PATENTOVÝ SPIS

(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2001-4235**
(22) Přihlášeno: **23.05.2000**
(30) Právo přednosti: **27.05.1999 DE 1999/19925311**
(40) Zveřejněno: **17.04.2002**
(Věstník č. 4/2002)
(47) Uděleno: **03.10.2006**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **15.11.2006**
(Věstník č. 11/2006)
(86) PCT číslo: **PCT/DE2000/001678**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2000/072888**

(11) Číslo dokumentu:
297 351
(13) Druh dokumentu: **B6**
(51) Int. Cl.:
A61K 9/50 (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)
A61K 49/22 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:
EP 52575; EP 398935.

(73) Majitel patentu:
Acusphere, Inc., Watertown, MA, US

(72) Původce:
Budde Uwe, Wandlitz, DE
Briel Andreas, Berlin, DE
Rössling Georg, Glienicke, DE
Lovis Kai, Berlin, DE
Schmidt Wolfgang, Berlin, DE
Moritz Hans-Ulrich, Bendestorf, DE
Gottfried Michael, Hamburg, DE
Ingwersen Jan-Peter, Berlin, DE

(74) Zástupce:
TRAPLOVÁ HAKR KUBÁT Advokátní a patentová kancelář, Ing. Jan Kubát, Přístavní 24, Praha 7, 17000

(54) Název vynálezu:
Vícestupňový způsob výroby mikrokapslí plněných plynem

(57) Anotace:
Vícestupňový způsob výroby mikrokapslí plněných plynem, při němž se v následujících prostorově nebo/a časově oddělených výrobních stupních
a) polymerizuje monomer tvořící obal za vzniku primární disperze koloidních polymerních částic a
b) koloidní polymerní částice se podrobí strukturní agregaci za vzniku plynem plněných mikrokapslí.

CZ 297351 B6

Vícestupňový způsob výroby mikrokapslí plněných plynem

Oblast techniky

Vynález se týká vícestupňového způsobu výroby mikrokapslí plněných plynem, využívající odděleně polymerizaci hmoty tvořící plášť a výstavbu mikrokapslí. Mikrokapsle připravené podle tohoto vynálezu mají strukturu jádra ve skořápce a vykazují definovanou distribuci velikostí. Na základě jejich vlastností mohou být využity jako kontrastní prostředek průchozí pro kapiláry při ultrazvukovém vyšetření.

Dosavadní stav techniky

U echokardiografie (také označované jako srdeční sonografie) mohou být získány závěry o morfologii a pohybu srdečních chlopní stejně jako o směru, rychlosti a kvalitě krevního oběhu. U této diagnostické metody se pracuje s ultrazvukem, jehož vzájemné působení je znázorněno barevným kódováním (Dopplerův jev). Díky své nízké komplikovanosti našlo ultrazvukové vyšetření široké uplatnění v medicíně.

Kvalita výsledků se významně zvyšuje s použitím kontrastních látek.

Jako kontrastní látky byly v medicinální ultrazvukové diagnostice zavedeny látky, které obsahují nebo uvolňují plyn, který by díky rozdílům efektivní hustoty a tím i rozdílu v impedenci přecházel mezi kapalinu popř. pevnou látku a krev. Pozorování srdečního echoefektu s roztoky, obsahujícími nafoukané jemné bublinky plynu, je z literatury již delší čas známo [1]. Ovšem tyto nestabilizované plynové bublinky vykazují pouze velmi krátkou životnost, a proto jsou tyto roztoky nevhodné jako kontrastní látky pro medicinální ultrazvukové vyšetřování.

V patentu US 4 276 885 byl popsán způsob výroby plynových bublinek, které jsou chráněny před vzájemným splynutím želatinovou membránou [2]. Tyto mikrobublinky jsou s výhodou připravovány injekcí daného plynu do želatinotvorné látky (např. želatiny) prostřednictvím kapiláry. Skladování takovýchto mikrobublinek je možné pouze za nízké teploty, přičemž se tento prostředek před in vivo nasazením musí přivést zpátky na tělovou teplotu. Sterilizace pomocí zahřívání je principiálně vyloučena, stejně tak se mikrobublinky rozbíjejí při sterilní filtraci.

V evropské patentové přihlášce EP 0 052 575 B1 byly popsány ultrazvukové kontrastní prostředky, založené na agregátech pevných látek dobře snášejících fyziologické podmínky, které po aplikaci do krevního řečiště uvolňují bublinky plynu [3]. Uvolnění bublinky plynu nejsou stabilizovány a nepřežívají průchod plícemi, takže po intravenosní aplikaci je možné vizualizace pouze pravé srdeční poloviny.

V patentových přihláškách EP 0 122 624 a EP 0 123 235 byly popsány kontrastní látky pro ultrazvukové vyšetření, založené na mikročástečkách a bublinkách plynu [4, 5]. Oproti EP 0 052 575 B1 bylo dosaženo stabilizace plynových bublinek pomocí povrchově aktivní látky. Je možné průchod plícemi, takže toto kontrastní činidlo dovoluje vizualizaci celého cévního objemu. Oba způsoby výroby jsou ovšem velmi pracné.

Podobně, podle evropského patentu EP 0 324 938 B1 mohou být připraveny zapouzdřené mikrobublinky, které působením ultrazvuku vytváří mikrobublinky proteinového roztoku, který je tímto stabilizovaný. V důsledku lokálních zvýšení teploty protein částečně denaturuje a uzavírá bublinky plynu [6]. Navrhované použití albuminu lidského séra (HSA) přináší ovšem nikoliv nevýznamné riziko z hlediska alergie.

Podle evropského patentu EP 0 398 935 B1 mohou být připraveny mikročástice kontrastního prostředku pro ultrazvukové vyšetření, u nichž je látka tvořící obal ze syntetického biodegradovatelného polymerního materiálu. Jako povlaková látka přichází v úvahu celá řada polymerů, které mohou být rozpuštěny v rozpouštědle nemísitelném s vodou nebo ve směsi takovýchto rozpouštědel a po přídavném přídavku dalších rozpouštědel jsou emulgovány ve vodě. Jako rozpouštědlo mohou být použity mimo jiné např. furan, pentan a aceton. Podle jedné varianty provedení je v jednom z výše uvedených rozpouštědel rozpuštěn monomer a přímo polymerizován za vzniku vodného roztoku bublinek obsahujících plyn.

