedbrytnings-produkt.

Formål

Formålet med oppfinnelsen er å anwise en framgangsmåte som angitt foran, som er
10 teknisk enkel og som dessuten krever et relativt lavt energiforbruk i spaltingen, hvorved
dannelse av uønskete lavmolekylære andeler av stivelse unngås i mest mulig grad og gir
nedbrytnings-produkter med høyest mulig utbytte.

Oppfinnelsen

15 Disse formål oppnås ifølge oppfinnelsen ved at spaltingen utføres ved høytrykks-
homogenisering.

Framgangsmåten ifølge oppfinnelsen har den fordel overfor den kjente ultralyd-teknikk
at den anvendte teknikk ofte benyttes i framstilling av emulsjoner eller dispersjoner og slik
sett allerede står til rådighet i drift, slik at investeringskostnadene er relativt lave. Dessuten
20 er høytrykkshomogenisering mindre energikrevende enn ultralydteknikken.

Med framgangsmåten ifølge oppfinnelsen for homogenisering blir væsken presset
gjennom en presisjonsventil. Det påkrevete trykk (500->2000 bar) og antall gjennomløp
avhenger derved av den søkte molvekt. I denne ventilen rager det en kavitasjonssone med
høyt effektspektrum, der de høymolekylære kjedene ødelegges eller brytes i stykker ved
25 innvirkning av store lokale strekk-, trykk- og skyve-spenninger. I henhold til oppfinnelsen
fører denne behandlingen til en oppdeling av den langkjedete struktur i stivelsen eller
stivelsesderivatet.

Framgangsmåten ifølge oppfinnelsen har den fordel framfor framgangsmåten ifølge DE
patentpublikasjon 33 04 775 at det overraskende nok også finner sted en nedbrytning av
30 forgrenete polysakkarider uten spiralstruktur, som ikke er tilfelle med den kjente teknikk.

Ifølge oppfinnelsen er det mulig å innstille en ønsket midlere molvekt (midlere vekt M_w)
med smal molvektfordeling ned til molvekter på 100 000 Dalton og i fravær av uønskete

lavmolekylære bestanddeler ved å variere trykket, antall behandlinger, temperaturen, konsentrasjonen av stivelse eller stivelsesderivatet samt pH-verdien. Det kan oppnås utbytte på nær 100%.

Med den foreliggende framgangsmåten trenger en dessuten ikke tilsats av syre, som tilfellet er ved syrehydrolytisk nedbrytning, eller ved enzymer i tilfelle med enzymatisk nedbrytning, slik at en minimerer ytterligere rensetrinn, slik som felling med organiske løsningsmidler eller diafiltrering.

Som utgangsmateriale anvendes fortrinnsvis naturlig stivelse, delvis hydrolysert stivelse eller derivater av samme, hvorved stivelse består av amylose-fritt eller amylose-fattig (< 5% amylose) amylopektin. En kan med fordel anvende mais-, ris- og/eller hirsestivelse som stivelseskomponent.

Stivelsesderivat er delvis hydrolysert stivelse eller stivelsesderivat, slik som et hydroksyalkyl- eller alkoksyalkyl-stivelsesderivat, særlig hydroksyetyl-stivelsesderivat. Den delvis hydrolyserte stivelse kan være framskaffet ved syrehydrolyse og/eller ved enzymhydrolyse.

Stivelsen eller stivelsesderivatet kan anvendes i form av vandige dispersjoner, suspensjoner eller løsninger. Med suspensjon menes en dispersjon av uløselige stivelsespartikler som ikke er kolloidal. De foreliggende løsninger inneholder løst stivelse eller stivelsesderivat i vann. På den andre side kan en også anvende kolloidale blandinger av stivelse eller stivelsesderivat i vann. Slike vandige løsninger kan etter forklistring inneholde 5-40 vekt% stivelse eller stivelsesderivat, hvorved sistnevnte skal oppvise en midlere molvekt på minst 200 000 Dalton. På den andre side kan en anvende 5-60 vekt% vandige suspensjoner av stivelse eller stivelsesderivat.

Derved kan stivelse, som på forhånd er spaltet hydrolytisk eller enzymatisk, underlegges høytrykkshomogenisering uten forutgående isolering i vandig disperjon eller løsning.

Høytrykkshomogeniseringen kan utføres på i og for seg kjent måte og med kommersielle apparater egnet til oppgaven.

