

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 935396 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 935396

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification (IPC⁶)
A61K 49/04

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 02.12.1993

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 02.12.1993

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 18.06.1994

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 13.06.2019

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

17.12.1992 US 991909

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • NanoSystems L.L.C., 1250 South College Road, Collegeville, PA 19426, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Na, George C., USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 • Rajagopalan, Natarajan, Phoenixville, PA 19460, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Uudet nanopartikkelien muodossa olevat, veren röntgenvarjoainekoostumukset, joissa on suuren molekyyllipainon pinta-aktiivista ainetta

Nya kompositioner för blodets röntgenkontrastmedel, vilka är i form av nanopartiklar och innehåller ytaktivt medel med hög molekylvikt

Uudet nanopartikkelien muodossa olevat veren röntgenvarjoainekoostumukset, joissa on suuren molekyyllipainon pinta-aktiivista ainetta

5 Keksinnön kenttä

Keksintö koskee röntgenvarjoainekoostumuksia, joihin on adsorboitunut pinta-aktiivista ainetta, ja menetelmää niiden valmistamiseksi ja käyttämiseksi.

Keksinnön tausta

10 Röntgenkuvaus on hyvin tunnettu ja erittäin arvokas työkalu erilaisten tautitilojen varhaiseen havaitsemiseen ja diagnosointiin ihmiskehossa. Varjoaineiden käyttö kuvan parantamiseen lääketieteellisissä röntgenkuvausmenettelyissä on laajalle levinnyttä. Eräs erinomainen taustatietoesitys varjoaineista ja väliaineista lääketieteellisessä kuvauksessa esitetään teoksessa D. P. Swanson et al., Pharmaceuticals in Medical Imaging, 1990, MacMillan Publishing Company.

20 Lyhyesti, röntgenkuvauksessa käytetään läpi kulkenutta säteilyä röntgenkuvan tuottamiseen kudoksen yleisvaimennusominaispiirteiden pohjalta. Röntgensäteet kulkevat erilaisten kudosten läpi ja heikkenevät johtuen sironnasta, ts. heijastumisesta tai taittumisesta tai energiaabsorptiosta. Määrätyillä kehon elimillä, verisuonilla ja anatomisilla kohdilla on kuitenkin niin vähäinen röntgensäteilyn absorptio, että röntgenkuvien saaminen näistä kehonosista on vaikeaa. Tämän ongelman voittamiseksi röntgenfyysikot lisäävät tällaisiin kehonelimiin, verisuoniin ja anatomisiin kohtiin rutiininomaisesti röntgensäteitä absorboivaa väliainetta, joka sisältää varjoainetta.

30 Tärkeimpien verisuonten näkymisen maksimaalinen lisäys tapahtuu röntgenvarjoväliainekinetiikan nk. verisuonivaiheessa, joka tapahtuu ensimmäisten noin kahden minuutin aikana röntgenvarjoväliaineiden verisuonensisäisen infuusion tai bolusinjektion jälkeen. Tämä johtuu sii-

tä, että verisuonensisäisen varjoaineen plasmakonsentraatio alenee nopeasti johtuen verisuonistossa sekoittumisesta, väliaineen diffuusiosta verenkierrosta hiussuonten läpi välitiloihin, ja munuaisten kautta tapahtuvasta erittymisestä. Seurauksena vesisuonten kuvauksen on tapahduttava lyhyen ajan kuluessa, tyypillisesti muutaman minuutin sisällä röntgenvarjoaineen infuusion tai injektion jälkeen.

Olisi toivottavaa aikaansaada parannettuja röntgenvarjoainekoostumuksia verisuonten, anatomisten kohtien ja kehon elinten, kuten maksan ja pernan, kuvaamiseen. Lisäksi olisi erittäin toivottavaa aikaansaada laskimonsisäisesti annettavia röntgenvarjoainekoostumuksia, joilla olisi tehokas veren kuvaus pidennetyillä ajanjaksoilla.

Veteenliukenemattomien röntgenvarjoaineiden pinta-modifioidut kiteiset nanopartikkelit aikaansaavat kuvia poikkeuksellisella erotuskyvyllä, ja ne voidaan formuloida vapautumaan lisääntyneessä määrin erityiseen kudokseen tai nestekohtiin, esimerkiksi vereen, maksaan, munuaisiin, luuytimeen, imusolmukkeisiin ja pernaan. Lisäksi edulliset röntgenvarjoaineet aikaansaavat laskimonsisäisesti annettaessa verisuonistossa olevan veren tehokkaan kuvauksen merkittävän pitkien ajanjaksojen ajan.

Nanopartikkelit kuvattiin ensin US-patenttijulkaisussa 5 145 684. Nämä partikkelit koostuvat kiteisestä lääkeaineesta, jossa on partikkelien pinnalle adsorboitua pinnanmodifioijaa siten, että keskimääräinen partikkelikoko on alle noin 400 nm.

Jodia sisältävät aineet, jotka ovat erillisten nanopartikkelien muodossa dispergoituna vain tässä myöhemmin määritellyllä pinta-aktiivisella Tetronic-aineella, kuten T-908, voivat pysyä veressä tunteja ja antaa tyydyttävät kuvaustulokset.

