



FI000110841B



SUOMI - FINLAND (FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(12) PATENTTIJULKAISU PATENTSKRIFT

(10) FI 110841 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats

15.04.2003

(51) Kv.lk.7 - Int.kl.7

A61K 9/127, 47/44

(21) Patenttihakemus - Patentansökning

946056

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag

23.12.1994

(24) Alkupäivä - Löpdag

24.06.1993

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig

23.12.1994

(86) Kv. hakemus - Int. ansökan

PCT/DE93/00572

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

26.06.1992 DE 4221268 P

(73) Haltija - Innehavare

1 •Lancaster Group AG, Ludwig-Bertram-Strasse 8+10, 67059 Ludwigshafen, SAKSA, (DE)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •Gross,Udo, Falkenberger Chaussee 91, 13059 Berlin, SAKSA, (DE)

2 •Röding,Joachim, Trompeterstrasse 19, 65207 Wiesbaden, SAKSA, (DE)

3 •Stanzl,Klaus, 47 Wyndham Close, White Plaines, NY 10605, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

4 •Zastrow,Leonhard, 34 Quai des Sanbarbani, 98000 Monaco, MONACO, (MC)

(74) Asiamies - Ombud: Berggren Oy Ab
Jaakonkatu 3 A, 00100 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä ihon hapenkuljetuksen avustamiseen tarkoitetun dermatologisen aineen valmistamiseksi
Förfarande för framställning av ett dermatikum för att underlätta syretransporten i huden

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee dermatologista ainetta hapenkuljetuksen avustamiseen ihossa, menetelmää sen valmistamiseksi samoin kuin sen käyttöä. Ongelma tunnetuilla dermatologisilla koostumuksilla on ihon ja viereisen kudoksen riittämätön hapentoimitus. Keksinnön tehtävänä on sen vuoksi selviytyä ihon sarveiskerroksesta ja orvaskedestä läpitunkeutumisilmiöillä, verinahan alueen ja viereisen kudoksen happikonsentraation kohottamiseksi ja aineenvaihtuntailmiöiden aktivoimiseksi. Tämä tapahtuu keksinnön mukaisesti dermatologisella aineella, jossa on asymmetrisiä lamelliaggregaatteja, ja joka koostuu fosfolipideistä ja hapella ladatusta fluorihiilestä tai fluorihiili-seoksesta, jolloin fluorihiiliolosuus on alueella 0,2 - 100 % paino/tilavuus, dermatologiseen käyttöön sopivassa väliaineessa. Valmistus tapahtuu emulgoimalla vastaavat ai-

nesosat ja käyttämällä salvoissa, voiteissa, huuhtelunesteissä, vesissä, alkoholiuutteissa, tahnoissa, puutereissa, geeleissä, tinktuureissa tai siteissä ja laastareissa tai suihkeessa.

Uppfinningen avser ett dermatologiskt ämne för att understöda syretransporten i huden, ett förfarande för dess framställning samt dess användning. Ett problem med de kända dermatologiska ämnen är otillräcklig syretillförsel av huden och den bredvidliggande vävnaden. Uppfinningen har därför såsom uppgift att åstadkomma ett sätt att penetrera genom hornlagret av huden ja epidermen, för att höja syrekonsentrationen av coriumområdet och den bredvidliggande vävnaden och för aktivering av ämnesomsättningsprocesser. Detta sker enligt uppfinningen med hjälp av ett dermatologiskt ämne med asymmetriska lamellariska aggregat bestående av fosfolipider och med syra laddat fluorkol eller fluorkolblandning, varvid andelen av fluorkol är inom området 0,2 - 100 % vikt/volym, i ett medium som lämpar sig för dermatologisk användning. Framställningen sker genom att emulgera de motsvarande beståndsdelarna och genom att använda till salvor, krämer, sköljningsvätskor, vattnen, alkoholextrakt, pastor, puder, geler, tinkturer eller förband och plåster eller i en sprej.