U všech výše zmíněných patentů je nezbytné použití organického rozpouštědla což je značná nevýhoda, která by měla být během výrobního procesu zcela odstraněna.

S postupem popsaným v evropském patentu EP 0 458 745 je možné připravit mikrobalonky plněné plynem v širokém velikostním rozsahu [8]. K tomu se emulguje roztok polymeru v organickém rozpouštědle ve vodě a následně se naředí, čímž dojde ke vzniku jemně rozptýlených kapiček polymeru. Uzavřené kapičky rozpouštědla musí být v dalším kroku odstraněny. U tohoto způsobu výroby je výhodné, že je možné volbou tenzidu popř. rychlostí otáček přímo ovlivňovat velikost vznikajících mikrokapslí. V takovémto případě je možné připravovat tak různorodé aplikační formy jako jsou intravenosní nebo orální prostředky s odpovídající velikostí částic. Syntéza mikročástic obsahujících plyn bez využití rozpouštědel tedy není možná ani v tomto případě.

Postup výroby mikročástic pro ultrazvukové vyšetření, vyznačující se konkávními povrchovými částmi, využívající sušení rozprašováním byl popsán v evropském patentu EP 0 535 387 B1 [9]. Mimo jiné byla také popsána syntéza různých povlakotvorných polymerů s využitím organických rozpouštědel. Echogenní mikročástice byly připraveny pomocí rozprašování organického roztoku povlakotvorného polymeru. Nevýhodou při tomto postupu je opět použití organického rozpouštědla a sušení rozprašováním prováděné za sterilních podmínek.

S využitím optimalizované výroby, popsané v evropském patentu EP 0 644 777 B1, může být značně zlepšena ultrazvuková aktivita mikrokapslí popsaných v patentu EP 0 327 490 [10]. Zlepšení ultrazvukové aktivity (při dané frekvenci a nižší amplitudě) spočívá v tom, že lze zlepšit kontrastní velikost průměru vzduchových částic. Přestože síla stěny je následkem toho trochu slabší, částice přežívají průchod srdcem a plícemi.

Optimalizovaný postup výroby se tedy vyznačuje tím, že monomer se disperguje v kyselém, vodném roztoku nasyceném plynem a polymerizuje se přímo za vzniku mikrokapslí. Tímto způsobem lze vyrobit mikrokapsle, které by jinak bylo třeba vyrábět s pomocí organického rozpouštědla.

Ovšem problémy u tohoto způsobu výroby nastávají při zvýšení měřítka výroby ze stádia laboratorního na stádium provozní. Energie vnášená do reakčního média do značné míry díky závisí na rychlosti otáčení a průměru míchacího nebo dispergačního zařízení. Následkem toho lze očekávat, že obsah energie a množství vnášeného vzduchu bude citlivé na dispergačním zařízení stejně jako na tvaru vnitřního povrchu reaktoru a nejde jej tedy zvětšit bez případných následků. Bylo pozorováno, že zvýšení proudu vnášeného vzduchu vede ke vzniku pěny v dispergačním zařízení, a tím i k nedostatečné polymerizaci monomeru a neurčitému vzniku povlaku.

Seznam literatury:

1 J. ROELANDT
Contrast echocardiography (review)
Ultrasound Med. Biol. 8., S. 471–492, 1982

2 Patent US 4 276 885, 04.05.1979
E.G.TICKNER ET. AL.

Ultrasonic Image Enhancement
Rasor Associates, Inc.

3 Europäisches Patent EP 0 052 575, 17.11.1980
J. S.RASOR, E.G. TICKNER
Composition generating microbubbles
Schering AG

4 Europäisches Patent EP 0 122 624, 15.04.1983
J. HILLMANN ET AL:
Microkapsel und Gasbläschen enthaltendes Ultraschallkontrastmittel
Schering AG

5 Europäisches Patent EP 0 123 235, 15.04.1983
J. HILLMANN ET AL.
Mikrokapsel und Gasbläschen enthaltendes Ultraschallkontrastmittel
Schering AG

6 Europäische patentschrift EP 0 324 938 B1, 29.12. 1987
K.J. W. INDDER, P. J W ESTKAEMPER
Concentrated *Stabilized microbubble–type ultrasonic imaging agent and method of production*

7 Molecular Biosystems inc.
Europäische Patentschrift EP 0 398 935 B1,
05.02.1988
M. STEIN ET AL.
Ultraschallkontranstmitfel, Verfahren zu deren Herstellung und deren Verwendung als Diagnostika und Therapeutika
Schering AG

8 Europäische Patentschrift EP 0 458 749,
18.05.1990
D. BICHON ET AL:
Mit Gas oder Luft geffillte polymere Mikrokapseln, verwendbar in Form von Suspension bei flüssinger Trägern für Ultraschall–Echographie
Bracco Int

9 Europäische patentschrift EP 0 535 387 B1,
03,09.1990
V. KRONE ET AL.
Echogene Partikel, Verfahren zu deren Herstellung und deren 40 Verwendung
Hoechst AG

10 Europäisches Patent EP 0 644 777 B1,
13.06.1992
M. STEIN ET AL.
Microparticles, method of producing them and their use for diagnostic purposes
Schering AG

Podstata vynálezu

Základem přihlášky jsou definice následujících pojmů:

Mikrokapsle je částice o velikosti několika μm, tvořená z jádra, vytvářeného plynem, a pevného obalu variabilní šířky. Jádro může také obsahovat malé množství kapaliny, vzniklé při výrobě.

Míchání je smíšení kapaliny s kapalnou, pevnou nebo plynotvornou látkou takovým způsobem, že podíl plynné fáze v míchaném médiu je nižší než 1 % obj.

Dispergování je smíšení kapaliny s kapalnou, pevnou nebo plynotvornou látkou takovým způsobem, že podíl plynné fáze v míchaném médiu je vyšší než 1 % obj., s výhodou vyšší než 10 % obj.

Disperze je koloidní (velikost částic je menší než 50 nm) nebo hrubě disperzní (velikost částic je větší než 500 nm) vícefázový systém.

Primární disperze je koloidní disperze z polymerních částic, vzniklá polymerizace monomeru.