Suspension autoklaavisteriloinnin saavuttamiseksi vaaditaan kuitenkin usein anionista pinta-aktiivista ai-

netta, kuten dioktyylisulfosukkinaatti (DOSS), tai anionista fosfolipidiä, kuten dimyristoyylifosfatidyylyglyseroli (DMPG). Ionisen pinta-aktiivisen aineen/fosfolipidin aiheuttamat varaukset johtavat kuitenkin lääkkeen nopeampaan erittymiseen ja huonoihin kuvaustuloksiin.

5

Laskimonsisäisesti injisoitujen nanopartikkelien veressäviipymisaika on käänteisesti suhteessa nanodispersioiden zeetapotentiaaliin. Suuren zeetapotentiaalin omaavilla nanopartikkeleilla on taipumus puhdistua verestä aikaisemmin, luultavasti retikuloendoteelijärjestelmästä (RES) johtuen.

10

Tämän varausvaikutuksen voittamiseksi testattiin eri pinta-aktiivisilla aineilla, mukaan lukien Tetronic-sarjan pinta-aktiivisilla aineilla, dispergoitujen nanopartikkelien zeetapotentiaali. Havaittiin, että tämän jälkeen määritellyillä Tetronic-sarjan pinta-aktiivisilla aineilla DOSS:n tai DMPG:n läsnä ollessa dispergoitujen nanopartikkelien zeetapotentiaalit ovat käänteisesti suhteessa pinta-aktiivisten aineiden molekyylimassaan, ts. suuremman molekyylimassan pinta-aktiivisilla aineilla on pienemmät (absoluuttinen arvo) zeetapotentiaalit ja siten voimakkaampi kyky peittää hiukkasen varaukset.

15

20

Nämä tulokset johtivat suurempimolekyylimassaisen pinta-aktiivisen aineen käytön konseptiin jotta voitettaisiin varausvaikutus, jonka formulaatioon lisätty ionilaji aiheuttaa. Etyyli-3,5-diasetoamido-2,4,6-trijodibentsoaattilla, T-1508, testattaessa Tetronic-sarjan suurimman molekyylimassan omaavan pinta-aktiivisen aineen käyttö antoi joko DOSS:n tai DMPG:n läsnä ollessa alhaisimman zeetapotentiaalin omaavat nanopartikkelit.

25

30

Keksinnön mukaisesti aikaansaadaan koostumus, joka sisältää röntgendiagnostista yhdistettä sisältäviä nanopartikkeleita, joiden pinnalle on adsorboitu pinnanmodifioijaksi suurimolekyylimassaista pinta-aktiivista ainetta

ja tämän kanssa assosioitunutta samenenispisteenmodifioijaa.

Edelleen eräässä näkökannassa keksintö aikaansaa tavan tehdä nanopartikkeleita, jotka sisältävät röntgen-
 5 diagnostista yhdistettä, ja joiden pinnalle on adsorboitu pinnanmodifioijaksi suurimolekyyli-
 massaista pinta-aktiivista ainetta ja tämän kanssa assosioitunutta samenenispisteenmodifioijaa, joka tapa käsittää vaiheet, joissa:

(i) saatetaan mainittu röntgendiagnostista yhdis-
 10 tettä sisältävä nanopartikkeli kontaktiin mainitun suuri-
 molekyyli-
 massaisten pinta-aktiivisen aineen kanssa ajan ja olosuhteissa, jotka ovat riittävät muodostamaan nanopartikkelin, jonka pinnalle on adsorboitunut pinnanmodifioijaa; ja

(ii) saatetaan mainittu pinnalleen adsorboitunutta pinnanmodifioijaa sisältävä nanopartikkeli kontaktiin mai-
 nitun samenenispisteenmodifioijan kanssa ajan ja olosuhteissa, jotka ovat riittävät muodostamaan nanopartikkelia, jotka sisältävät röntgendiagnostista yhdistettä, ja joiden
 20 pinnalle on adsorboitu pinnanmodifioijaksi suurimolekyyli-
 massaista pinta-aktiivista ainetta ja tämän kanssa assosioitunutta samenenispisteenmodifioijaa.

Keksinnön eräässä toisessa suoritusmuodossa aikaan-
 saadaan tapa tehdä nanopartikkeleita, jotka sisältävät
 25 röntgendiagnostista yhdistettä, ja joiden pinnalle on adsorboitu pinnanmodifioijaksi suurimolekyyli-
 massaista pinta-aktiivista ainetta, esimerkiksi pinta-aktiivista poloksamiinia, jonka molekyylimassa on ainakin noin 30 000, jossa tavassa röntgendiagnostista yhdistettä si-
 30 sältävä nanopartikkeli saatetaan kontaktiin suurimolekyyli-
 massaisten ionittoman pinta-aktiivisen aineen kanssa ajan ja olosuhteissa, jotka ovat riittävät muodostamaan nanopartikkelin, jonka pinnalle on adsorboitu pinnanmodifioijaa.