Homogeniserings-betingelsene er vanligvis avhengig av type utgangsmateriale, type reaksjonsblanding og særlig det søkte resultat, som bestemmes av den søkte midlere molvekt av det endelige stivelsesprodukt.

Homogeniseringen utføres vanligvis ved en temperatur på 5-95°C, fortrinnsvis ved romtemperatur - ca. 20°C.

Homogeniseringen utføres ved trykk i området 500-2000 bar, men det kan også benyttes trykk over grensetrykket på 2000 bar.

Etter flere trykkbehandlinger (gjennomløp) i høytrykkshomogenisatoren vil det vanligvis oppnås et metningsnivå som ikke lenger vil underskrides. Med gjennomgang menes en enkelt gjennompressing av prøvematerialet gjennom spalten. Ved nedbrytning av stivelsespolymeren vil det oppnås lavere midlere molvekt dess høyere trykket er. Fordelen med framgangsmåten ifølge oppfinnelsen er dermed at en på en relativt enkel måte kan foreta innstilling av molvekten ved det ovennevnte antall gjennomløp, sammenliknet med syrehydrolyse som må overvåkes permanent viskosimetrisk.

Ved valg av de ovennevnte betingelsene er det følgelig på en lettvinnt måte mulig å oppnå en ønsket midlere molvekt uten krevende viskositetsovervåking.

Stivelsesnedbrytningsproduktet framskaffet med framgangsmåten ifølge oppfinnelsen kan med fordel anvendes i framstilling av foretret eller forestret stivelse (HES eller acetylstivelse) med høye utbytter. Disse stivelsesnedbrytning-produktene (særlig HES) finner medisinsk anvendelse, særlig innen området volumerstatningsmidler.

Oppfinnelsen angår også anvendelse av stivelsesnedbrytningsprodukt framstilt ifølge framgangsmåten beskrevet foran for farmasøytiske blandinger for kliniske, fortrinnsvis parenterale anvendelser. Dessuten kan stivelsesnedbrytningsproduktet framstilt ifølge foreliggende framgangsmåte også anvendes i farmasøytiske blandinger som finner anvendelse i peritonealdialyse eller ved blodplasmaerstatningsmidler.

Dersom nedbrytningsproduktet skal befries for lavmolekylære bestanddeler som stammer fra tidligere prosesstrinn, kan en naturligvis fjerne disse ved hjelp av den i og for seg kjente diafiltrering ved valg av egnete membraner. Videre kan stivelsesnedbrytningsproduktene, som vanligvis foreligger i løsning, også overføres til tørket tilstand med hjelp av kjente framgangsmåter (konsentrering av løsningen i vakuum eller ved lyofilisering og påfølgende spraytørking).

Figur 1 og 2 viser virkningen av høytrykkshomogeniseringen for framstilling av HES 450 (midlere molvekt = 450 000 Dalton). Figur 1 viser fallet i midlere molvekt som funksjon av antall gjennomløp, mens figur 2 viser molvektfordeling ved utelukkelses-kromatografi ved hjelp av lysspredning over elueringsvolumet (vektmiddel).

Eksempel

Delvis nedbrutt voksmaisstivelse med midlere molvekt på 2 689 000 Dalton ble på i og for seg kjent måte omsatt med etylenoksid til HES. En 15 vekt% løsning av dette HES-produktet i urenset form ble homogenisert ved temperaturer i området 50-70°C med et trykk på omlag 1600 bar totalt 10 ganger i en høytrykkshomogenisator fra APV-Gaulin i Lübeck. Etter 10 gjennomløp ble det funnet en molvekt (vektmiddel M_w) på omlag 670 300 Dalton, som det framgår av figur 1.

Patentkrav.

1. Framgangsmåte for framstilling av stivelsesnedbrytnings-produkt med smal molvektfordeling,

karakterisert ved at i fravær av hydrolyse-akselererende enzymer, blir stivelse eller stivelsesderivater utsatt for høytrykkshomogenisering i vanding dispersjon, suspensjon eller løsning, ved en temperatur mellom 5 - 95 °C, og ved et trykk i området fra 500 til 2000 bar eller mer.

2. Framgangsmåte ifølge krav 1,

karakterisert ved at høytrykkshomogeniseringen utføres i et antall inntil en oppnår den ønskete midlere molvekt M_w .