Samovolné zaplynění je uvedení plynu do kapaliny díky tomu, že se s kapalinou pohybuje nebo díky podtlaku vzniklého dynamickým prouděním.

Cizorodé zaplynění je aktivní uvádění plynu do kapaliny.

Flotace je zrychlení vyvolaný (zemské zrychlení, radiální zrychlení) směrový pohyb mikročástic založený na rozdílech v hustotě mikročástic a disperzního média.

Flotát je vrstva mikročástic plněných plynem sebraná po flotaci.

Hydraulicky plněný je rovnoměrně naplněný bez přetlaku plynu.

Vynález se tedy zabývá zajištěním způsobu výroby mikrokapslí pro ultrazvukové vyšetření, který by nevykazoval výše uvedené nevýhody, to znamená

– způsob výroby mikrokapslí musí být jednoduchý s reprodukovatelný také za sterilních podmínek,

– syntéza polymeru a vznik mikrokapslí musí být proveditelná bez použití organického rozpouštědla,

– zvýšení měřítka výroby musí být jednoduše možné se zachováním kontroly procesu,

– mikrokapsle vyrobené podle tohoto způsobu by měly vykazovat optimální přizpůsobivý profil vlastností jako kontrastní přípravek pro ultrazvukové vyšetření (definovaná velikost) popř. rozdělení velikosti, kvalitativně a kvantitativně reprodukovatelný kontrast při ultrazvukovém vyšetření.

Výše uvedené body jsou řešeny tímto vynálezem.

Bylo zjištěno, že mikrokapsle jsou tvořeny nejen z rozptýlených kousků primárního latexu během polymerizačního procesu, ale že mikrokapsle překvapivě vznikají také z předem polymerizovaných disperzí polymeru během vhodného provedení procesu výroby. Možnost výroby takovýchto mikrokapslí, prováděná komplikovaným celkovým procesem, může být rozložena do jednotlivých kroků. Tím získá celkový proces lepší kontrolu.

Předmětem vynálezu je vícestupňový způsob výroby mikrokapslí plněných plynem, spočívající v tom, že se v prvním kroku provede polymerizace povlakotvorné látky a tím tedy v prostorově nebo časově odděleném kroku formování mikrokapslí během výrobního procesu. Dílčí procesy polymerizace a vzniku mikrokapslí jsou tedy odděleny.

Polymerizace monomeru se přitom provádí ve vodném, často okyseleném roztoku, který se míchá takovým způsobem, aby podíl plynné fáze v míchaném médiu byl nižší než 1 % obj. Ta se provádí za mírných podmínek, v otevřeném reaktoru vyznačujícím se tím, že energetický příspěvek je menší než 5 W/dm^3 a Reynolsdovo kritérium ($Re = n.d^2/v$) je menší než 50 000. Polymerizace se provádí např. v hydraulicky plněném uzavřeném systému, je ovšem proveditelná také významně jiným přiměřeným způsobem.

V každém případě je tvorba trombů pouze málo pozorovatelná (pokud vůbec). Jako meziprodukt tohoto reakčního kroku se získává primární disperze koloidních polymerních částic.

Tvorba mikrokapslí z této primární polymerní disperze za podmínek dispergace se provádí tak, aby podíl plynné fáze byl vyšší než 1 % obj., s výhodou vyšší než 10 % obj. Provádí se za podmínek, vyznačujících se tím, že energetický příspěvek je vyšší než 5 W/dm^3 a Reynolsdovo kritérium ($Re = n.d^2/v$) je vyšší než 50 000. Tvorba trombů je dobře patrná. V tomto reakčním kroku vznikají pravidelně strukturované agregáty koloidních polymerních částic.

Významné vylepšení způsobu výroby mikrokapsí spočívá v tom, že každý jednotlivý výrobní krok může být proveden za vhodných optimálních procesních podmínek, jako třeba teplotě, hodnotě pH, podmínek míchání apod.

Je zde tedy především možnost tvorby mikrokapslí z optimálně vhodné primární disperze povlakotvorného polymeru, a poté po nastavení optimálních podmínek pro vznik mikrokapslí tuto primární disperzi zpracovat v následujícím stupni. To může být s výhodou provedeno přímo v závěru polymerizace.

Jako monomery mohou být použity laktidy, alkylestery akrylových kyselin, alkylestery methakrylové kyseliny a především kyanakrylové kyseliny.

Obzvláště preferované jsou butyl–, ethyl– a izopropylkyanakrylové kyseliny.

Míchací a dispergační médium může být jeden nebo více z následujících tensidů:

alkalické soli alkylarylpoly(oxyethylen)sulfátu, dextran, poly(oxyethylen), poly(oxypropylen)–poly(oxyethylen)–blokový polymer, ethoxylované mastné alkoholy (Cetomacrogol), ethoxylované mastné kyseliny, alkylfenolpoly(oxyethylen), kopolymer alkylfenolpoly(oxyethylen)u a aldehydu, parciální estery mastných kyselin a sorbitanu, parciální estery poly(oxyethylen)sorbitanu, poly(oxyethylen)ové estery mastných kyselin, ethery mastných alkoholů s poly(oxyethylen)em, estery mastných kyselin se sacharosou nebo polyethylenglykolglycerolestery, polyvinylalkoholy, poly(oxyethylen)–hydroxymastné kyseliny, vícevazné alkoholy polyethylenglykolu, parciální estery mastných kyselin.

S výhodou se používají jeden nebo více z následujících tenzidů: ethoxylovaný nonylfenol, ethoxylovaný oktylfenol, kopolymer aldehydů a oktylfenolpoly(oxyethylen)u, ethoxylované parciální estery mastných kyselin a glycerinu, etoxylovaný hydrogenovaný ricinový olej, poly(oxyethylen)hydroxystearát, poly(oxypropylen)–poly(oxyethylen) blokový polymer s molekulovou hmotností < 20 000.