Edelleen keksintö aikaansaa diagnostisen kuvausmenetelmän käytettäväksi lääketieteellisissä menettelytavoissa, jossa menetelmässä annetaan röntgensädettä tarvitsevan testikohteen kehoon tehokas, kontrastin tuottava määrä koostumusta, joka sisältää nanopartikkeleita, jotka sisältävät röntgendiagnostista yhdistettä, ja joiden pinnalle on adsorboitu pinnanmodifioijaksi suurimolekyyli-
 5 saista pinta-aktiivista ainetta ja tämän kanssa assosioitunutta samenenemispisteenmodifioijaa.

10 **Keksinnön tarkka kuvaus**

Keksinnön mukainen röntgenvarjoainekoostumus käsittää röntgenvarjoaineen partikkeleita, joiden pinnalle on adsorboitu suurimolekyyli-
 edullisesti määrä, joka on riittävä ylläpitämään tehokkaan
 15 keskimääräisen partikkelikoon alle 400 nm, ja sen kanssa assosioitunutta samenenemispisteenmodifioijaa.

Keksinnön toteutuksessa käyttökelpoinen röntgenvarjoaine on ei-radioaktiivista ja esiintyy orgaanisen aineen erillisenä, kiteisenä faasina. Kiteinen faasi poikkeaa amorfisesta tai ei-kiteisestä faasista, joka on tuloksena liuotinsaostustekniikoista, kuten US-patenttijulkaisussa 4 826 689 kuvatuista. Orgaaninen aine voi olla läsnä yhdessä tai useassa sopivassa kiteisessä faasissa. Keksintö voidaan toteuttaa suurella joukolla kiteisiä, ei-radioaktiivisia röntgenvarjoaineita. Röntgenvarjoaineen on kuitenkin oltava niukkaliukoista ja ainakin yhteen nesteväli-
 20 aineeseen dispergoituvaa. Käsite "niukkaliukoinen" tarkoittaa tässä käytettäessä, että aineen liukoisuus nestemäiseen dispersioon, esimerkiksi veteen on alle noin
 25 10 mg/ml ja edullisesti alle noin 1 mg/ml. Edullinen nestemäinen dispersioväliaine on vettä. Lisäksi keksintö voidaan toteuttaa muilla nestemäisillä väliaineilla, joihin valittu röntgenvarjoaine on niukkaliukoista ja dispergoituvaa, mukaan lukien esimerkiksi vesipohjaiset suolaliuokset, kuten fosfaattipuskuroitu suolaliuos (PBS), plasma,
 30
 35

vesipohjaisten ja vedettömien liuosten seokset, esimerkiksi vesi ja alkoholi, ja sopivat vedettömät liuottimet kuten alkoholi, glyseroli ja vastaavat.

5 Keksinnön mukaisessa koostumuksessa käyttökelpoisia diagnostisia aineita ovat mm. ne, jotka kuvataan US-patenttijulkaisussa 5 145 684 ja julkaistun EP-hakemusjulkaisun 0 498 492 selityksessä. Erästä edullista diagnostista ainetta on röntgenkuvausaine etyyli-3,5-diasetoamido-2,4,6-trijodibentsoaatti.

10 Keksinnön toteutuksessa käyttökelpoiset partikkelit sisältävät pinnanmodifioijaa. Tässä käyttökelpoiset pinnanmodifioijat tarttuvat fysikaalisesti röntgenvarjoaineen pinnalle, mutteivät reagoi aineen tai itsensä kanssa kemiallisesti. Yksittäin adsorboidut pinnanmodifioijan molekyylit ovat oleellisen vapaita molekyylien välisistä silloituksista. Tässä käytettäessä käsite "suurimolekyyli-

15 sainen pinta-aktiivinen aine" tarkoittaa mitä tahansa pinta-aktiivista ainetta, jonka molekyylimassa on yli 4 000. Edullisia suurimolekyyli-

20 massaisia pinnanmodifioijia (pinta-aktiivisia aineita) ovat ionittomat, ja niissä on polyetyleenioksidiketju(ja) hydrofiilisenä segmenttinä. Eri-

25 tyyseen edulliset pinta-aktiiviset aineet sisältävät yhden tai useita polyetyleeniglykoli (PEG) -ketjuja, muodostaen molekyylin hydrofiilisen segmentin, PEG-ketjun molekyylimassan ollessa yli 4 000. Pinta-aktiivisen aineen hydrofobinen segmentti voi olla alkyyli-, asyyli-, alkyylifeno-

30 li-, polypropyleenioksidi- tai diasyylifosfatidyyli-ryhmä. Pinta-aktiivisia aineita, joissa on polypropyleenioksidi-

35 segmentti, ovat mm. poloksamiinit, kuten Tetronic T-908 ja Tetronic T-1508 (tunnetaan myös nimillä poloksamiini 908 ja poloksamiini 1508), jotka ovat tetrafunktionaalisia blokkikopolymeerejä, jotka ovat peräisin propyleenioksidin ja etyleenioksidin peräkkäisestä lisäyksestä etyleenidi-

amiiniin, ja ovat saatavissa yhtiöstä BASF. Pinta-aktiivisia aineita, jossa on alkylfenoliryhmä hydrofobina, ovat

mm. ICONOLS™ NP-50, NP-70, NP-100, OP-10, OP-30 ja OP-40, jotka ovat saatavissa yhtiöstä BASF. Pinta-aktiivisia aineita, jossa on diasyylifosfatidyyli-ryhmä hydrofobina, ovat mm. dipalmityylifosfatidyylietanoliinipolyetyleeninioksidi-5000, joka on saatavissa yhtiöstä Avanti. Edullisten pinta-aktiivisten aineiden molekyylimassa on yli 4 000, edullisesti yli 5 000, edullisemmin yli 20 000 ja erityisesti yli noin 30 000. Edulliset pinta-aktiiviset aineet voivat esimerkiksi sisältää yhden tai useita polyetyleeninioksidiketjuja, joiden molekyylimassa on yli 4 000, edullisimmin yli noin 30 000. Edullisia pinnanmodifioijia voivat olla tunnetut ionittomat pinta-aktiiviset aineet, mukaan lukien poloksamiinit, kuten T-908 tai erityisesti T-1508.

