



NORGE

(19) [NO]

STYRET FOR DET
INDUSTRIELLE RETTSVERN

[B] (12) **UTLEGNINGSSKRIFT** (11) Nr. 165596

(51) Int. Cl.³ C 08 J 3/16

(83)

(21) Patentsøknad nr. **862830**

(22) Inngivelsesdag 11.07.86

(24) Løpedag 11.07.86

(62) Avdelt/utskilt fra søknad nr.

(71)(73) Søker/Patenthaver **BO MAGNUS EKMAN,**
Månstigen 9, S-216 19 Malmö,
ÅKE RIKARD LINDAHL,
Ringduvevägen 50,
S-274 00 Skurup, SE.

(86) Internasjonal søknad nr. -

(86) Internasjonal inngivelsesdag -

(85) Videreforingsdag -

(41) Alment tilgjengelig fra 13.01.87

(44) Utlegningsdag 26.11.90

(72) Oppfinner Søkerne.

(74) Fullmektig Bryns Patentkontor A/S, Oslo.

(30) Prioritet begjært 12.07.85, SE, nr 8503459.

(54) Oppfinnelsens benevnelse **FREMGANGSMÅTE FOR FREMSTILLING AV
SMÅ, SFÆRISKE POLYMERPARTIKLER.**

(57) Sammendrag Fremgangsmåte for fremstilling av små, sfæriske polymerpartikler fra systemer innbefattende to væskefaser, hvorved den ene fasen som inneholder ett eller flere oppløste stoffer, dispergeres i form av små dråper i den andre fasen for dannelsen av en emulsjon, hvoretter dråpene bringes til å gå over til fast form. Ifølge oppfinnelsen anvender man som væskefaser to vannholdige faser som ikke er blandbare med hverandre.

(56) Anførte publikasjoner USA (US) patent nr. 3897414, 4123403, 4389330.

Foreliggende oppfinnelse vedrører en fremgangsmåte for fremstilling av små, sfæriske polymerpartikler fra et system som innbefatter to væskefaser, hvorved den ene fasen som inneholder et eller flere oppløste stoffer dispergeres i form av små dråper i den andre fasen slik at det dannes en emulsjon, hvoretter dråpene bringes til å gå over til fast form og danne partikler.

Et stort antall fremgangsmåter av den ovenfor angitte typen er kjente. De kjente fremgangsmåtene adskiller seg fra hverandre hovedsakelig ved tillemningen av de forskjellige prinsippene for å overføre dråpene til fast (uoppløselig) form.

Eksempelvis beskriver DE-B 1 443 359 en fremgangsmåte hvorved stoffet som er oppløst i den ene fasen utgjøres av et polysakkarid og overføringen av dråpene til fast form (gelform) finner sted ved tilsats av et tverrbindingsmiddel, hvorved det dannes et tverrbundet polysakkarid som utfelles.

Ved en annen kjent fremgangsmåte, som er beskrevet i US-A 3 634 394, utnytter man som oppløst stoff et stoff hvis oppløselighet er pH-avhengig og utfellingen (overføring av dråpene til fast form) tilveiebringes ved endring av pH-verdien.

Ifølge US-A 4 061 466, som beskriver ytterlige en kjent fremgangsmåte av det ovenfor angitte slag, utgjør de løste stoffene monomerer i et polymerisasjonssystem og overføringen av dråpene til fast form finner sted ved polymerisasjon av monomerene under dannelse av en uoppløselig polymer.

Ved samtlige kjente fremgangsmåter utgjøres den ene fasen av en vannfase, mens et organisk oppløsningsmiddel, som ikke er blandbart med vann, anvendes i den andre fasen, dette medfører visse ulemper.

165596

2

Således fremstår håndteringen av organiske oppløsningsmidler av denne typen som mindre ønskelig fra arbeidsmiljøsynspunkt. I mange tilfeller krever anvendelsesformålet for de fremstilte partikkelformige produktene (eksempelvis terapeutiske anvendelsesformål) en omhyggelig rensing av produktene for å fjerne de siste restene av oppløsningsmiddel. I andre tilfeller kan de fremstilte partiklene, eller i partiklene innkapslede eller på annen måte immobiliserte, biologisk aktive molekyler, ta skade av det organiske oppløsningsmidlet.

Det er derfor en hensikt ved foreliggende oppfinnelse å tilveiebringe en fremgangsmåte av den innledningsvis angitte typen, som utføres ved anvendelse av et tofaset væskesystem av vesentlig mindre farlig type enn de tidligere anvendte tofasesystemene og som muliggjør fremstilling av immobiliserte, overfor organiske oppløsningsmidler, ømtålelige stoffer uten at disse stoffene tar skade.

Dette oppnås ifølge foreliggende oppfinnelse ved en fremgangsmåte av den ovenfor angitte typen som er kjennetegnet ved at det som væskefaser anvendes to vannfaser som ikke er blandbare med hverandre.

Systemer som omfatter to eller flere vannholdige faser som ikke er blandbare med hverandre har tidligere vært anvendt ved separasjon av makromolekylære stoffer, se f.eks. EP-B1 0 001 837 og US-A 3 897 414.