Obzvláště výhodné jsou tensidy:

para–oktylfenol–poly(oxyethylen) s v průměru 9–10 ethoxyskupinami (=Octoxynol 9,10), para–nonylfenol–poly(oxyethylen) s v průměru 30/40 ethoxyskupinami (= např. Emulan(R)30, /Emulan(R)40), para–nonylfenolpoly(oxyethylen)–sulfát–Na sůl s v průměru 28 ethoxyskupinami (např. Disponil(R) AES), poly(oxyethylen)glycerinmonostearát (např. Tagat(R) S), polyvinylalkohol se stupněm polymerizace 600–700 a stupněm hydrolýzy 85 až 90 % (např. Mowiol(R) 4-88), poly(oxyethylen)–660–ester hydroxystearové kyseliny (např. Solutol(R) HS 15), kopolymer formaldehydu a para–Oktylfenolpoly(oxyethylen)u (např. Tritol(R) 1339), polyoxypropylen–polyoxyethylenblokový kopolymer s molekulovou hmotností asi 12000 s podílem polyoxyethylenu přibližně 70 % hmotn. (např. Lutrol(R) F127) ethoxylovaný cetylstearylalkohol (např. Cremophor(R) A25), ethoxylovaný ricinový olej (např. Cremophor(R) EL).

Obecně může být výroba mikrokapslí prováděna v kontinuálním, polokontinuálním nebo násadovém provedení. Pro polymerizaci se používá kombinace jednoho nebo více stejných nebo

rozdílných reaktorů typu míchaný kotel, proudový reaktor nebo smyčkový reaktor, opatřená vhodným promíchávacím zařízením.

Výroba mikrokapslí plněných plynem umožňuje vhodný násadový reaktor s disperzním zařízením a případně s odpovídajícím přívodem plynu do reakčního média.

V preferovaném provedení tohoto vynálezu se ve výrobním kroku polymerizace přikapává monomer ze skupiny esterů kyanakrylové kyseliny do kyselého vodného roztoku. Přídavek se provádí za takových podmínek, že nedochází k žádnému samovolnému zaplynění.

Jako diskontinuální reaktor je obzvláště vhodná míchaná nádoba s poměrem mezi průměrem a výškou v rozsahu od 0,3 do 2,5, vybavená topným hnízdem.

Míchání se provádí s výhodou míchacím zařízením, kde poměr mezi lopatkami a průměrem reaktoru je v rozmezí od 0,2 do 0,7. Jako míchací zařízení přichází v úvahu jakékoliv míchadlo, obzvláště ovšem takové, které je vhodné pro míchání nízkoviskozních, vodě podobných médií (< 10 mPas). Jako příklad jmenujme vrtulové míchadlo, lopatkové míchadlo, míchadlo s šikmými lopatkami, MIG$^{(R)}$ míchadlo, kotoučové míchadlo apod. Vložení míchadla může být provedeno například vertikálně, ve směru normály povrchu kapaliny reakčního média, ve směru šikmém k normále nebo postranním otvorem. Poslední možnost je dána použitím jímky se zcela bezplynnou náplní, uzavřené před okolní atmosférou.

Dále je možné použití proudových zábran. Tím je zaručeno, že náchylnost otevřeného systému k samozaplynění během přípravy primární disperze bude obzvláště nízká.

K odplynění reakčního média může, ovšem nemusí dojít. Za obvyklých okolností vykazuje reakční médium obsah plynu (plynů) okolní atmosféry v závislosti na teplotě. Celá výroba může být provedena tak, že nedochází k žádnému opticky zjistitelnému nárůstu objemů reakčního média díky příjmu plynů ($\Phi_G << 1\%$).

Kromě toho se dávkování sloučenin společně s dalšími přídavky určenými ke smíchání, míchadlo a rychlost míchání volí tak, aby čas potřebný ke smíchání byl ve srovnání s reakčním časem potřebným pro polymerizační proces velmi malý, což co nejrychleji zajišťuje mikromíchání monomeru v kyselém vodném roztoku.

Díky přehledné hydrodynamice diskontinuální míchané nádoby nedochází při zvýšení laboratorního měřítka na technologické nebo výrobní k žádným potížím, což je výhoda při případném komerčním využití tohoto vynálezu.

Při přiměřeném provedení nedochází ke vzniku pěny. Během polymerizace buď nedochází k žádnému, nebo dochází pouze k velmi malému příjmu plynu a kavitační efekty jsou díky mírným podmínkám míchání vyloučeny. Je tedy možné, s nasazením vhodných on–line procesních sond (např. IR. NIR nebo Ramanovy sondy konverze), které jsou u velmi pěnivých reakčních médií nepoužitelné, snadno sledovat průběh reakce a kontrolovat proces. Dále je možné, po ukončení reakce provést polymerizaci a konvenční off–line analytiku. Tak může být např. určena střední velikost částeček a jejich rozložení.

Další podobně úspěšný způsob výroby částeček s určenou distribucí velikosti spočívá v přídavku monomeru během polokontinuální polymerizace, čímž je cíleně ovlivněna populace částeček generovaná v počáteční fázi polymerizace.

Polymerizace se provádí při teplotách od –10 do 60 °C, s výhodou při teplotách od 0 do 50 °C a obzvláště výhodně při teplotách mezi 10 až 35 °C.

Reakční rychlost polymerizace esteru kyanakrylové kyseliny a tím i střední velikost vznikajících částic může být nastavena kromě teploty, také pH hodnotou v rozsahu od 1 do 4,5, protože je rychlost závislá na přítomnosti a na koncentraci kyselin, např. pomocí kyselin jako jsou kyselina chlorovodíková, fosforečná a/nebo kyselina sírová. Další vliv na rychlost reakce má druh a koncentrace tenzidu a druh a koncentrace přídavných látek.

Monomer se přidává v koncentracích od 0,1 do 60 % hmotn., s výhodou od 0,1 do 10 % k vodnému, většinou kyselému roztoku.

Při provedení reakce podle výše uvedených podmínek je reakční čas mezi 2 min a 2 h a může být sledována mimo jiné reakčních kalorimetrií. Toto široké rozmezí reakční doby je následek flexibilních možností variací volby reakčních parametrů, jimiž lze řídit distribuci velikosti částic vznikajících částeček polymerního latexu. To je hlavním faktorem ovlivňujícím konečný vznik mikrokapslí plněných plynem, který tedy může pozitivně ovlivnit volba vhodných parametrů polymerizace.

Průměr částic polymerního latexu pro zapouzdření plynu, připravených podle tohoto postupu, leží v rozsahu od 10 do 500 nm, s výhodou v rozsahu od 30 do 150 nm, obzvláště výhodně mezi 60 až 120 nm. Připravované polymerní částečky tedy vykazují volitelnou velikost s polydisperzitou nižší než v rozsahu od 1,4 do 1,0 (d_w/d_n).