Menetelmä ihon hapenkuljetuksen avustamiseen tarkoitetun dermatologisen aineen valmistamiseksi

5 Keksintö koskee menetelmää dermatologisen aineen valmistamiseksi, joka aine tunkeutuu ihon verinahan alueelle samoin kuin rajoittavaan kudokseen ja aikaansaa tällöin tälle alueelle parantuneen hapentoimituksen.

10 Julkaisussa US-A-4 366 169 (White) kuvataan fluorihielten käyttö ihovammojen ja haavojen, erityisesti palovammojen, hoitoon. Tällöin happea sisältävä fluorihiihi saatetaan joko suoraan tai emulsiona iholle, vastaaville siteille tai vastaaville väli-
neille. Julkaisussa US-A-4 569 784 (Moore) kuvataan kaasunkuljetusominaisuuksia omaavan geelin valmistus iholla käyttöä varten. Työläs menetelmä perustuu siihen, että veden kanssa sekoittumatonta orgaanista nestettä, esimerkiksi fluorihiihtä, emul-
15 goidaan emulgoimisaineen läsnä ollessa emulgointimenetelmällä. Se on yhteydessä konsentrintiprosessiin (esimerkiksi ultrasentrifugointi, ultrasuodatus), joka johtaa geelifaasin muodostumiseen. Sitten seuraavassa kolmannessa vaiheessa aikaansaa-
daan kirkkaan nesteen erottuminen tahnamaisesta kiinteästä aineesta (geelifaasista) dekantoinnalla, suodattamalla tai haihduttamalla. Tätä geeliä käytetään sopivissa
20 formulaatioissa iholla, ja se vaikuttaa siellä pääsemättä kuitenkaan ihon sarveisker-
roksen läpi.

20 Julkaisussa EP-A-296661 (Borgarello) kuvataan fluorihiihtä sisältävä yksifaasijär-
jestelmä, joka voi vaikuttaa isotrooppisena tai anisotrooppisena formulaationa kos-
meettisella alueella ja myös dermatologisena aineena hapenkuljettajana. Tällöin
fluorihiihiä emulgoidaan veteen maksimikonsentraatiossa 50 % alkaanisulfonihap-
poamidityyppisten perfluorattujen emulgoimisaineiden kanssa alifaattisen alkoholin
25 läsnä ollessa apuemulgoimisaineena.

30 Julkaisussa WO-A-89 08 459 kuvataan verenkorvikkeena perfluorihiihiemulsio, jos-
sa on fosfolipidirakkuloita ja jossa fosfolipidimonomeerit polymeroidaan. Julkai-
sussa WO-A-91 001 10 paljastetaan fluorihiihiemulsiot, joissa on fosfolipidejä, jois-
sa on fosfolipidillä kyllästettyjä hiiliyhdisteitä. Julkaisusta WO-A-9206676 tunne-
taan fosfolipideistä olevat öljyllä täytetyt vähälamellaariset rakkulat, joiden rakenne
vastaa tavallista rakkularakennetta.

Kuvatuissa tunnetuissa menetelmissä kuvatut koostumukset, jotka sisältävät fluori-
hiihiä, vaikuttavat järjestelmästä riippuvasti ihoon niiden lisäyspaikassa.

Keksinnön perustana on tarkoitus tunkeutua ihon sarveiskerroksen ja epidermin läpi happikonsentraation kohottamiseksi verinahan alueella ja siihen rajoittuvassa kudoksessa ja aineenvaihduntailmiöiden aktivoimiseksi. Keksinnön oleelliset tunnusmerkit on esitetty oheisissa patenttivaatimuksissa.

- 5 Keksinnön mukaisesti saatu dermatologinen aine hapenkuljetuksen tukemiseksi ihossa koostuu asymmetrisistä lamellaarisista aggregaateista, jotka koostuvat fosfolipideistä, joiden fosfatidyylikoliinipitoisuus on 30–99 paino-%, jotka sisältävät ytimessään erona hyvin tunnetuille vesipitoisille liposomeille fluorihiliä tai niiden seoksia. Keksinnön mukaisesti saatu dermatologinen aine koostuu siten asymmetrisistä lamellaarisista aggregaateista, jotka koostuvat fosfolipideistä, joiden fosfatidyylikoliinipitoisuus on 30–99 paino-% ja joissa on hapella lastattua fluorihiltä tai fluorihiliseosta, jolloin fluorihilien osuus on alueella 1–100 % w/v (w/v = paino/tilavuus), dermatologiseen käyttöön sopivassa väliaineessa.