I vannholdige tofasesystemer av den aktuelle typen inneholder vanligvis hver av fasene minst en oppløst polymer. Eksempler på slike tofasesystemer av polymerholdige vannoppløsninger er: dekstran/vannoppløselig kopolymer av sukrose og epiklorhydrin ("Ficoll")/vann, dekstran/hydroksypropyldekstran/vann, polyetylenglykol/dekstransulfat/vann, dekstran/polyetylenglykol/vann, polypropylenglykol/metoksypolyetylenglykol/vann, polypropylenglykol/polyetylenglykol/vann, polypropylengly-

kol/polyvinylalkohol/vann, polypropylenglykol/polyvinylpyrrolidon/vann, polypropylenglykol/hydroksypropyldekstran/vann, polypropylenglykol/dekstran/vann, polyetylenglykol/polyvinylalkohol/vann, polyetylenglykol/polyvinylpyrrolidon/vann, polyetylenglykol/"Ficoll"/vann, polyetylenglykol/oppløselig stivelse/vann, polyetylenglykol/glykogen/vann, polyvinylalkohol/metylcellulose/vann, polyvinylalkohol/hydroksypropyldekstran/vann, polyvinylalkohol/dekstran/vann, polyvinylpyrrolidin/metylcellulose/vann, polyvinylpyrrolidon/dekstran/vann, metylcellulose/hydroksypropyldekstran/vann, metylcellulose/dekstran/vann og etylhydroksyetylcellulose/dekstran/vann.

Andre grupper av vannholdige tofasede væskesystemer er: minst en polymer/minst et salt/vann og minst en polymer/minst et med vann blandbart organisk oppløsningsmiddel/vann. Saltet kan være et uorganisk eller organisk salt som er oppløselig i vann, eksempelvis et sulfat, et fosfat eller et klorid, f.eks. magnesiumsulfat, kaliumfosfat eller natriumklorid. Eksempler på vannoppløselige organiske oppløsningsmidler som kan anvendes i vannholdige tofasesystemer i forbindelse med fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen er propylalkohol, glycerol, etanol, aceton og isopropylalkohol.

I visse av systemene ovenfor kan den polymere komponenten i den ene fasen bringes til å gå over i fast form. Ved anvendelse av andre systemer kan man utnytte en tredje polymerkomponent som oppløses i den ene av de to fasene og som siden kan bringes til å gå over i fast form.

I de tilfeller hvor en tredje polymerkomponent forekommer, velges et tofasesystem hvori denne komponenten fordeler seg hovedsakelig i den ene av fasene. Dessuten bør polymer i den fasen hvor den nevnte komponenten hovedsakelig er tilstedeværende være slik at den er fysiologisk ufarlig når sluttproduktet skal anvendes for terapeutiske formål, idet den nevnte polymeren vil inngå i sluttproduktet.

165596

4

Overføringen av dråpene med deri oppløst stoff til fast form ved fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen kan finne sted både ved fysikalske og kjemiske fremgangsmåter, hvorved valget av oppløst stoff har avgjørende betydning for valget av fremgangsmåte.

Ifølge en utførelsesform av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen anvendes det som oppløst stoff i den fasen som dispergeres til små dråper, et stoff med lav oppløselighet i vann, og dråpene bringes til å gå over til fast form ved at vannet fjernes fra disse.

Eksempler på stoffer som kan anvendes i denne sammenheng er stivelse, agar, gelatin, pektin, kollagen, karragenan og fibrin.

Fjernelsen av vannet fra den dispergerte fasen kan finne sted ved at likevekten i tofasesystemet forstyrres og en ny likevekt søker å innstille seg ved at vann overføres fra den dispergerte fasen til den sammenhengende fasen, hvilket fører til utfelling av stoffet som finnes i den dispergerte fasen eller stoffer med lav oppløselighet i vann idet deres respektive oppløselighetsevne overskrides.

En fremgangsmåte for å tilveiebringe fjernelse av vannet fra den dispergerte fasen er fremgangsmåter som avdampning, dialyse eller ultrafiltrering.

Ved avdampning økes innholdet av osmotisk aktive stoffer i den kontinuerlige fasen ("solvent evaporation"). Avdampning kan utføres ved oppvarming under omrøring. Prosessen kan, om ønsket, også utføres ved redusert trykk.

Når dialyse anvendes, finner det også sted en anrikning av osmotisk aktive komponenter. For dette formålet anvendes en

membran med permeabilitet bare for vann, dette muliggjør også nøyaktig kontroll av vanninnholdet i den dispergerte fasen.

Samme resultat oppnås ved ultrafiltrering.

5

En annen fremgangsmåte for å tilvelebringe fjernelse av vann fra den dispergerte fasen er å tilsette stoffer til den sammenhengende fasen som resulterer i at vannet, f.eks. ved osmose, transporteres bort fra den dispergerte fasen.