Problémy se sterilním provedením u této jednoduché reakce nejsou. Pro aseptické zhotovení mikrokapslí je možné podrobit polymerní disperzi sterilní filtraci, takže je aseptické provedení této výroby snadno proveditelné.

Ve spojení s polymerizací může být další výhodou vícestupňového provedení to, že hrubý podíl eventuálně vznikající při polymerizaci může být odstraněn (např. pomocí filtraci), takže tento podíl již dále negativně neovlivňuje výrobní proces mikrokapslí.

Vedle dalších výrobních kroků, jako je například již zmíněné filtrace, je možná také dialýza. Ta dovoluje dále snížit obsah tensidu v primární disperzi. Tensid pak může být v dalším kroku, to jest výrobním procesu zpolymerizovaných latexových částic na mikrokapsle, částečně nebo úplně nahrazen jiným. Kromě toho mohou být přidány další pomocné látky.

Vznik mikrokapslí naplněných plynem se provádí v jednom z dalších kroků pomocí strukturní agregace koloidních polymerních částeček. Tento výrobní krok se provádí prostorově a/nebo časově odděleně od vzniku primární disperze.

Přitom musí být primární disperze třepána v dispergačním zařízení tak, aby fázový podíl plynů Φ_G v reakční směsi byl významně vyšší než 1 % obj., obecně vyšší než 10 % obj. Obsah plynné fáze v médiu je často dokonce vyšší než 50 % obj. S tím je spojeno odpovídající zvýšení objemu reakční směsi. Dochází k intenzivnímu pěnění, které je kvantifikovatelné měřením zákalu pomocí kalových sensorů. Pro vznik plynem plněných mikrokapslí postačí dostatečná dispergace plynného objemu nad vznikajícími tromby.

Mikrokapsle vznikají při teplotách od −10 do 60 °C, s výhodou v rozmezí od 0 do 50 °C a obzvláště výhodně v rozmezí teplot od 10 do 35 °C.

Velikost a rozdělení velikostí těchto mikrokapslí jsou určeny různými procesními parametry, jako jsou střihová síla nebo doba míchání. Průměr plynem plněných mikrokapslí leží v rozsahu od 0,2 do 50 μm, výhodněji mezi 0,5 a 10 μm a obzvláště výhodně mezi 0,5 a 3 μm.

Jako dispergační zařízení je při výrobě plynem plněných mikrokapslí vhodný obzvláště mixer typu stator–rotor, který může vykazovat nejvyšší střihovou sílu. Kromě toho také zaručuje časový rámec potřebný pro vznik mikrokapslí, stejně jako vysoký příjem plynu. Rozměry a výrobní

velikost dispergačního zařízení určuje podstatně rozdělení velikostí částic mikrokapslí, dále jsou jeho dimense určeny velikosti a chladicí kapacitou podniku.

Výhodná možnost vícestupňové výroby podle tohoto vynálezu spočívá v tom, že není nutné podrobit násadu celému procesu. To znamená, že existuje možnost zpracování různých primárních disperzí, které mohou také obsahovat různé polymery, společně na mikrokapsle plněné plynem. Dále může být primární disperze také rozdělena na části, které mohou být poté zpracovány na plynem plněné mikrokapsle. Kromě toho mohou být pro následující krok přidány nezbytné nebo optimálně vhodné pomocné látky. Po ukončení vzniku mikrokapslí zůstávají všechny možnosti otevřené pro další zpracování: např. separace plynem plněných mikrokapslí na základě rozdílu jejich hustoty a kapalného média. Díky dostačující tlakové stabilitě mohou být mikrokapsle podrobeny centrifugaci apod.

Profil vlastností může být obzvláště dobrý díky rozčlenění výrobního procesu na částečné kroky.

Při zvýšení rozsahu výroby se provádí další výhoda ve srovnání se stavem techniky. Přitom jednostupňová provedení spražených procesů smíchání, polymerizace a výstavba mikrokapslí probíhá paralelně a měřítko těchto tří procesů musí být simultánně zvýšeno. Může být výhodně provedeno rozložení celého procesu na jednotlivé kroky, přičemž je snadné zaměřit se na velikost kroků důležitých pro proces, zatímco jednotlivé kroky s menší charakteristickou velikostí jsou potlačeny.

Pro zvýšení měřítka výroby platí totiž vždy, že není možné udržet stejnou velikost všech rozměrů zařízení účastněných v procesu jako je poměr plochy tepelných výměníků k objemu reaktoru (A/V), nebo velikost proměnných jako jsou průměr míchadla k průměru reaktoru ($d_{michadlo}/d_{reaktor}$), obsah plynné fáze (Φ_G), Reynoldsovo kritériu (Re), Nuseltovo kritérium (Nu), Newtonovo kritérium (Ne), Prandtlovo kritérium (Pr), výška reaktoru/průměr reaktoru (h/d) a další. Objevují se také takové proměnné, které vychází z hodnot samotné látky, jako je Prandtlovo kritérium a které při zvýšení objemu výroby nelze postihnout. Ovšem také látkové hodnoty, jako jsou např. tepelná kapacita, hustota, viskozita nebo střední tepelná vodivost použitého reakčního média jsou funkcí relativního obsahu plynné fáze (Φ_G), takže všechny tyto vlastnosti jsou závislé na obsahu plynné fáze.

Důležité veličiny při vzniku primární disperze a výrobě mikrokapslí jsou v této souvislosti, kromě těch základních jako je teplota, receptura apod., také obsah plynné fáze, konkrétní energetický tok a Reynoldsovo kritérium. Posledně zmíněné je samozřejmě důležité pro oba výrobní kroky. Pro výrobní krok vzniku mikrokapslí je díky vysoce specifickému energetickému toku obzvláště důležitá termická kontrola a s tím spojené veličiny jako jsou $Nu(\Phi_G)$, A/V, koeficient přestupu tepla (α), $Pr(\Phi_G)$, apod. Tyto úvahy platí také pro další známé výrobní varianty.

Konkrétní výrobní způsob spočívá ve vytvoření primární disperze v kontinuálním reaktoru, pro což je lepší trubkový reaktor s úzce definovaným časem prodlení než reaktor s nádobou ve tvaru válce. Vhodným výběrem polymerizačních parametrů, geometrie reaktoru a střední doby prodlevy lze pomocí jednoho reaktoru jednoduchým způsobem zajistit, že polymerizace na konci reaktoru plně proběhne. Podobně u vsádkového reaktoru máme možnost využití on–line analytiky.