Pinnanmodifioijat ovat kaupallisesti saatavia ja/tai voidaan valmistaa tekniikan tasolla tunnetuilla tekniikoilla. Voidaan käyttää kahden tai useamman pinnanmodifioijan yhdistelmää.

Keksinnön mukaiset röntgenvarjoainekoostumukset käsittävät edellä kuvattuja partikkeleita ja sitä varten tarkoitettua väliainetta. Partikkelit voidaan esimerkiksi dispergoida vesipohjaiseen nesteeseen, joka toimii röntgenvarjoaineen väliaineena. Muita sopivia väliaineita ovat mm. nestemäiset väliaineet, kuten vesipohjaisten ja vedettömien liuottimien seokset, esimerkiksi veden ja alkoholin, ja sopivat vedettömät liuottimet, kuten alkoholi; geelit; kaasut, kuten ilma; ja jauheet. Röntgenvarjoainekoostumus voi käsittää noin 1 - 99,9 %, edullisesti 2 - 45 % ja edullisemmin 10 - 25 paino-% edellä kuvattuja partikkeleita, koostumuksen loppuosan ollessa väliainetta, lisäaineita ja vastaavia. Huomioon otetaan koostumukset, jotka sisältävät jopa noin 100 paino-% partikkeleita, kun koostumus on lyofilisoidussa muodossa.

Keksinnön toteutuksessa käyttökelpoiset nanopartikkelit voidaan valmistaa menetelmillä, jotka kuvataan US-

patenttijulkaisussa 5 145 684. Seuraavaksi esitetään eräs yleinen menettelytapa keksinnön toteutuksessa käyttökel-

poisten partikkelien valmistamiseksi. Valittu diagnostinen aine on kaupallisesti saatavaa ja/tai valmistetaan edellä

5 kuvatuilla, tekniikan tasolla tunnetuilla tekniikoilla, tavanomaiseen karkeaan muotoon. On edullista muttei välttämätöntä, että valitun karkean diagnostisen aineen partikkelikoko on alle noin 100 μm seula-analyysillä määritettynä. Jos tämän aineen karkea partikkelikoko on yli

10 noin 100 μm , niin on edullista pienentää diagnostisen aineen partikkelien koko alle 100 μm :iin tavanomaista jauhamismenetelmää, kuten ilmasuihku- tai fragmentointijauhamista, käyttämällä.

Sitten valittu karkea diagnostinen aine voidaan

15 lisätä esiseoksen muodostamiseksi nesteväliaineeseen, johon se on oleellisen liukenematonta. Diagnostisen aineen konsentraatio nesteväliaineessa voi vaihdella välillä noin 0,1 - 60 %, ja on edullisesti 5 - 30 % (paino/paino). On edullista muttei välttämätöntä, että esiseoksessa on läsnä

20 pinnanmodifioijaa. Pinnanmodifioijan konsentraatio voi vaihdella välillä noin 0,1 - 90 % ja on edullisesti 1 - 75 %, edullisemmin 10 - 60 % ja edullisimmin 10 - 30 % lääkeaineen ja pinnanmodifioijan yhdistetystä kokonaispainosta. Esiseossuspension näennäinen viskositeetti on edullisesti alle noin 1 000 cP.

25

Esiseosta voidaan käyttää suoraan märkäjauhamalla keskimääräisen partikkelikoon pienentämiseksi dispersiossa alle 400 nm:iin. On edullista käyttää esiseosta suoraan, kun jauhamiseen käytetään kuulamylyä. Vaihtoehtoisesti

30 diagnostinen aine ja mahdollisesti pinnanmodifioija voidaan dispergoida nesteväliaineeseen käyttäen sopivaa sekoitusta, esimerkiksi telamylyä tai Cowles-tyyppistä sekoitinta, kunnes havaitaan homogeeninen dispersio, jossa ei ole paljain silmin nähtäviä suuria agglomeraatteja.

35 Edullisesti esiseos alistetaan tällaiselle esijauhamisdis-

persiovaiheelle, kun jauhamiseen käytetään uudelleenkierrätettäviä väliaineita.