10

For det tilfellet at eksempelvis polyetylenglykol utgjør polymeren i den sammenhengende fasen (ytterfasen), tilsettes i første omgang ytterligere polyetylenglykol til denne, hvorved tilsatsen hensiktsmessig kan finne sted i form av en vannoppløsning med høyere innhold av polyetylenglykol enn den oppløsningen som opprinnelig anvendes i denne fasen. Tilsatsen kan imidlertid også utgjøres av en vannoppløsning av NaCl eller andre osmose-forhøyende salter av Mg, Zn og andre metaller.

20

Idet partiklene dannes i gelform kan oppløsningsmidler som er blandbare med vann, så som etanol og aceton, tilsettes for å trekke ut ytterligere vann fra gelpartiklene.

25

Ved fremstilling av tofasesystemet er det også mulig å gå frem slik at begge polymerene som skal inngå i hver sin fase oppløses hver for seg i vann, hvorved konsentrasjonen av polymerene i de respektive oppløsningene velges slik at en sammenføring av oppløsningene under omrøring til dannelsen av en emulsjon fører til vannovergang fra innerfasen (den dispergerte fasen) til ytterfasen.

30

Ved denne utførelsesformen anvendes fortrinnsvis polyetylen-glykol som polymer i den sammenhengende fasen, hvorved den midlere molekylvekten (M_w^-) for polyetylenglykolen vanligvis velges innenfor området 100-2 000 000 Dalton.

35

165596

6

Valget av konsentrasjon for polymerene i de to fasene styres delvis av ønske om at det skal dannes et tofaset væskesystem, delvis av ønske om en høy konsentrasjon av polymer i den dispergerte fasen slik at den mengden vann som må fjernes for å tilveiebringe utfellingen av polymerpartiklene skal bli liten. Egnet konsentrasjon i det enkelte tilfelle fastslås lettest ved noen enkle forsøk hvor man oppløser begge polymerene i vann.

Herved er det fordelaktig å fastlegge en egnet (høy) konsentrasjon for den polymeren som skal danne innerfasen og variere konsentrasjonen av den andre polymeren slik at det oppnås dannelse av et tofasesystem.

Generelt gjelder ved fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen at konsentrasjonen for polymeren i den sammenhengende fasen velges tilstrekkelig høy til at det oppnås et klart tofasesystem, og at ingen fordeler oppnås ved å øke innholdet utover dette.

Ifølge en annen utførelsesform av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen, anvendes det som oppløst stoff i den dispergerte fasen metylcellulose eller et eller flere proteiner, og overføringen av dråpene til fast form oppnås ved oppvarming.

Denne utførelsesformen er basert på det forhold at visse polymerer fasesepareres over theta-temperaturen. Ved denne utførelsesformen dehydratiseres polymeroppløsningen ved faseseparasjonen, og den dispergerte fasen felles ut som faste partikler.

Ved anvendelse av metylcellulose som polymer i den dispergerte fasen, kan det som polymer i den kontinuerlige fasen eksempelvis anvendes polyvinylpyrrolidon, polyvinylalkohol, hydroksypropyldekstran eller dekstran.

Polymerene oppløses hensiktsmessig hver for seg og oppløsningene blandes deretter under omrøring på 1 og for seg kjent måte slik at det dannes en dispersjon. Deretter økes temperaturen gradvis til partiklene dannes eller til en temperatur nær kokepunktet, eksempelvis til 95°C. De dannede partiklene sentrifugeres eller frafiltreres, dette bør finne sted i varmt miljø for å hindre gjenoppløsning av metylcellulosen, og deretter tørkes partiklene.

Egnede konsentrasjoner av polymerene i de to fasene kan fastlegges ved enkle forsøk på samme måte som beskrevet ovenfor i forbindelse med utførelsesformen hvor den dispergerte fasen bringes til å gå over i fast form ved fjernelse av vann fra den nevnte fasen.

Når ett eller flere proteiner anvendes som polymer i den dispergerte fasen, forutsettes det at oppvarmingen finner sted på en slik måte at proteinene denatureres og derved går over på fast form. Denne fremgangsmåten bør naturligvis ikke anvendes i de tilfeller hvor man ønsker å opprettholde proteinet i ikke-denaturert form.

Som polymer i den sammenhengende fasen anvendes først og fremst polyetylenglykol, men også andre polymerer så som dekstran og polyvinylalkohol kan komme på tale. Den gjennomsnittlige molekylvekten (MW) for polyetylenglykolen velges vanligvis innenfor det tidligere nevnte området 100-2 000 000 Dalton. For å lette dannelsen av et tofasesystem, kan det være nødvendig å anvende proteinet sammen med en annen polymer, så som eksempelvis dekstran med en midlere molekylvekt på 40 000-2 000 000 Dalton. En annen anvendelig polymer i denne sammenheng er metylcellulose.

Dannelsen og isoleringen av partiklene utføres analogt det som er beskrevet i forbindelse med metylcellulose ovenfor.

165596

8

Ifølge en tredje utførelsesform av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen, anvendes det som oppløst stoff en polymer hvis oppløselighet i vann er sterkt temperaturavhengig, og overføringen av dråpene til fast form tilveiebringes ved
5 avkjøling.

Eksempler på egnede polymerer i den dispergerte fasen i denne sammenheng er stivelse, agar, gelatin, pektin og karragenan. Stivelsen kan være av ulike typer og også stivelsesderivater
10 kan anvendes under forutsetning av at de kan danne geler i vann.