Dále lze na konci trubkového reaktoru umístit vícestupňový rotor–stator systém pro reakci vzniku mikrokapslí, takže celý proces může proběhnout v jediné aparatuře a oba procesní kroky, vznik polymerní disperze a vznik mikrokapslí, jsou přesto oddělené.

Další výrobní varianty spočívá v použití smyčkového reaktoru, sestávajícího z kontinuální nebo eventuálně diskontinuální rourové nádoby s vnější smyčkou, ve které je umístěno jednostupňové nebo vícestupňové inline dispergační zařízení, popřípadě jedno– nebo vícestupňový rotor–stator systém, který má na starost proudění ve vnější smyčce.

V tomto případě dochází ke vzniku primární disperze buď na obvodu rourové nádoby za středních podmínek míchání při uzavřeném vnějším okruhu, nebo v celém smyčkovém reaktoru při otevřené smyčce, a tedy za podmínek cirkulace, který díky vhodně nastavenému počtu otáček nevykazuje žádné samozaplynění.

Způsob výroby s otevřenou smyčkou nabízí ještě další výhodu, obzvláště výhodně lze dosáhnout mikromíchání monomeru ve vodném roztoku cíleným dávkováním monomeru do rotor–stator zařízení, umístěném v postranní smyčce.

Po ukončení reakce je smyčka buď otevřena, čímž je umožněna reakce výstavby mikrokapslí prostřednictvím integrovaného rotor–stator zařízení, nebo může být otevřena od začátku s tím, že míchací otáčky rotor–stator zařízení jsou odpovídajícím způsobem zvýšeny. Během těchto výrobních kroků může být provedeno samozaplynění obsahu reakční nádoby nad tvorby nebo může dojít k cizorodému zaplynění formou cíleného dávkování do oběhu rotor–stator zařízení. Posledně zmíněné provedení poskytuje výhodu přesně kontrolovatelného oběhu.

Se zřetelem na nejjednodušší možné zvýšení měřítka výroby mikrokapslí jsou všechny jmenované způsoby výroby, smyčkový reaktor se zabudovaným rotor–stator zařízením nebo výroba v trubkovém reaktoru s kontinuálním prouděním, výhodnější než způsob výroby v míchaném reaktoru. Základem proto je, že zvětšení objemu míchané nádoby nebo zvýšení produkovaných objemů v in–line dispergovaném systému nemusí být nutně provedeno odpovídajícím způsobem, nýbrž se může přizpůsobit provozní čas. Další základ proto lze spatřovat ve skutečnosti, že dispergační účiny v rotor–stator zařízení průtočného trubkového reaktoru je obecně snáze kvantifikovatelné než v míchaném reaktoru, čímž se jeví zvýšení měřítka výroby významně výhodnější.

Po ukončení obou reakčních kroků může být reakční obsah dále zpracován.

Doporučuje se oddělení plynem plněných mikrokapslí z reakčního média.

To může být s výhodou provedeno s využitím rozdílné hustoty pomocí flotace nebo centrifugace. Plynem plněné mikrokapsle vytváří v obou případech flotát, který lze lehce oddělit od reakčního média. Získaný flotát může být poté umístěn do fyziologicky přijatelného nosného média, v nejjednodušším případě vody nebo fyziologickém solném roztoku.

Suspenze může být přímo aplikována, eventuálně se doporučuje naředění.

Separační proces může být jednoduchý nebo může být vícenásobně opakován. Cíleným nastavením flotačních podmínek se získávají frakce s definovanou jednotností.

Suspenze jsou stabilní velmi dlouho a mikrokapsle neagregují.

Trvanlivost lze vylepšit díky závěrečnému sušení lyofilizací popřípadě po přídavku polyvinylpyrrolidonu, polyvinylalkoholu, želatiny, albuminu lidského séra nebo jiných v oboru známých kryoprotektorů.

Vynález bude dále popsán pomocí příkladů.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

V 1l skleněném reaktoru s poměrem průměru k výšce 0,5 bylo umístěno 800 ml vody a pH bylo nastaveno na hodnotu 2,5 pomocí přídavku 0,1N kyseliny chlorovodíkové. Za mírného míchání,

s vyloučením zavzdušnění pomocí vrtulového míchadla bylo přidáno 8,0 g Octoxynolu a v míchání bylo pokračováno tak dlouho, dokud se veškerý Octoxynol nerozpustil. Poté bylo za stejných podmínek míchání přidáno během 5 minut 11,20 g butylesteru kyanakrylové kyseliny a roztok byl dále míchán 30 minut. Po této době byla polymerizace ukončena a kvůli odstranění větších polymerních částic byla polymerní disperze zfiltrována. Zfiltrovaná disperze byla míchána 60 minut pomocí míchadla typu rotor–stator při vysoké střižné rychlosti. Během intenzivního míchání došlo k sapozaplynění procesního média, následkem čehož došlo k silnému pěnění. Po ukončení reakce se oddělila vrstva plynem plněných mikrokapslí.

Flotát byl oddělen od reakčního média a byl dán do 600 ml vody pro injekční účely. Na závěr bylo v médiu rozpuštěno 60 g polyvinylpyrrolidonu, suspenze byla rozdělena po 5 gramech a lyofilizována.

Příklad 2

Ve 2l skleněném reaktoru s poměrem průměru k výšce 0,5, opatřeném vnější smyčkou s míchacím zařízením typu rotor–stator, byl umístěn 1 l roztoku 1% Octoxynolu při pH 2,5 a poté bylo přikapáno během 5 minut 14 g butylesteru kyanakrylové kyseliny a roztok byl míchán 30 minut bez přístupu vzduchu do reakční směsi.

Poté byla na 60 minut nastavena cirkulace ve vnější smyčce. Míchadlo ve skleněném reaktoru bylo nastaveno tak, aby docházelo k samozaplynění reakční směsi. Na konci reakce vznikla oddělená vrstva.

Flotát byl oddělen od reakčního média a byl dán do 1,5 l vody pro injekční účely. Na závěr bylo v médiu rozpuštěno 150 g polyvinylpyrrolidonu, suspenze byla rozdělena po 10 gramech a lyofilizována.