Märkäjauhaminen voi tapahtua missä tahansa sopivassa dispersiomylllyssä, mukaan lukien esimerkiksi kuulamylllyssä, atriittorissa, tärymylllyssä, ja väliainemylllyissä, kuten hiekkamylllyssä ja helmimylllyssä. Väliainemyllly on edullinen johtuen suhteellisesti lyhyemmästä jauhamisajasta, joka vaaditaan aiotun tuloksen, ts., halutun partikkelikoon pienenemisen aikaansaamiseen. Väliainejauhatuksessa esiseoksen näennäinen viskositeetti on edullisesti noin 100 - 1 000 cP. Kuulamylllyjauhatuksessa esiseoksen näennäinen viskositeetti on edullisesti noin 1 - jopa 100 cP. Tällaisilla alueilla on taipumus antaa partikkelin tehokkaan fragmentoinnin ja väliaineiden eroosion optimaalisen tasapainon.

Partikkelikoon pienentämisvaiheen jauhamisväliaineet voivat olla jäykkiä väliaineita, edullisesti pallomaisia tai erillisten hiukkasten muodossa, joiden keskimääräinen koko on alle noin 3 mm ja edullisemmin alle noin 1 mm. Tällaiset väliaineet voivat halutulla tavalla aikaansaada keksinnön mukaisia partikkeleita lyhyemmillä käsittelyajoilla ja aiheuttaa jauhamislaitteistossa vähemmän kulumista. Jauhamisväliaineeseen tarkoitettua materiaalin valintaa ei pidetä kriittisenä. Edullisten väliaineiden tiheys on kuitenkin yli noin 3 g/cm^3 . Zirkoniumoksidi, kuten 95-%:inen ZrO , joka on stabiloitu magnesiumoksidilla, zirkoniumsilikaatti ja lasijauhamisväliaineet aikaansaavat partikkeleita, joilla on kontaminaatiotasot, joiden uskotaan olevan hyväksyttäviä terapeuttisten tai diagnostisten koostumusten valmistukselle. Muiden väliaineiden, kuten ruostumattoman teräksen, titaanidioksidin, alumiinioksidin, ja yttriumilla stabiloidun 95-%:isen ZrO :n uskotaan kuitenkin olevan käyttökelpoisia.

Jauhamisaika voi vaihdella suuresti ja riippuu ensi sijassa erityisestä valitusta märkäjauhamismylllystä. Kuu-

lamilyllyillä voidaan vaatia käsittelyaikoja jopa 5 päivää tai yli. Toisaalta alle 1 päivän käsittelyajat (viipymäajat noin 1 min - jopa useita tunteja) ovat saaneet aikaan halutut tulokset suurileikkauksisia väliainemyllyjä käytettäessä.

5

Partikkelien koko on pienennettävä lämpötilassa, joka ei merkittävästi hajota diagnostista ainetta. Tavallisesti edullisia ovat käsittelylämpötilat alle noin 30 - 40 °C. Haluttaessa käsittelylaitteistoa voidaan jäähdyttää tavanomaisella jäähdytyslaitteistolla. Menetelmä suoritetaan mukavasti ympäristön lämpötilan olosuhteissa ja käsittelypaineissa, jotka ovat turvalliset ja tehokkaat jauhamisprosessia varten. Esimerkiksi ympäristön käsittelypaineet ovat tyypillisiä kuulamyllyille, atriittoreille ja tärymyllyille. Väliainemyllyille ovat tyypillisiä käsittelypaineet jopa noin 140 kPa.

10

15

Ellei pinnanmodifioijaa ja samenenemispisteenmodifioijaa ole läsnä esiseoksessa, niitä voidaan lisätä jauhamisen jälkeen dispersioon esiseokselle kuvattu määrä. Sen jälkeen dispersio voidaan sekoittaa esimerkiksi ravistamalla voimakkaasti. Mahdollisesti dispersio voidaan alistaa sonikointivaiheelle, esimerkiksi käyttämällä ultraäänitehonsyöttöä. Dispersio voidaan esimerkiksi alistaa ajan noin 1 - 120 s ultraäänienenergialle, jonka taajuus on 20 - 80 kHz.

20

25

Diagnostisen aineen ja pinnanmodifioijan suhteellinen määrä voi vaihdella suuresti, ja pinnanmodifioijan optimaalinen määrä voi riippua esimerkiksi valitusta erityisestä diagnostisesta aineesta ja pinnanmodifioijasta, pinnanmodifioijan kriittisestä misellikonsentraatiosta mikäli se muodostaa misellejä, stabilisaattorin hydrofiilinen/lipofiilinen-tasapainosta (HLB), stabilisaattorin sulamispisteestä, sen vesiliukoisuudesta, stabilisaattorin vesiliuosten pintajännityksestä ja vastaavista seikoista.

30

Edullisesti pinnanmodifioijaa on läsnä määrä noin 0,1 - 10 mg/m² diagnostisen aineen pinta-alaa.