Polymeren oppløses i vann ved høy temperatur, fortrinnsvis ved så høy temperatur som mulig for den respektive polymeren og i en konsentrasjon som ligger så nær polymerens opp-
15 løselighetsgrense som mulig.

Generelt gjelder at man som polymer i den sammenhengende fasen kan anvende en hvilken som helst polymer som danner et tofasesystem med polymeren i innerfasen under forutsetning at
20 den ikke oppfører seg på samme måte som sistnevnte polymer ved temperaturforandringer. Når polymeren i den dispergerte fasen utgjøres av stivelse, kommer som polymer i den sammenhengende fasen først og fremst polyetylenglykol med en
25 midlere molekylvekt som angitt ovenfor på tale.

Polymeren i den sammenhengende fasen oppløses for seg og oppløsningen gis en slik temperatur at det ikke oppstår for hurtig avkjøling av oppløsningen for den dispergerte fasen
30 når denne tilsettes under omrøring til den førstnevnte oppløsningen for dannelselse av et tofasesystem i form av en dispersjon. Avkjølingen finner deretter sted ved svalning, hvorved polymeren i den dispergerte fasen langsomt felles ut. Når blandingen har nådd romtemperatur, isoleres partiklene
35 f.eks. ved filtrering. Eventuelt kan dehydratiseringsmidler så som etanol eller aceton tilsettes den avkjølte blandingen før filtrering.

Ifølge en fjerde utførelsesform av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen, anvendes det som oppløst stoff en polymer som oppviser hydroksyl- og/eller aminogrupper eller grupper som inneholder strukturen $\text{CH}_2=\text{CH}-$ og overføringen av dråpene til fast form tilveiebringes ved en fornetningsreaksjon.

De hydroksylgruppeholdige polymerene som først og fremst kommer på tale i denne sammenheng er polysakkarider. Disse forbindelsene kan fornettes ved hjelp av bifunksjonelle tverrbindingsmidler så som et bifunksjonelt glycerolderivat av typen diklorhydrin eller dibromhydrin eller tilsvarende ved avspaltning av hydrogenhalogenid fra fremstillbare epoksydforbindelser, dvs. epiklorhydrin eller epibromhydrin, eller et diepoksyd som eksempelvis 1,2-3,4-diepoksybutan.

Eksempelvis kan det for det tilfellet at polymeren i den dispergerte fasen utgjøres av dekstransulfat anvendes en vannoppløsning av et salt som danner et tofasesystem med dekstransulfat for ytterfasen. Tverrbindingen kan tilveiebringes ved tilsats av epiklorhydrin oppløst i etanol.

Eksempler på polymere stoffer inneholdende aminogrupper for anvendelse ved denne utførelsesformen er polypeptider, innbefattende proteiner. Disse stoffene kan tverrbindes ved hjelp av i og for seg kjente fremgangsmåter, f.eks. med glutaraldehyd eller formaldehyd som tverrbindingsmiddel.

Som polymer i den sammenhengende fasen, anvendes i dette tilfellet fortrinnsvis polyetylenglykol.

Polymeren for den sammenhengende fasen og polypeptidene løses hver for seg i vann, fortrinnsvis ved romtemperatur. Deretter føres oppløsningene sammen under omrøring, slik at det dannes et tofasesystem hvor oppløsningen som inneholder polypeptider danner en dispergert fase. Når tofasesystemet utvikles tilsettes en vannoppløsning av tverrbindingsmidlet

165596

10

under fortsatt omrøring. Tverrbindingsreaksjonen får vanligvis foregå ved romtemperatur. Det er også mulig å arbeide ved svakt forhøyet temperatur, men ved nærvær av et biologisk aktivt stoff hvis aktivitet man ønsker å bibeholde
5 må man naturligvis ikke arbeide ved så høy temperatur at denne aktiviteten ødelegges.

Det dannede faste produktet isoleres ved konvensjonelle fremgangsmåter så som filtrering og tørkes.

10

Eksempler på polymerer som oppviser grupper inneholdende strukturen $\text{CH}_2=\text{CH}-$ for anvendelse ved denne utførelsesformen av oppfinnelsen, er akrylsubstituerte polysakkarider så som akryldekstran, akrylstivelse, osv.

15

Som polymer i den sammenhengende fasen anvendes i dette tilfellet fortrinnsvis polyetylenglykol (med midlere molekylvekt som nevnt ved tidligere utførelsesformer hvor denne polymeren anvendes), men også andre polymerer er
20 tenkbare for denne anvendelsen, eksempelvis metylcellulose med akryldekstran i den dispergerte fasen.

25

Polymerene oppløses hver for seg i vann og oppløsningen for den dispergerte fasen settes til den andre oppløsningen under omrøring, hensiktsmessig ved romtemperatur, for dannelse av en dispersjon. Etter at tofasesystemet er dannet, tilsettes en vannoppløsning av en katalysator for tverrbindingsreaksjonen, så som eksempelvis ammoniumperoksosulfat og N,N,N',N'-tetrametyletylendiamin. Etter avsluttet reaksjon
30 isoleres de dannede partiklene på konvensjonell måte, eksempelvis ved sentrifugering eller filtrering.