Příklad 3

V 50l ocelovém reaktoru s poměrem průměru k výšce 0,5, opatřeném vnější smyčkou s třístupňovým míchacím zařízením typu rotor–stator, bylo umístěno 30 l roztoku 1% Octoxynolu při pH 2,5. Poté bylo přikapáno během 430 g butylesteru kyanakrylové kyseliny přímo do vnější smyčky před míchací zařízení typu rotor–stator, a roztok byl míchán 30 minut bez přístupu vzduchu do reakční směsi. Toto zařízení byl poté provozováno tak, aby docházelo k samozaplynění média. Roztok byl ve vnější smyčce přečerpáván 30 minut.

Poté následovalo cizorodé zaplynění v vnější smyčce se vzduchem přiváděným přímo před vysokou rychlostní běžící míchací zařízení typu rotor–stator. Roztok byl přitom v postranní smyčce pumpován dalších 60 minut. Vznikla oddělená vrstva.

Flotát byl oddělen od reakčního média a byl dán do 35 l vody pro injekční účely. Na závěr bylo v médiu rozpuštěno 3,5 kg polyvinylpyrrolidonu, suspenze byla rozdělena po 7,5 gramech a lyofilizována.

Příklad 4

V 1l skleněném reaktoru s poměrem průměru k výšce 0,5 bylo umístěno 800 ml vody a pH bylo nastaveno na hodnotu 1,50 pomocí přídavku 0,1N kyseliny chlorovodíkové a reakční teplota byla nastavena na 288 K. Za mírného míchání pomocí vrtulového míchadla, bylo s vyloučením zavzdušnění přidáno 8,0 g alkylarylethersulfátu (Disponil AES 72) a v míchání bylo pokračováno tak dlouho, dokud se veškerý tensid nerozpustil. Poté bylo za stejných podmínek míchání přidáno

během 5 minut 11,20 g butylesteru kyanakrylové kyseliny a roztok byl dále míchán 30 minut. Po této době byla polymerizace ukončena a kvůli odstranění větších polymerních částic byla polymerní disperze zfiltrována.

Zfiltrovaná disperze byla zpracovávána na zařízení Ultraturrax při vysokých střižných rychlostech (přibližně 14 000 s^{-1}). Během intenzivního míchání docházelo k automatickému přívodu vzduchu do procesního média, díky čemuž docházelo k silnému vývoji pěny. Po ukončení reakce se oddělila vrstva plynem plněných mikrokapslí.

Flotát byl oddělen od reakčního média a byl dán do 600 ml vody pro injekční účely. Na závěr bylo v médiu rozpuštěno 60 g polyvinylpyrrolidonu, suspenze byla rozdělena po 5 gramech a lyofilizována.

Příklad 5

V 1l skleněném reaktoru s poměrem průměru k výšce 0,5 bylo umístěno 1000 ml vody a pH bylo nastaveno na hodnotu 2,50 pomocí přídavku 0,1N kyseliny chlorovodíkové a reakční teplota byla nastavena na 288 K. Za mírného míchání pomocí vrtulového míchadla, bylo s vyloučením zavzdušnění přidáno 10,0 g polyvinylalkoholu (Mowiol 4–88) a v míchání bylo pokračováno tak dlouho, dokud se veškerý tensid nerozpustí. Poté bylo za stejných podmínek míchání přidáno během 5 minut 14,0 g butylesteru kyanakrylové kyseliny a roztok byl dále míchán 45 minut. Po této době byla polymerizace ukončena a kvůli odstranění větších polymerních částic byla polymerní disperze zfiltrována.

Zfiltrovaná disperze byla zpracovávána na zařízení Ultraturrax při vysokých střižných rychlostech (přibližně 1400 s^{-1}). Během intenzivního míchání docházelo k automatickému přívodu vzduchu do procesního média, díky čemuž došlo k silnému vývoji pěny. Po ukončení reakce se oddělila vrstva plynem plněných mikrokapslí.

Flotát byl oddělen od reakčního média a byl dán do 1500 ml vody pro injekční účely. Na závěr bylo v médiu rozpuštěno 150 g polyvinylpyrrolidonu, suspenze byla rozdělena po 5 gramech a lyofilizována.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Vícestupňový způsob výroby mikrokapslí plněných plynem, **vyznačující se tím**, že se v následujících prostorově nebo/a časově oddělených výrobních stupních

a) polymerizuje monomer tvořící obal za vzniku primární disperze koloidních polymerních částic a

b) koloidní polymerní částice se podrobí strukturní agregaci za vzniku plynem plněných mikrokapslí.

2. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že se polymerizace monomeru provádí za míchání ve vodném roztoku tak, že obsah plynné fáze v míchaném médiu činí méně než 1 % obj.

3. Způsob podle nároků 1 až 2, **vyznačující se tím**, že se tvorba mikrokapslí z primární polymerní disperze za podmínek dispergace provádí tak, že obsah plynné fáze v dispergačním médiu činí více než 1 % obj., s výhodou více než 10 % obj.

4. Způsob podle nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že se polymerizace monomeru provádí v diskontinuální, polokontinuální nebo kontinuální míchací nádobě s poměrem průměru k výšce od 0,3 do 2,5.

5. Způsob podle nároků 1 až 4, **vyznačující se tím**, že se polymerizace monomeru provádí v diskontinuální, polokontinuální nebo kontinuální míchací nádobě s poměrem průměru k výšce od 0,3 do 2,5 s vnější smyčkou, tj. smyčkovém reaktoru, která je vybavena jedno– či vícestupňovou dispergační jednotkou, která je zařazena na počátku reakce či později.

6. Způsob podle nároků 1 až 5, **vyznačující se tím**, že se polymerizace monomeru provádí pomocí vertikálně, šikmo nebo postranně postaveného míchacího zařízení, jehož průměr je v poměru k průměru reaktoru v rozsahu od 0,2 do 0,7.

7. Způsob podle nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že se polymerizace monomeru provádí v kontinuálně provozovaném průtočném trubkovém reaktoru.

8. Způsob podle nároků 1 až 7, **vyznačující se tím**, že se polymerizace monomeru provádí v hydraulicky plněné, od vnější atmosféry oddělené nádobě.