- 15 Lamelliaggregaatit voivat fosfolipidirakenteensa vuoksi, joka on solumembraanien kanssa rakenteellisesti ja kemiallisesti hyvin samanlainen tai osaksi identtistä, samoin kuin yhteydessä aggregaattien valmistuksessa ohjattavissa olevaan kokoon, tunkeutua syvällä sijaitseviin ihokerrokseen ja muuttua siellä vaikuttaviksi. Tämä tapahtuu vastakohtana tekniikan tasolla mainituille keksintökuvauksille, jotka eivät salli fluorihilten kuljetusta ihon syvemmille alueille. Tunnetut menetelmät ovat
- 20 vaaditun vaikutuksen suhteen tehottomia.

- Voidaan käyttää lukuisia fluorihiliä, esimerkiksi alifaattisia suoraketjuisia ja haaroittuneita fluorialkaaneja, mono- tai bisyklisiä ja mahdollisesti fluorialkyyli-substituituja fluorisykloalkaaneja, perfluorattuja alifaattisia tai bisyklisiä amiineja ja/tai bis-(perfluorialkyyli)-eteenejä. Erityisen edullisia ovat sellaiset fluorihiljet kuten
- 25 perfluoridekaliini, F-butyylitetrahydrofuraani, perfluoritributyylimiamiini, perfluorioctyylibromidi, bis-fluori(butyyl)eteeni tai bis-fluori(heksyyli)eteeni tai C₆₋₉-perfluorialkaanit.

- Tällöin fluorihilten osuus on alueella 1–100 % paino/tilavuus, erikoisesti alueella 40–100 %. Eräs erityisen edullinen alue on 70–100 % paino/tilavuus.
- 30 Fosfolipideinä käytetään keksinnön mukaisesti luonnollisia fosfolipidejä kuten soijalesitiiniä ja munalesitiiniä, samoin kuin synteettisiä fosfolipidejä. Näissä fosfolipideissä fosfatidyylikoliinipitoisuus on alueella 30–99 paino-%, erityisesti 70–99 paino-%, ts. edullisia ovat fosfolipidit, joissa on suuret fosfatidyyli-pitoisuudet.

Fosfatidyylikoliinin ohella voi läsnä olla myös lysolesitiinejä konsentraatioalueella 0,1–10 paino-% ja/tai varautuneita fosfolipidejä kuten fosfatidyylietanoliamiini, n-asetyylifosfatidyylietanoliamiini tai fosfatidihappo konsentraatioalueella 0,1–30 paino-%.

- 5 Erona tunnetuille vesipitoisille liposomeille (rakkuloille) sisältävät keksinnön mukaisesti saadut fosfolipidistabilisoidut aggregaatit ytimessään hydrofobisia fluorihii-
liä, jotka kykenevät kuljettamaan happea. Niiden rajapintakemiallinen stabilointi ta-
pahtuu ensisijassa yksikerroksella, jolla on käänteinen järjestys, ja toissijaisesti tä-
hän liittyvällä kaksoiskerrosten rakenteella. Tämän vuoksi keksinnön mukaisilla
10 asymmetrisillä lamelliaggregaateilla on vähintään aina kolmikerroksinen rakenne
erona kaksikerroksisille tunnetuille rakkuloille. Niiden rakenteellisen järjestyksen
erikoisuuden vuoksi näitä uudentyyppisiä aggregaatteja kutsutaan asymmetrisiksi
lamellaarisiksi hapenkuljettajiksi. Niiden tavattoman kolloidikemiallisen stabiili-
suuden on luultavasti katsottava johtuvan aggregaattien lamellirakenteesta ja pinta-
15 varauksesta. Viimeksi mainitun on katsottava johtuvan sopivien, luonnollista kuin
myös synteettistä alkuperää olevien fosfolipidien tai niiden seosten valinnasta. Ensi
sijassa ovat edullisesta vaikutuksesta tässä mielessä vastuussa fosfolipidit, erityises-
ti fosfatidyylikoliini mainitulla konsentraatioalueella 30–99 % yhteydessä mahdolli-
sesti lysolesitiineihin konsentraatiossa 0,1–10 % ja/tai varautuneisiin fosfolipideihin
20 konsentraatioalueella 0,1–30 paino-%. Fosfolipidien kuvattu vaikutus todetaan oi-
keaksi vastaavilla negatiivisilla zeetapotentiaaleilla ja mittaamalla varaustiheydet
(titrattaessa kationisella polyelektrolyytillä).