Tässä käytettäessä partikkelikoko viittaa keskimääräiseen partikkelikokoon mitattuna ammattimiesten hyvin tuntemilla tavanomaisilla partikkelikoonmittaustekniikoilla, kuten sedimentointikenttävirtausfraktioinnilla, fonikorrelaatio-spektroskopiaalla tai kiekkosentrifugoinnilla. Ilmaisus "tehokas keskimääräinen partikkelikoko alle noin 400 nm" tarkoittaa, että ainakin 90 %:lla partikkeleista on partikkelikoko alle noin 400 nm edellä mainituilla tekniikoilla mitattuna. Keksinnön edullisissa suoritusmuodoissa tehokas keskimääräinen partikkelikoko on alle noin 300 nm ja edullisemmin alle noin 250 nm. Keksinnön joissain suoritusmuodoissa voidaan saavuttaa tehokas keskimääräinen partikkelikoko alle noin 200 nm. Tehokkaaseen keskimääräiseen partikkelikokoon viitaten, edullisesti ainakin 95 %:lla ja edullisemmin ainakin 99 %:lla partikkeleista on tehokasta keskimääräistä partikkelikokoa pienempi partikkelikoko, esimerkiksi 400 nm. Erityisen edullisissa suoritusmuodoissa oleellisesti kaikkien partikkelien koko on alle 400 nm. Joissain suoritusmuodoissa oleellisesti kaikkien partikkelien koko on alle 250 nm.

Menetelmä keksinnön mukaisen nanopartikkelikoostumuksen valmistamiseksi sisältää vaiheet, joissa lisätään jauhamisastiaan diagnostista ainetta, nesteväliainetta, jauhamisväliaineita ja mahdollisesti pinnanmodifioijaa; diagnostinen aine märkäjauhetaan partikkelikoon alentamiseksi alle noin 400 nm:iin; ja erotetaan partikkelit ja mahdollisesti nesteväliaine jauhamisastiasta, ja jauhamisväliaineet, esimerkiksi imupullolla suodattamalla, suodattamalla tai haihduttamalla. Jos pinnanmodifioija ei ole läsnä märkäjauhatuksen aikana, se voidaan sekoittaa partikkelien kanssa tämän jälkeen. Nesteväliaine, useimmiten vesi, voi toimia farmaseuttisesti hyväksyttävänä väliaineena. Menetelmä suoritetaan edullisesti aseptisissä olo-

suhteissa. Tämän jälkeen nanopartikkelikoostumus aliste-
taan edullisesti sterilointiprosessille.

5 Sterilointi voi tapahtua anionisten pinta-aktiivis-
ten aineiden, kuten DOSS:n, tai anionisten fosfolipidien,
kuten DMPG:n, läsnä ollessa.

10 Samenemispiste on lämpötila, jossa pinnanmodifioija
(pinta-aktiivinen aine) saostuu edellä kuvatusta liuokses-
ta. Anioniset pinta-aktiiviset aineet ja anioniset fosfo-
lipidit toimivat samenemispisteenmodifioijina. Ilmais-
15 "samenemispisteenmodifioija" tarkoittaa tässä käytettäessä
yhdistettä, joka vaikuttaa pinnanmodifioijien samenemis-
pisteeseen. Erityisesti keksinnön mukaisesti käyttökelpoi-
set samenemispisteenmodifioijat kohottavat nanopartikke-
leille adsorboituneiden pinnanmodifioijien samenemispis-
15 tettä. Tällä tavalla pinnanmodifioijat eivät erotu nano-
partikkelien pinnalta autoklavointiin käytetyissä lämpöti-
loissa. Sen vuoksi näin modifioidut nanopartikkelit eivät
agglomeroidu sterilointiprosessin aikana ja säilyttävät
20 täten tehokkaat keskimääräiset partikkelikokonsa alle noin
400 nm steriloinnin jälkeen.

Edullisia ionittomia samenemispisteenmodifioijia
ovat mm. polyetyleeniglykolit, propyleeniglykoli, etanoli
ja syklodekstriini. Edullisia ionisia samenemispisteenmo-
25 difioijia ovat mm. ioniset pinta-aktiiviset aineet, esi-
merkiksi natriumdodekyylisulfaatti, DOSS ja setrimidi, ja
varautuneet fosfolipidit, esimerkiksi DMPG, kardiolipiini
ja dimyristoyylifosfatidyyliiseriini. Samenemispisteenmodi-
fioijaa voi olla läsnä määrä noin 0,01 - 20 %, edullisesti
0,05 - 10 % ja edullisimmin 0,1 - 10 %.

30 Annettava varjoaineen annos voidaan valita ammatti-
miesten hyvin tuntemilla tekniikoilla siten, että saadaan
riittävä kontrastia lisäävä vaikutus. Tyypilliset annokset
voivat useisiin kuvaussovellutuksiin olla alueella 50 -
350 mg jodia/kg kohteen kehonpainoa. Joihinkin sovellutuk-
35 siin, esimerkiksi imusolmukkeiden kuvaukseen, voivat te-

hokkaita olla pienemmät annokset, esimerkiksi 0,5 - 20 mg jodia/kg.

Röntgenvarjoainekoostumus voi sisältää yhtä tai useaa tavanomaista lisäainetta, joita käytetään kontrolloimaan ja/tai parantamaan röntgenvarjoaineen ominaisuuksia. Voidaan lisätä esimerkiksi sakeutusaineita, kuten dekstraania tai ihmisen seerumialbumiinia, puskurointiaineita, viskositeetinsäätelyaineita, suspendoimisaineita, peptisoimisaineita, hyytymisenestoaineita, sekoitusaineita, ja muita lääkkeitä ja vastaavia. Osittainen luettelo määrättyistä erityisistä lisäaineista sisältää kumit, soke-rit kuten dekstraani, ihmisen seerumialbumiini, gelatiini, natriumalginaatti, agar, dekstriini, pektiini ja natriumkarboksimeetyyliselluloosa. Keksinnön mukaisiin koostumuksiin voidaan lisätä tällaisia lisäaineita, pinta-aktiivisia aineita, säilöntäaineita ja vastaavia.