9. Způsob podle nároků 1 až 8, **vyznačující se tím**, že se tvorba mikrokapslí z primární polymerní disperze provádí za použití dispergační jednotky.

10. Způsob podle nároků 1 až 9, **vyznačující se tím**, že se tvorba mikrokapslí z primární polymerní disperze provádí pomocí systému rotor–stator.

11. Způsob podle nároků 1 až 10, **vyznačující se tím**, že se tvorba mikrokapslí z primární polymerní disperze provádí pomocí systému rotor-stator takovým způsobem, že plyn nad reakční směsí je strháván do reakční směsi – samozaplynění nebo/a je plyn do reakční směsi aktivně uváděn – cizorodé zaplynění.

12. Způsob podle nároků 1 až 11, **vyznačující se tím**, že se tvorba mikrokapslí z primární polymerní disperze provádí pomocí systému rotor–stator, který je umístěn v míchací nádobě s poměrem mezi průměrem a výškou mezi 0,3 až 2,5.

13. Způsob podle nároků 1 až 12, **vyznačující se tím**, že se tvorba mikrokapslí z primární polymerní disperze provádí pomocí systému rotor–stator, který je umístěn ve vnější smyčce smyčkového reaktoru.

14. Způsob podle nároků 1 až 13, **vyznačující se tím**, že se ve stupni a) použije jeden nebo více z následujících monomerů: laktid, alkylester akrylové kyseliny, alkylester methakrylové kyseliny a výhodně alkylester kyanakrylové kyseliny.

15. Způsob podle nároků 1 až 14, **vyznačující se tím**, že se ve stupni a) použije jeden nebo více z následujících monomerů: butyl–, ethyl– a izopropyl– kyanakrylát.

16. Způsob podle nároků 1 až 15, **vyznačující se tím**, že se monomer nebo monomery ve stupni a) přidávají v koncentraci od 0,1 do 60 % hmotn., s výhodou od 0,1 do 10 % hmotn., ke kyselému vodnému roztoku.

17. Způsob podle nároků 1 až 16, **vyznačující se tím**, že se ve stupni a) použije jeden nebo více z následujících tenzidů:

alkalické soli alkylarylpoly(oxyethylen)sulfátu, dextran, poly(oxyethylen), poly(oxypropylen)–poly(oxyethylen) blokové polymery, ethoxylované mastné alkoholy, ethoxylované mastné kyse-

liny, alkylfenolpoly(oxyethylen), kopolymery alkylfenolpoly(oxyethylen)u a aldehydů, parciální estery mastných kyselin a sorbitanu, parciální estery mastných kyselin a poly(oxyethylen)-sorbitanu, poly(oxyethylen)ové estery mastných kyselin, ethery mastných alkoholů s poly(oxyethylen)em, estery mastných kyselin se sacharózou nebo polyethylenglykolglycerolester, polyvinylalkoholy, poly(oxyethylen)estery hydroxymastných kyselin, vícevazné alkoholy polyethylenglykolu, parciální estery mastných kyselin.

18. Způsob podle nároků 1 až 16, **vyznačující se tím**, že se ve stupni a) použije jeden nebo více z následujících tenzidů:

ethoxylovaný nonylfenol, ethoxylovaný oktylfenol, kopolymer aldehydů a oktylfenolpoly(oxyethylen)u, ethoxylovaný parciální ester mastné kyseliny a glycerinu, ethoxylovaný hydrogenovaný ricinový olej, poly(oxyethylen)–hydroxystearát, poly(oxypropylen)–poly(oxyethylen) blokový polymer s molekulovou hmotností < 20 000.

19. Způsob podle nároků 1 až 16, **vyznačující se tím**, že se ve stupni a) použije jeden nebo více z následujících tenzidů:

para–oktylfenol–poly(oxyethylen) s v průměru 9 až 10 ethoxyskupinami, para–nonylfenol–poly-(oxyethylen) s v průměru 30/40 ethoxyskupinami, sodná sůl para–nonylfenolpoly(oxyethylen)-sulfátu s v průměru 28 ethoxyskupinami, poly(oxyethylen)glycerinmonostearát, polyvinylalkohol se stupněm polymerizace 600 až 700 a stupněm hydrolýzy 85 až 90 %, poly(oxyethylen)–660–ester hydroxystearové kyseliny, kopolymer formaldehydu a para–oktylfenolpoly(oxyethylen)u, polyoxypropylen–polyoxyethylen blokový kopolymer s molekulovou hmotností 12 000 a podílem polyoxyethylenu 70 % hmotn., ethoxylovaný cetylstearylalkohol, ethoxylovaný ricinový olej.

20. Způsob podle nároků 1 až 19, **vyznačující se tím**, že se tenzid nebo tenzidy použijí ve stupni a) v koncentraci od 0,1 do 10 % hmotn.

21. Způsob podle nároků 1 až 20, **vyznačující se tím**, že se alespoň jeden výrobní stupeň provádí ve vodném kyselém roztoku.

22. Způsob podle nároků 1 až 21, **vyznačující se tím**, že se při přípravě vodného kyselého roztoku používají následující kyseliny: kyselina chlorovodíková, kyselina fosforečná nebo/a kyselina sírová.

23. Způsob podle nároků 1 až 22, **vyznačující se tím**, že se ve stupni a) použije přídavná látka nebo přídavné látky v koncentraci od 0,1 do 10 % hmotn.

24. Způsob podle nároků 1 až 23, **vyznačující se tím**, že se polymerizace a tvorba mikrokapslí provádí při teplotách od –10 do 60 °C, s výhodou při teplotách mezi 0 a 50 °C a obzvláště výhodně při teplotách od 10 do 35 °C.

25. Způsob podle nároků 1 až 24, **vyznačující se tím**, že se plynem plněné mikrokapsle oddělí od reakčního média, vloží se do fyziologicky přijatelného média a po případném přídavku kryoprotektoru se lyofilizují.

26. Způsob podle nároků 1 až 25, **vyznačující se tím**, že se jako fyziologicky přijatelné médium pro vložení flotátu použije voda nebo 0,9% roztok chloridu sodného.

27. Způsob podle nároků 1 až 26, **vyznačující se tím**, že se jako kryoprotektor použije polyvinylpyrrolidon, polyvinylalkohol, želatina nebo/a albumin lidského séra.

Konec dokumentu