- Tunkeutumisnopeuden ja tunkeutumissyvyyden riippuvuus aggregaattien hiukkas-
koosta voitiin määrittää kokeellisesti erillisillä tutkimuksilla eläinkokeessa merki-
25 tyillä kapseloiduilla fluorihiihilillä. Tämän mukaan pienemmät hiukkaset vaeltavat
nopeammin ja syvemmälle ihokudokseen kuin suuremmat hiukkaset. Fluorihiihlten
tai niiden seosten valinta niiden lipidiliukoisuuden mukaan (esitetty niiden kriitti-
sellä liukoisuuslämpötilalla CST n-heksaanissa) sallii edelleen eräänä tärkeänä krii-
teerinä kudoksessaviipymisajan säätelyn. Kun esimerkiksi perfluoritributyylimii-
30 nilla (F-TBA, CST 59 °C), jolla on suuri CST-arvo ja huono lipidiliukoisuus, on pi-
tempi viipymäaika, luovutetaan tälle vastakohtana perfluoridekaliini (PFD, CST
22 °C) myös F-butyylitetrahydrofuraani, F-heksaani ja muut vastaavasti nopeammin
kudoksesta. Fluorihiiliseosten avulla voidaan tällä tavalla valmistaa tarkoitettulla ta-
valla järjestelmiä, joilla on tarkoitettun käytön suhteen toivotut CST-arvot, ts. lipidi-
35 ja membraaniliukoisuudet.

Fluorihilten pitoisuus hapenkuljettajina lamelliaggregaateissa voi vaihdella käyttö-tarkoituksen mukaan välillä 1 ja 100 % paino/tilavuus. Fluorihilinä tulevat kyseeseen erityisesti:

- 5 alifaattiset suoraketjuiset ja haaroittuneet alkaanit, joissa on 6–12 hiiliatomia, kuten esimerkiksi perfluoriheksaani, perfluorinonaani; mono- tai bisykliset sykloalkaanit, jotka ovat mahdollisesti F-alkyyli-substituoituja, kuten esimerkiksi perfluorimetyyli-sykloheksaani, perfluoridekaliini;

alifaattiset tertiäariset amiinit, N-pitoiset polysyklit, kuten esimerkiksi perfluoritri-propyyliamiini, perfluoritributyyliamiini;

- 10 perfluorieetterit, kuten alifaattiset eetterit ja polyeetterit, F-alkyyli-furaanit, bisykliset ja substituoitut bisykliset eetterit, joissa on 2 tai 3 happiatomia molekyylissä, kuten esimerkiksi perfluoridiheksyylietteri, perfluoributyyli-tetrahydrofuraani;

perfluorialkyylihalogenidit, kuten esimerkiksi perfluorioktyylibromidi, perfluori-heksyylibromidi, perfluorioktyylikloridi;

- 15 bis-F(alkyyli)eteenit, kuten esimerkiksi bis-F(butyyli)eteeni, bis-F(heksyyli)eteeni.

- 20 Tässä käytetyllä käsitteellä "fluorihiliet" ymmärretään perfluorattuja tai pitkälle fluorattuja hiiliyhdisteitä tai seoksia, jotka voivat kuljettaa kaasuja kuten O₂ ja CO₂. Pitkälle fluorattuja hiilivety-yhdisteitä ovat tämän keksinnön mielessä sellaiset, joissa useimmat vetyatomit on korvattu fluori-atomeilla, kuten esimerkiksi bis-F(alkyyli)eteenit, jotka ovat osoitettavasti kemiallisesti ja biologisesti inerttejä ja siten ei-toksisia. Tämä saavutetaan enimmäkseen silloin, kun noin enintään 90 % vety-atomeista on korvattu fluori-atomeilla. Edullisia tämän keksinnön mielessä ovat fluorihiliet, joissa vähintään 95 % vety-atomeista on korvattu, edullisemmin 98 % ja edullisimmin 100 %.