35

Ifølge en femte utførelsesform av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen, anvendes det som oppløst stoff en polymer hvis oppløselighet er sterkt pH-avhengig, og man tilveiebringer overføringen av dråpene til fast form ved en forandring av pH-verdien for den dispergerte fasen.

Eksempler på polymerer hvis vannoppløselighet er pH-avhengig og som derfor kan komme til anvendelse ved denne utførelsesformen er alginsyre, karboksymetylcellulose, celluloseacetat-ftalat, pektin og stivelse.

Som polymer i den sammenhengende fasen kommer ved denne utførelsesformen først og fremst polyetylenglykol (middel-molekylvekt som ovenfor) med tilsatt NaCl på tale. Også andre polymerer kan anvendes i denne sammenheng. Dersom f.eks. polymeren i den dispergerte fasen utgjøres av karboksymetyl-cellulose, så kan det i den sammenhengende fasen anvendes polypropylenglykol, metoksypolyetylenglykol, polyvinyl-alkohol, polyvinylpyrroliden, metylcellulose, etylhydroketyl-cellulose eller hydroksypropyldekstran, hvorved NaCl i alle tilfeller tilsettes.

Ved fremstilling av oppløsningen av polymeren for den dispergerte fasen kan tilsats av alkali, fortrinnsvis NaOH, være nødvendig for å tilveiebringe en pH-verdi ved hvilken polymeren er oppløselig.

Oppløsningen av polymeren for den dispergerte fasen gjøres så konsentrert som mulig. Den øvre grensen for konsentrasjonen bestemmes her foruten av polymerens oppløselighet også av oppløsningen viskositet.

Vannoppløsningene for begge fasene fremstilles hensiktsmessig hver for seg, hvoretter de føres sammen, hvorved fortrinnsvis oppløsningen for den dispergerte fasen settes til den andre oppløsningen, under omrøring for dannelsen av en dispersjon.

Etter at tofasesystemet er dannet, tilsettes en fortynnet syre, fortrinnsvis en uorganisk syre, så som saltsyre, dråpevis under fortsatt omrøring til den dispergerte fasen har gått over til fast form. Alle operasjonene utføres hensiktsmessig ved romtemperatur.

De dannede partiklene isoleres på konvensjonell måte, eksempelvis ved sentrifugering eller filtrering.

5 Ifølge en sjette utførelsesform av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen anvendes det som oppløst stoff en polymer som danner et tungt oppløselig salt med et, fortrinnsvis ikke-toksisk, motion og overføringen av dråpene til fast form tilveiebringes ved tilførsel av et slikt motion.

10 Eksempler på polymerer som kan komme til anvendelse ved denne utførelsesformen av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen er ladede polymerer så som natriumalginat, som danner tungt oppløselige salter med ett eller flere av ionene Ca^{2+} , K^{+} ,
15 m.fl. Eksempler på andre polymerer er pektin og karragenan som danner en gel med ett eller flere av ionene K^{+} , Ca^{2+} , Cs^{+} og Rb^{+} .

Som polymer i den sammenhengende fasen kommer først og fremst
20 polyetylenglykol (midlere molekylvekt som ovenfor) på tale.

Vannoppløsningene for begge fasene tilberedes hensiktsmessig hver for seg, hvoretter de føres sammen, hvorved fortrinnsvis oppløsningen for den dispergerte fasen settes til den andre
25 oppløsningen, under omrøring for dannelselse av en dispersjon.

Etter at tofasesystemet er dannet, tilsettes en vannoppløsning av et vannoppløselig salt inneholdende det ionet som danner et tungt oppløselig salt med polymeren i den dispergerte fasen. Når det aktuelle ionet er et metallion,
30 anvendes som salt vanligvis et klorid dersom dette er vannoppløselig.

De dannede partiklene isoleres på konvensjonell måte,
35 eksempelvis ved sentrifugering eller filtrering.

Alle operasjoner utføres med fordel ved romtemperatur.

Ifølge en syvende utførelsesform av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen anvendes det som oppløst stoff minst ett stoff som utgjør en komponent i et system av minst to stoffer som reagerer med hverandre til dannelse av et i vannholdig medium uoppløselig konjugat eller kompleks og overføringen av dråpene til fast form tilveiebringes ved hjelp av øvrige komponenter som inngår i nevnte system.

Systemer som kan komme på tale i denne sammenheng er eksempelvis antigen-antistoffer, heparin-protaminer, proteiner-negativt ladede hydrokolloider, osv. Ved lave innhold er det foretrukket å tilsette en hjelpepolymer så som dekstran for å lette dannelsen av tofasesystemet.

Som polymer i den sammenhengende fasen kommer først og fremst polyetylenglykol (midlere molekylvekt som ovenfor) på tale.

En oppløsning av en av komponentene i det ovenfor nevnte systemet og en oppløsning av polymeren for den sammenhengende fasen fremstilles hver for seg, hvoretter begge oppløsningene føres sammen, hvorved fortrinnsvis oppløsningen for den dispergerte fasen settes til den andre oppløsningen, under omrøring for dannelse av en dispersjon.