Eräs diagnostinen kuvausmenetelmä keksinnön mukaisissa lääketieteellisissä menettelytavoissa käytettäväksi käsittää edellä kuvatun röntgenvarjoainekoostumuksen tehokkaan, kontrastin tuottavan määrän antamisen röntgensädetttä tarvitsevan testikohteen kehoon. Ihmispotilaiden lisäksi testikohde voi olla mm. nisäkäslaji, kuten kanit, koirat, kissat, apinat, lampaat, siat, hevoset, nautaeläimet ja vastaavat. Tämän jälkeen ainakin osa annettua varjoainetta sisältävästä kehosta alistetaan röntgensäteille varjoaineen läsnäoloa vastaavan röntgenkuvan tuottamiseksi. Sitten kuva voidaan visualisoida. Voidaan esimerkiksi käyttää tavanomaisella tavalla mitä tahansa röntgenhavainnollistamistekniikkaa, edullisesti suuren kontrastin tekniikkaa kuten tietokoneavusteista tomografiaa. Vaihtoehtoisesti kuva voidaan havaita suoraan röntgensädeherkällä fosforivarjostin/hopeahalogenidivalokuvausfilmi-yhdistelmällä.

Keksinnön mukaiset koostumukset voidaan antaa erilaisia reittejä riippuen menettelytavan tyypistä ja tut-

kittavan kudoksen anatomisesta orientaatiosta. Sopivia antoreittejä ovat mm. suonensisäinen (valtimon- tai laskimonsisäinen) anto katetrilla, laskimonsisäinen injektio, rektaalinen anto, ihonalainen anto, lihaksensisäinen anto, vammansisäinen anto, peitinkalvon sisäinen anto, ontelonsisäinen anto, oraalinen anto, inhalaatiolla anto, anto suoraan kehon onteloon, esimerkiksi nivelen kuvaus ja vastaavat. Edellä esitettyjen edullisten sovellutusten lisäksi, ts. veren, maksan, pernan ja imusolmukkeen, kuvaukseen keksinnön mukaisten röntgenvarjoainekeostumusten odotetaan olevan käyttökelpoisia myös verisuonten kuvauksen varjoaineina, munuaisten ja virtsateiden kuvauksen varjoaineina, selkäytimen kuvauksen varjoaineina, ruoansulatuskanavan kuvauksen varjoaineina, sappirakon kuvauksen ja sappiteiden kuvauksen varjoaineina, nivelen kuvauksen varjoaineina, kohdun ja munanjohtimien kuvauksen varjoaineina, oraalina varjoaineina ja keuhkoputkien kuvauksen varjoaineina.

Keksintöä kuvataan nyt seuraavien esimerkkien avulla, mutta keksintö ei millään lailla rajoitu näihin.

Esimerkki 1

Tutkittiin eri molekyyli- ja ionimassat omaavien Tetronic-pinta-aktiivisten aineiden teho varautuneen DMPG-fosfolipidin aiheuttaman nanopartikkelien varauksen (zeetapotentiaali) peittämisessä. Nanopartikkelisuspensiot sisälsivät 15 % etyyli-3,5-diasetoamido-2,4,6-trijodi-bentsoaattia ja 0,2 % DMPG:tä. 0,5 ml:aan suspensiota lisättiin 0,075 ml 20-%:ista testattavan pinta-aktiivisen aineen kantaliuosta. Lopullinen pinta-aktiivisen aineen konsentraatio oli 30 3 %.

	<u>Pinta-aktiivinen aine</u>	<u>MW</u>	<u>Zeetapotentiaali (mV)</u>
	Ei mitään	-	-51
	T-707	12 200	-20
	T-908	25 000	-18
5	T-909	30 000	-11
	T-1107	15 000	-25
	T-1107	15 000	-22
	T-1307	18 000	-14
	T-1508	30 000	-6

10

Esimerkki 2

Tutkittiin eri molekyyli­massat omaavien Tetronic-pinta-aktiivisten aineiden teho anionisen DOSS-pinta-aktiivisen aineen aiheuttaman nanopartikkelien varauksen (zeetapotentiaali) peittämisessä. Nanopartikkelisuspensiot sisälsivät 15 % etyyli-3,5-diasetoamido-2,4,6-trijodibentsoaattia ja 0,2 % DOSS:ää. 0,5 ml:aan suspensiota lisättiin 0,075 ml 20-%:ista testattavan pinta-aktiivisen aineen kantaliuosta. Lopullinen pinta-aktiivisen aineen konsentraatio oli 3 %.