- 25 Yksittäisiä fluori-atomeja voi olla korvattu myös muilla halogeeni-atomeilla kuten bromi tai kloori.

- 30 Fosfolipideinä tulevat kyseeseen luonnollisesti esiintyvät fosfolipidit kuten soija- tai munalesiini, samoin kuin myös synteettisesti valmistettavissa olevat lesitiinit (fosfolipidit), jotka tunnetaan yhteisesti ihoystävällisinä. Asymmetristen lamelliaggregaattien stabiiliuteen kohdistuvasta edullisesta vaikutuksesta johtuen käytetään erikoisesti fosfolipidiseoksia, joissa on osuus 30–99 % fosfatidyylikoliinia muiden

luonnollisesti esiintyvien oheistuotteiden ohella. Fosfolipidipitoisuus dermatologisessa formulaatiossa liikkuu välillä 0,5 ja 20, erikoisesti 10–20 %.

5 Keksinnön mukainen menetelmä fosfolipidejä sisältävän dermatologisen aineen valmistamiseksi perustuu siihen, että fosfolipidejä, joiden fosfatidyylikoliinipitoisuus on 30–99 paino-%, emulgoidaan fluorihiiilen tai fluorihiiiliseoksen kanssa, joka on ladattu hapella, jolloin fluorihiiliosuus on alueella 0,2–100 % paino/tilavuus, ja tällöin saadut asymmetriset lamelliaggregaatit, joiden hiukkaskoko on 50–1 000 nm, työstetään dermatologiseen käyttöön sopivaan väliaineeseen. Emulgointi tapahtuu veden läsnä ollessa ja mahdollisesti lisäten yhdenarvoisia tai monenarvoisia alifaattisia alkoholeja. Emulgointi voi tapahtua myös esiemulgoimalla 10 raakadispersion lisäämällä fluorihiiilen vesiliukoiseen fosfolipidiliuokseen käytettyjä lähtöaineita vastaavassa lämpötilassa. Esiemulgointi tapahtuu tarkoituksenmukaisesti suuremmilla pyörimisnopeuksilla, esimerkiksi 12 000–15 000 r/min. Varsinainen homogenisointi tapahtuu sitten suurpainehomogenisaattorissa. Homogenisointi 15 voi tapahtua myös muilla tunnetuilla menetelmillä, kuten esimerkiksi ultraäänellä. Energialisäysaste dispersiojärjestelmässä vaikuttaa epäsuorasti suhteellisesti hiukkaskokoihin.

20 Kuumasterilointi autoklaavissa on mahdollinen hiukkaskokoon vaikuttamatta. Auto-oksidaatioprosessien välttämiseksi natiivien lipidien tyydyttymättömässä rasvahapporyhmässä voidaan käyttää hapetuksenestoaineita, esimerkiksi o-tokoferolia.

Erityisen edullista on suuret fosfatidyylikoliinipitoisuudet omaavien fosfolipidien käyttö. Nämä ovat tavallisesti välillä 10 ja 99 paino-%, erikoisesti 30–99 paino-%, erityisesti 70–99 paino-%.

25 Fluorihiiilinä käytetään edellä mainittuja fluorihiiiliä tai fluorihiiiliseoksia tätä varten ilmoitetuissa rajoissa. Ammattimies voi niiden tunnettujen O₂-liukoisuuksien, höyrynpaineen ja kriittisen liukoisuuslämpötilan avulla säätää päämäärän mukaisesti hapella latauksen ja tunkeutumissyvyyden.

30 Fluorihiiilipitoisten asymmetristen lamelliaggregaattien vaikutustapa perustuu hapen luovutukseen alihuollettuun kudokseen paikallisella applikoinnilla. Eräs mielekäs käyttö on myös ajateltavissa happialihuollettua rasvakudosta varten, kuten myös valtimonkovetustaudista johtuvan puutteen huollot.