Etter at dispersjonen er dannet, tilsettes en vannoppløsning av øvrige komponenter i systemet.

De dannede partiklene isoleres på konvensjonell måte, eksempelvis ved sentrifugering eller filtrering.

Samtlige av disse operasjonene utføres med fordel ved romtemperatur.

Ifølge en åttende utførelsesform av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen tilveiebringes overføring av dråpene til fast

165596

14

form ved avspaltning av hydrofile substituenten og/eller innføring av hydrofobe substituenten i det oppløste stoffet.

5 Strukturforandringen i polymeren i den dispergerte fasen kan finne sted ved kjemiske eller enzytatiske fremgangsmåter.

I prinsippet utføres denne utførelsesformen slik at polymerene for begge fasene oppløses hver for seg i vann og oppløsningene føres sammen under omrøring for dannelse av en
10 dispersjon. Når dispersjonen er dannet, tilsettes en vannoppløsning av den kjemiske reagensen eller det enzyt som tilveiebringer strukturforandringen av polymeren i den dispergerte fasen for dannelse av et vann-uoppløselig stoff. Det oppnådde partikkelformige faste stoffet isoleres på
15 konvensjonell måte, eksempelvis ved sentrifugering eller filtrering.

Ved samtlige av de ovenfor nevnte utførelsesformene kan partikkelstørrelsen kontrolleres på i og for seg kjent måte, f.eks. ved forskjellige omrøringsintensiteter eller ved å
20 velge egnede viskositeter for de forskjellige fasene. Ved systemet polyetylenglykol-stivelse er det også mulig å regulere partikkelstørrelsen ved valget av molekylvekten for polyetylenglykolen, hvorved en høyere molekylvekt for
25 polyetylenglykolen gir større partikler.

De ifølge oppfinnelsen fremstilte partiklene er hovedsakelig amorfe. (De inneholder generelt mer enn 80% amorft materiale.)

30 Ifølge et annet trekk ved oppfinnelsen kan ett eller flere, ved dråpenes overføring til fast form inerte, fortrinnsvis makromolekylære, stoffer inngå som oppløste stoffer i den dispergerte fasen og innesluttet eller innebygges i partiklene når disse dannes.
35

Dessuten kan også hele (levende) celler, celleorganeller, faste partikler eller små oljedråper innkapsles ved fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen.

5 Ved denne innbyggingen av stoffer i form av en partikkel eller emulsjonsdråpe, utstyres partiklen respektive emulsjonsdråpen, med en omhylling av den polymeren som ifølge oppfinnelsen skal overføres til fast form (til en partikkel). Stoffet som skal innesluttet i partiklen dispergeres da enten
10 i fast form eller som oljedråper i en oppløsning av den nevnte polymeren. Ved hjelp av en av de ovenfor angitte utførelsesformene av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen dannes deretter partikler med innkapslet komponent i fast form eller oljeform.

15 Videre kan inkorporering av lavmolekylære stoffer i partiklene tilveiebringes på en slik måte at den komponenten som skal inkorporeres bindes kjemisk ved kovalent binding eller ionebinding til den partikkeldannende polymeren. Det er også
20 mulig å binde mindre molekyler til en vannoppløselig ionebytter, hvorefter ionebytteren innebygges fysikalsk i partiklene.

25 Lavmolekylære stoffer som kan inkorporeres på denne måten kan eksempelvis være legemidler, vaksiner eller insekticider. Ved innkapsling av varmfølsomme stoffer bør naturligvis oppvarming til en temperatur som volder skade unngås.

30 Oppfinnelsen skal i det følgende belyses nærmere ved hjelp av noen utførelseseksempler.

Eksempel 1

Fremstilling av sfæriske partikler av stivelse

35 2 g potetstivelse ble oppløst i 45 ml vann ved 90°C for dannelse av en første oppløsning, denne ble temperert til romtemperatur. En andre oppløsning ble dannet ved oppløsning av 5 g polyetylenglykol ($M_w=6000$). Stivelsesoppløsningen ble

165596

16

deretter tilsatt til polyetylglykoloppløsningen ved romtemperatur under omrøring for dannelse av en emulsjon. Når tofasesystemet var dannet, ble osmolariteten i ytterfasen øket ved tilsats av en oppløsning av 10 g polyetylglykol i 40 ml vann.

10 minutter etter at tilsatsen av polyetylglykoloppløsningen var avsluttet, ble de dannede stivelsespartiklene frafiltrert, de ble deretter oppslemmet i 100 ml aceton. Oppslemmingen ble filtrert og stivelsespartiklene ble lagt på et underlag for lufttørking. Utbytte 90%.