20

	<u>Pinta-aktiivinen aine</u>	<u>MW</u>	<u>Zeetapotentiaali (mV)</u>
	Ei mitään	-	-6
	T-707	12 200	-0,5
			-0,4
25	T-908	25 000	-0,4
			-1,4
	T-909	30 000	-0,6
	T-1107	15 000	-0,9
	T-1307	18 000	-0,8
30	T-1508	30 000	0,2

Esimerkki 3

Tutkittiin eri molekyyli­massat omaavien pinta-aktiivisten alkyyli­fenolipolyetoksy­laattien teho DMPG:n ai-

heuttaman nanopartikkelien varauksen (zeetapotentiaali) peittämisessä. Nanopartikkelisuspensiot sisälsivät 15 % etyyli-3,5-diasetoamido-2,4,6-trijodi-bentsoaattia ja 0,2 % DOSS:ää. 0,5 ml:aan suspensiota lisättiin 0,075 ml

5 20-%:ista testattavan pinta-aktiivisen aineen kantaliuosta. Lopullinen pinta-aktiivisen aineen konsentraatio oli 3 %.

	<u>Pinta-aktiivinen aine</u>	<u>MW</u>	<u>Zeetapotentiaali (mV)</u>
	OP-10	550	-45,81
10	OP-30	1530	-37,40
	OP-40	2000	-34,93
	NP-50	2500	-27,66
	NP-70	3300	-25,50

5

10

15

20

25

30

9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että pinta-aktiivisen aineen molekyylimassa on ainakin noin 30 000.

10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että samenenispisteenmodifioija on fosfolipidiä.

5 11. Patenttivaatimuksen 10 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että fosfolipidi on dimyristoyyli-fosfatidyyli-glyserolia.

12. Patenttivaatimuksen 1 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että samenenispisteenmodifioija on anionista pinta-aktiivista ainetta.

10 13. Patenttivaatimuksen 12 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että anioninen pinta-aktiivinen aine on dioktyylisulfosukkinaattia.

14. Patenttivaatimuksen 1 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että samenenispisteenmodifioija on 15 polyetyleeniglykolia, propyleeniglykolia, etanolia, syklo-dekstriiniä, natriumdodekyylisulfaattia, dioktyylisulfo-sukkinaattia, setrimidiä, dimyristoyylifosfatidyyli-glyse-rolia, kardiolipiiniä tai dimyristoyylifosfatidyyli-seriiniä.

20 15. Jonkin edeltävän patenttivaatimuksen mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että pinnanmodifioijaa on määrä, joka on riittävä ylläpitämään tehokasta keski-määräistä partikkelikokoa alle noin 400 nm.

25 16. Jonkin edeltävän patenttivaatimuksen mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että se sisältää li-säksi farmaseuttisesti hyväksyttävää väliainetta.

30 17. Menetelmä nanopartikkelien valmistamiseksi, jotka partikkelit sisältävät röntgendiagnostista yhdistet-tä ja joiden pinnalle on adsorboitu suurimolekyyli-massais-ta pinta-aktiivista ainetta pinnanmodifioijaksi ja tämän kanssa assosioitunutta samenenispisteenmodifioijaa, t u n n e t t u siitä, että

35 (i) röntgendiagnostista yhdistettä sisältävä nano-partikkeli saatetaan kontaktiin suurimolekyyli-massaisen pinta-aktiivisen aineen kanssa ajan ja olosuhteissa, jotka

ovat riittävät muodostamaan nanopartikkelin, jonka pinnalle on adsorboitunut pinnanmodifioijaa; ja

(ii) saatetaan pinnallaan adsorboitunutta pinnanmodifioijaa sisältävä nanopartikkeli kontaktiin samenessipisteenmodifioijan kanssa ajan ja olosuhteissa, jotka ovat riittävät muodostamaan nanopartikkelin, joka sisältää röntgendiagnostista yhdistettä ja jonka pinnalle on adsorboitunut suurimolekyyli­massaista pinta-aktiivista ainetta pinnanmodifioijana ja tämän kanssa assosioitunutta samenessipisteenmodifioijaa.

18. Patenttivaatimuksen 17 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että nanopartikkelit ovat minkä tahansa patenttivaatimuksista 2 - 16 mukaisessa koostumuksessa.

19. Menetelmä nanopartikkelien valmistamiseksi, jotka partikkelit sisältävät röntgendiagnostista yhdistettä ja joille on tunnusomaista, että niiden pinnalle on adsorboitunut pinnanmodifioijana ionitonta pinta-aktiivista poloksamiinia, jonka molekyylimassa on ainakin noin 30 000, tunnettu siitä, että röntgendiagnostista yhdistettä sisältävä nanopartikkeli saatetaan kontaktiin ionittoman pinta-aktiivisen poloksamiinin kanssa ajan ja olosuhteissa, jotka ovat riittävät muodostamaan nanopartikkeliä, jonka pinnalle on adsorboitunut pinnanmodifioijaa..



Missing part

PATENTTIHAKEMUS NRO	LUOKITUS
935396	461K49/04

TUTKITTU AINEISTO
Patenttijulkaisukokoelma (FI, SE, NO, DK, DE, CH, EP, WO, GB, US), tutkitut luokat
Tiedonhaut ja muu aineisto

VIITEJULKAISUT		
Kategoria*)	Julkaisun tunnistetiedot	Koskee vaatimuksia
*) X Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu yksinään tarkasteltuna Y Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu, kun otetaan huomioon tämä ja yksi tai useampi samaan kategoriaan kuuluva julkaisu A Yleistä tekniikan tasoa edustava julkaisu, ei kuitenkaan patentoitavuuden este		
Päiväys 15.7.98	Tutkija Rumakko	