Asymmetristen lamelliaggregaattien työstö vaikuttavana aineena salvoissa, voiteissa, huuhtelunesteissä ja muissa vesipohjaisissa tai alkoholipohjaisissa dermatologisissa formulaatioissa tapahtuu käyttötarkoituksesta riippuen, jolloin fluorihiiilipitoi-

- suutta ja täten O_2 :n käytettävissä oloa voidaan vaihdella laajoissa rajoissa. Aggregaatit voidaan ennen kaikkiin dermatologisiin järjestelmiin kuten esimerkiksi geeleihin, tahnoihin, puutereihin, salvoihin, voiteisiin, huuhtelunesteisiin työstää ladata osaksi tai kyllästää kaasumaisella hapella. Jo kyllästys ilmakehän ilman hapella tavallisesti tapahtuvalla tasapainon asettumisella Henryn lakia vastaavasti antaa suuremman happikapasiteetin kuin kaikki verrattavissa olevat tunnetut järjestelmät.

Keksinnön mukaisesti saatua dermatologista ainetta voidaan levittää myös siteille, laastareille, haavasuojuille, ja muihin ihon kanssa kosketuksiin joutuviin aineisiin. Sitä voidaan applikoida esimerkiksi myös suihkeena.

- 10 Keksintöä selitetään seuraavaksi lähemmin esimerkeillä. Näihin kuuluvassa piirroksessa

kuvio 1 on kaavio perfluorihiliseosten kriittisistä liukoisuuslämpötiloista (CST) n-heksaanissa perfluoridekaliinilla lähtöpisteenä

- 15 kuvio 2 on kaavio perfluorihiliseosten kriittisistä liukoisuuslämpötiloista (CST) n-heksaanissa F-oktyylibromidilla lähtöpisteenä.

Taulukossa 1 esitetään muutamia valittuja fluorihiliä ja niiden O_2 -liukoisuus, niiden höyrynpaine ja kriittinen liukoisuuslämpötila. Näistä arvoista lähtien voidaan fluorihilten seoksille valita toivotut ominaispiirteet ihoon tunkeutumisessa dermatologisen koostumuksen avulla.

Taulukko 1

Fluorihili	O ₂ -liukoi- suus [ml O ₂ /- 100 ml FC]	Höyrynpaine P _{37 °C} [kPa] (mmHg)	CST [°C]
perfluorioktyylibromidi	50	1,87 (14)	-24,5
perfluoridekaliini	40	1,67 (12,5)	22
bis-F(butyyli)eteeni	50	1,68 (12,6)	22,5
F-sykloheksyylimetyylimorfoliini	42	0,53 (4)	38,5
F-tripropyliamiini	45	2,47 (18,5)	43
F-diheksyylieetteri	45	0,26 (2)	59
F-tributyliamiini	40	0,13 (1)	59
perfluoridekaliini-F-tributyliamiini 1/1	40	0,93 (7)	42
perfluoributyylietrahidrofuraani	52	6,8 (51)	29
F-metyylisykloheksaani	57	24,0 (180)	8,2
F-heksaani	58	55,2 (414)	20

Esimerkki 1

- 5 50 ml 10-prosenttista vesipohjaista fosfolipidiliuosta (soijalesitiiniä, 40 % fosfatidyylikoliinia (PC)) homogenisoidaan yhdessä 80 g:n kanssa hyvin puhdasta, lainkaan H-atomeja sisältämättä fluorihiliseosta (90 % perfluoridekaliinia, 10 % F-di-butyylimetyyliamiinia, kriittinen liukoisuuslämpötila 26 °C) ultraäänihajottimella jäällä jäähdyttäen, kunnes hiukkasten keskimääräinen halkaisija on 244 nm.