Eksempel 2

Fremstilling av sfæriske partikler av metylcellulose

Det ble fremstilt en første oppløsning av 3 g metylcellulose ("MC 4000" fra Dow Chemical Co., USA) og 47 ml vann og en andre oppløsning av 3 g dekstran ($M_w = 70\ 000$) i 47 ml vann ved romtemperatur. Metylcelluloseoppløsningen ble tilsatt til dekstranoppløsningen under omrøring for dannelse av en emulsjon. Når tofasesystemet (med metylcelluloseoppløsningen som innerfase) var dannet, ble temperaturen gradvis øket til 60°C i løpet av et tidsrom på 30 minutter. Når denne temperaturen var nådd, var innerfasen overført til partikkelform. 100 ml vann oppvarmet til 60°C ble tilsatt, hvorefter partiklene ble frafiltrert og tørket i tørkeskap ved 60°C. Utbytte 85%.

Eksempel 3

Fremstilling av sfæriske partikler av albumin

Det ble fremstilt en første oppløsning av 1 g bovinserumalbumin og 5 ml vann og en andre oppløsning av 9 g polyetylglykol ($M_w=6000$) og 20 ml vann ved romtemperatur.

Analogt eksempel 2 ble de to oppløsningene ført sammen og partikler ble dannet ved oppvarming og ble isolert og tørket.

Alternativt kan partikler fremstilles uten oppvarming dersom den dispergererte fasen dehydratiseres med et vann-blandbart oppløsningsmiddel så som etanol, aceton, osv.

5 Eksempel 4

Fremstilling av sfæriske partikler av stivelse

5 g potetstivelse ble oppløst i 95 ml vann ved ca. 90°C. En andre oppløsning ble fremstilt av 3 g polyetylenglykol ($M_w=6000$) og 47 ml vann. Denne oppløsningen ble oppvarmet til ca. 70°C, hvorefter den varme stivelsesoppløsningen ble tilsatt under omrøring for dannelse av en emulsjon. Når tofasesystemet (med stivelsesoppløsning som innerfase) var dannet, fikk blandingen under fortsatt omrøring avkjøles til romtemperatur, hvorved innerfasen ble overført til gelpartikler. Disse ble filtrert ved romtemperatur og oppslemmet i 100 ml etanol, hvorefter de igjen ble frafiltrert og ble lagt på underlag for lufttørring.

Utbytte 90%.

20 Eksempel 5

Fremstilling av sfæriske partikler av karragenan

Det ble fremstilt en første oppløsning av 2 g karragenan og 48 ml vann ved ca. 65°C og en andre oppløsning av 5 g polyetylenglykol ($M_w=6000$) og 45 ml vann. Polyetylenglykol-oppløsningen ble oppvarmet til ca. 60°C hvorefter den varme karragenanoppløsningen ble tilsatt under omrøring for dannelse av en emulsjon. Når tofasesystemet (med karragenanoppløsningen som innerfase) var dannet, fikk blandingen under fortsatt omrøring avkjøles til romtemperatur, hvorved innerfasen ble overført til partikkelform. Partiklene ble isolert på tilsvarende måte som stivelsespartiklene i eksempel 4.

Utbytte 95%.

165596

18

Eksempel 6

Fremstilling av sfæriske partikler av tverrbundet dekstran

Det ble fremstilt en første oppløsning av 5 g akryldekstran ($M_w = 40\ 000$) og 45 ml vann. (Akryldekstran er dekstrankjeder som er derivatisert med akrylgrupper som senere kan reagere under dannelse av tverrbindinger hvorved det oppnås en uoppløselig gel. For fremstilling av akryldekstran se P. Edman et al. J. Pharm. Sci. 69 nr. 7 1980.) Det ble fremstilt en andre oppløsning av 7 g polyetylglykol ($M_w=6000$) og 45 ml vann. Akryldekstranoppløsningen ble tilsatt til polyetylglykoloppløsningen ved romtemperatur under omrøring for dannelse av en dispersjon. Når tofasesystemet (med akryldekstranoppløsningen som innerfase) var dannet, ble det tilsatt et par dråper av en vannoppløsning bestående av 500 mg ammoniumperoksodisulfat pr. ml vann. Deretter ble det tilsatt noen dråper av N,N,N¹,N¹-tetrametyletyldiamin. Dette katalysatorsystemet startet tverrbindingsreaksjonen som fikk foregå i 15 minutter. Etter avsluttet reaksjon ble partiklene frafiltrert.

Utbytte 95%.

Eksempel 7

Fremstilling av sfæriske partikler av alginsyre

Det ble fremstilt en første oppløsning ved å oppløse 2 g natriumalginat i 45 ml vann og en andre oppløsning ved å oppløse 2 g natriumklorid og 5 g polyetylglykol ($M_w=6000$) i 43 ml vann. Alginatoppløsningen ble tilsatt til polyetylglykoloppløsningen ved romtemperatur under omrøring for dannelse av en emulsjon. Når tofasesystemet (med alginatoppløsning som innerfase) var dannet, ble det tilsatt 5 ml 1N HCl dråpevis, hvorved innerfasen gikk over på partikkelform. De oppnådde partiklene av alginsyre ble isolert ved filtrering. Tørrking fant sted på tilsvarende måte som i eksempel 4 ved oppslemming i etanol, filtrering og lufttørrking.

Utbytte 85%.