3. Framgangsmåte ifølge krav 1 eller 2,

karakterisert ved at det som stivelsesderivat anvendes delvis hydrolysert stivelse framskaffet ved syrehydrolyse og/eller enzymhydrolyse, fortrinnsvis med en midlere molvekt på minst 200 000 Dalton.

4. Framgangsmåte ifølge krav 3,

karakterisert ved at det som stivelse anvendes naturlig stivelse, hovedsakelig amylopektin.

5. Framgangsmåte ifølge krav 1 eller 4,

karakterisert ved at det anvendes en vandig dispersjon av naturlig stivelse framstilt ved forklistring, fortrinnsvis i en mengde på 5-60 vekt%.

6. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1 til 3,
karakterisert ved det anvendes en 5-40 vekt% vandig dispersjon av delvis hydrolysert stivelse eller delvis hydrolysert stivelsesderivat.
- 5 7. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1 til 3 og krav 6,
karakterisert ved at reaksjonsblandingen oppnådd etter hydrolyse eller foretning underlegges høytrykkshomogenisering uten forutgående isolering av reaksjonsproduktet.
8. Framgangsmåte ifølge et av kravene 1 til 7,
- 10 **karakterisert** ved at høytrykkshomogeniseringen utføres ved romtemperatur.

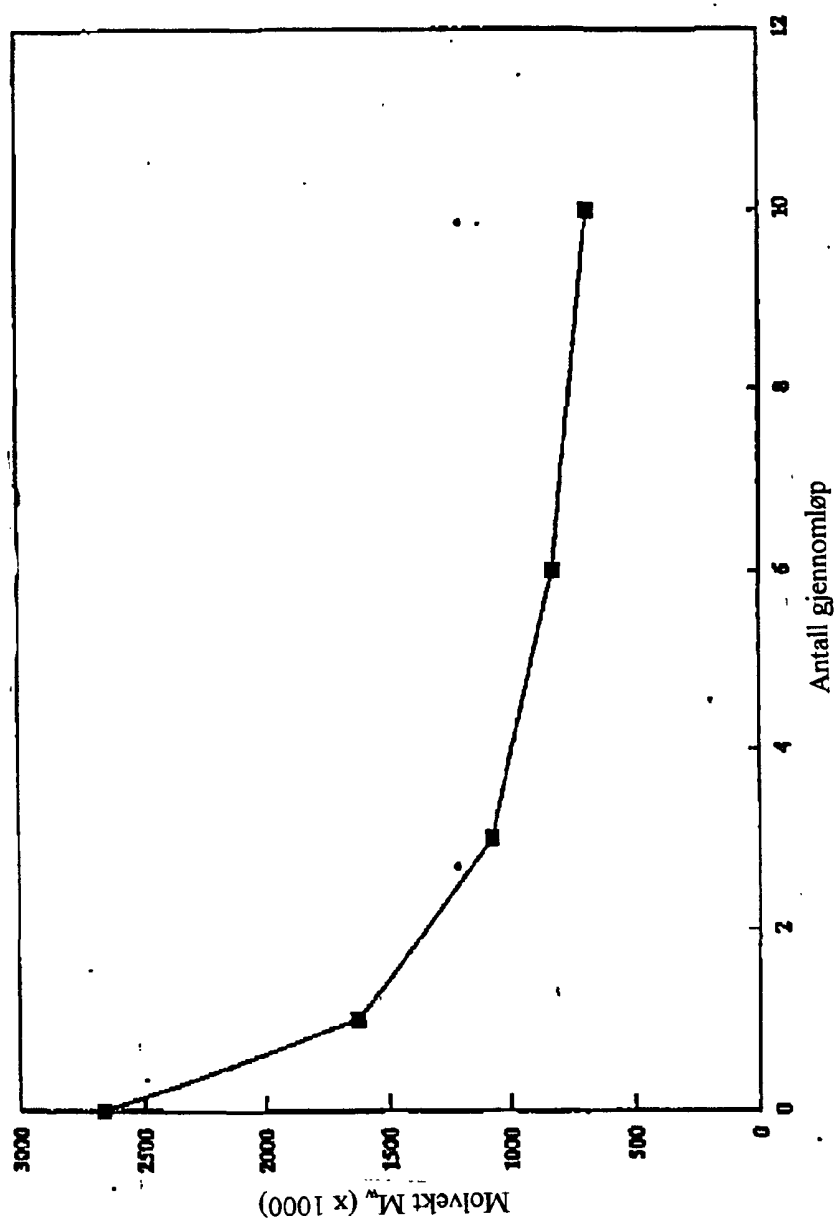


Fig. 1

310774

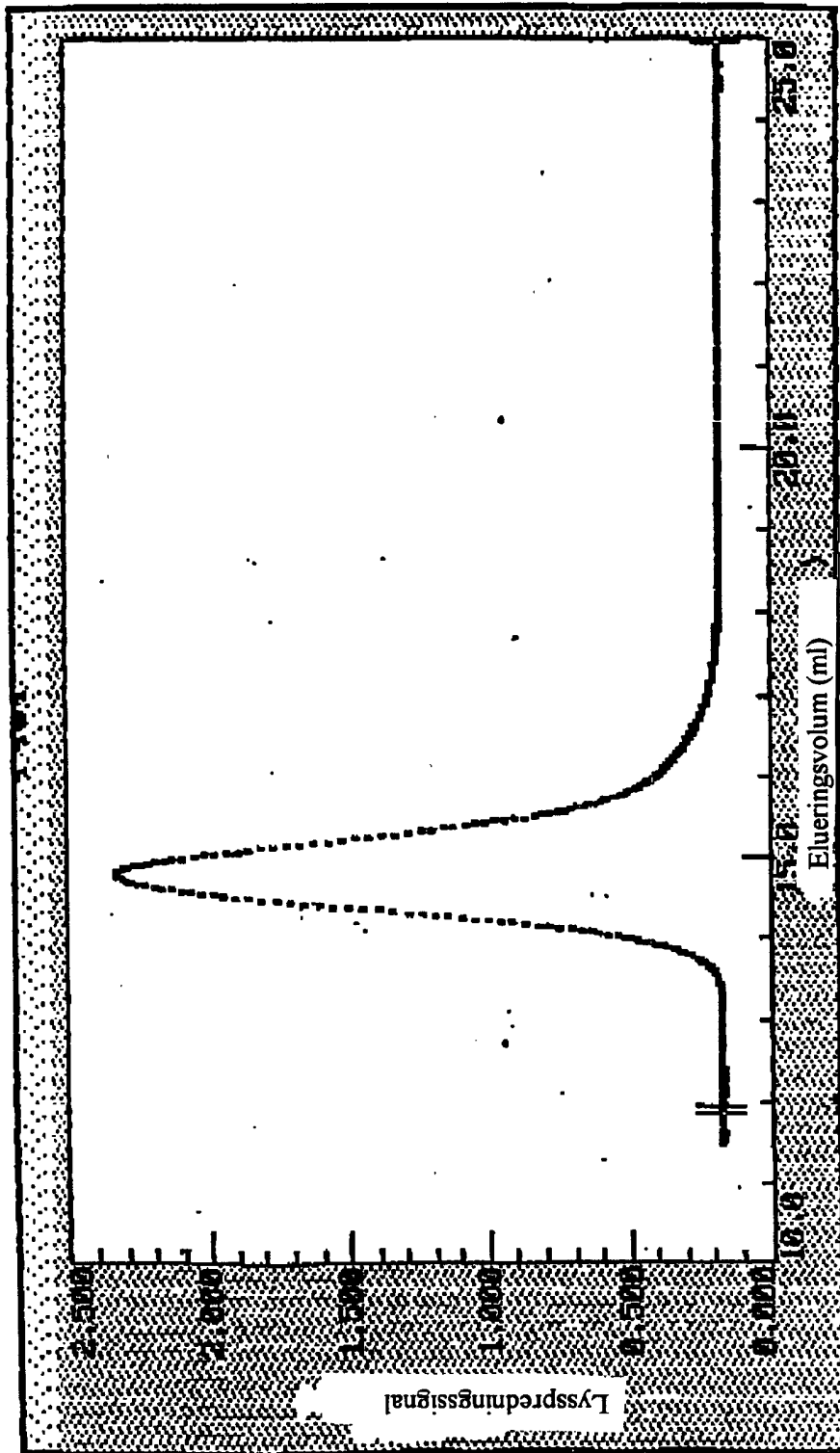


Fig. 2