Eksempel 8Fremstilling av sfæriske partikler av kalsiumalginat

Det ble fremstilt en første oppløsning ved å oppløse 2 g natriumalginat i 48 ml vann og en andre oppløsning ved å oppløse 2 g natriumklorid og 5 g polyetylen-
glykoloppløsningen ved romtemperatur under omrøring for dannelsen av en emulsjon. Når tofasesystemet (med alginatoppløsningen som innerfase) var dannet, ble det dråpevis tilsatt 5 ml 1M CaCl_2 , hvorved innerfasen gikk over på partikkelform. De oppnådde partiklene av kalsiumalginat ble isolert ved filtrering, partiklene ble tørket i tørkeskap ved 35°C. Utbytte 85%.

Eksempel 9Fremstilling av sfæriske partikler av pektin

Det ble fremstilt en første oppløsning ved å oppløse 2,5 g pektin som var lavforestret med metoksygrupper i 47,5 ml vann og en andre oppløsning ved å oppløse 5,0 g polyetylen-
glykoloppløsningen ble tilsatt til polyetylen-
glykoloppløsningen ved romtemperatur under omrøring for dannelsen av en emulsjon. Når tofasesystemet (med pektinoppløsningen som innerfase) var dannet, ble det dråpevis tilsatt 5 ml 1 M CaCl_2 , hvorved innerfasen gikk over på partikkelform. De oppnådde partiklene av pektin ble isolert ved filtrering og tørket i tørkeskap ved 35°C. Utbytte 85%.

Eksempel 10Fremstilling av sfæriske partikler av fibrin

Det ble fremstilt en første oppløsning ved å oppløse 0,2 g fibrinogen i 20 ml fysiologisk koksaltoppløsning og en andre oppløsning ved å oppløse 1 g polyetylen-
glykoloppløsningen ble tilsatt til polyetylen-
glykoloppløsningen under omrøring for dannelsen av dispersjon. Når tofasesystemet (med fibrinogenoppløsningen som innerfase)

165596

20

var dannet, ble det tilsatt et par dråper av en vannopp-
løsning av trombin, hvorved innerfasen gikk over til en gel
av fibrin. De oppnådde partiklene ble dehydratisert med
etanol og isolert ved filtrering eller sentrifugering.

5

10

15

20

25

30

35

P a t e n t k r a v

1.

5 Fremgangsmåte for fremstilling av små, sfæriske polymerpartikler fra et system innbefattende to væskefaser, hvorved den ene av fasene som inneholder ett eller flere oppløste stoffer dispergeres i form av små dråper i den andre fasen for dannelsen av en emulsjon, hvorefter dråpene bringes til å gå over til fast form og danne partikler, k a r a k t e r i s e r t v e d at det som væskefaser anvendes to vannholdige faser som ikke er blandbare med hverandre.

2.

15 Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at man som oppløst stoff i den ene fasen anvender et stoff med lav oppløselighet i vann og bringer dråpene til å gå over til fast form ved at vannet fjernes fra disse.

3.

20 Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at man som oppløst stoff i den nevnte ene fasen anvender metylcellulose eller ett eller flere proteiner og tilveiebringer overføringen av dråpene til fast form ved oppvarming.

4.

25 Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at man som oppløst stoff anvender en polymer hvis oppløselighet i vann er sterkt temperaturavhengig og tilveiebringer overføringen av dråpene til fast form ved avkjøling.

5.

35 Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at man som oppløst stoff anvender en polymer som oppviser hydroksyl- og/eller aminogrupper eller grupper som

165596

22

inneholder strukturen $\text{CH}_2 = \text{CH}-$ og tilveiebringer overføringen av dråpene til fast form ved en fornetningsreaksjon.

5 6.

Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at man som oppløst stoff anvender en polymer hvis oppløselighet er sterkt pH-avhengig, og tilveiebringer overføringen av dråpene til fast form ved en forandring av pH-verdien for den dispergerte fasen.

7.

15 Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at man som oppløst stoff anvender en polymer som danner et tungt oppløselig salt med et, fortrinnsvis ikke-toksisk, motion og tilveiebringer overføringen av dråpene til fast form ved tilførsel av et slikt motion.

8.

20 Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at man som oppløst stoff anvender minst et stoff som utgjør en komponent i et system av minst to stoffer som reagerer med hverandre under dannelse av et i vannholdig medium uoppløselig konjugat eller kompleks, og at man 25 tilveiebringer overføringen av dråpene til fast form ved hjelp av de øvrige komponentene som inngår i det nevnte systemet.

9.

30 Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at man tilveiebringer overføringen av dråpene til fast form ved avspaltning av hydrofile substituenten og/eller innføring av hydrofobe substituenten i det oppløste stoffet.

35 10.

Fremgangsmåte ifølge et av de foregående kravene, k a r a k t e r i s e r t v e d at et eller flere, ved dråpenes

overføring til fast form inerte, fortrinnsvis makromolekylære
stoffer inngår som oppløste stoffer i den dispergerte fasen
og innesluttet eller innebygges i partiklene når disse dannes
eller at hele celler, celleorganer eller faste partikler
5 eller små oljedråper er dispergert i den dispergerte fasen og
innkapsles i partiklene når disse dannes.

10

15

20

25

30

35