- 10 ³¹P-NMR-mittauksista on tunnistettavissa tyypillisen signaalileveyden avulla kuten myös elektronimikroskooppisista kuvista fluorihilien ja fosfolipidin aggregaattien lamellirakenne. Aggregaattidispersio on sekoitettavissa ongelmitta ja sen stabiiliuteen vaikuttamatta sopivien alkoholien kanssa (etanoli, propyleeniglykoli, glyseroli) sterilisointitarkoituksiin. 30 ml:n etanolilisäys tuottaa itiöttömyyden, jolloin tulokseksi saadulla dispersiolla on seuraava koostumus:

- 15 62 % paino/tilavuus fluorihiliä
 9,7 % fosfolipidejä
 19 % etanolia

Zeetapotentiaali -61 mV kattaa fosfolipidien valmistaman negatiivisen pintavarauksen dispersion sähköstaattisella stabiloinnilla. Kaasumaisella hapella kyllästyksen

jälkeen dispersio työstetään asymmetristen lamelliaggregaattien kanssa hyväksyttävään, ei vuorovaikutuksessa olevaan salvapohjaan.

Esimerkki 2

- 18 g lyofilisoitua fosfolipidiä, jolla on koostumus [30 % PC, 30 % PE (fosfatidyyli-
5 etanoliamiini), 31 % PI (fosfatidyyli-inositoli)], liuotetaan 90 ml:aan steriloitua vettä ja sekoitetaan 16 ml:n kanssa denaturoimatonta etanolia. Dispersiota sekoitetaan mekaanisella suurella kierrosluvulla pyörivällä sekoittimella (Ultra-Turrax, 15 000 r/min), ja tällöin 20 °C:seen temperoituun sekoitusastiaan lisätään peräjälkeen perfluoridekaliinia (CST 22 °C). Raakadispersio homogenisoidaan
10 50,7 MPa:ssa (500 atm) inerttikaasuvirrassa suurpainehomogenisaattorissa, joka on tyyppiä Manton Gaulin. Viimeistä edellisen läpijuoksun alkaessa dispersioon lisätään 0,1 %:iin asti α - tokoferoliasetaattia auto-oksidaatioprosessien välttämiseksi ja vapaiden radikaalien vangitsijaksi ihokudoksessa.

- 15 Fotonikorrelaatiopektrometrillä N-4 MD (Coultronics) suoritettut mittaukset vahvistavat unimodaalisen hiukkaskokojakauman esiintymisen ja keskimääräisen hiukkasten läpimitan 128 nm. Elektronimikroskooppiset tutkimukset "negatiivisen värjäyksen" menetelmää käyttämällä ovat tämän kanssa sopusoinnussa. ^{31}P -NMR-tutkimusten pohjalta asymmetriset lamelliaggregaatit ovat unilamellaarisessa tilassa zeetapotentialilla -76 mV.

- 20 Dispersion koostumus on
48 % paino/tilavuus perfluoridekaliinia
13 % fosfolipidejä
9 % etanolia.

Esimerkki 3

- 25 80 g n-F-heksaania, joka on seoksena perfluorattujen isomeeriensä kanssa (CST 20 °C), esiemulgoidaan mekaanisesti 9,5 g:n kanssa munankeltuais-3-sn-fosfatidyylikoliinia 47 ml:ssa deionisoitua ja steriloitua vettä inerttikaasuolosuhteissa lisä-
ten raakadispersioon 0,2 % dl- α - tokoferolia. Raakaemulsio homogenisoitiin paine-
homogenisaattorissa paineessa 50,7 MPa:ssa (500 atm) sopivalla lämpötilaohjeella
30 ja hiukkaskoon kontrolloiden. Saadulla dispersiolla on keskinertainen viskositeetti ja hiukkasten läpimitta 294 nm. Kun oli lisätty 8 ml propyleeniglykolia, tarkkailtiin varastointiaikakokeessa stabiiliutta ja itiöttömyyttä (itiöiden lukumäärä alle 100 K/g) huoneenlämpötilassa. Laimentaminen, esimerkiksi huuhtelunesteitä valmistet-

taessa, on ongelmitta mahdollista tärkeiden kolloidikemiallisten parametrien muuttumatta.

Dispersion tutkimukset valomikroskoopilla polarisoidussa valossa osoittavat isotrooppisen yksifaasijärjestelmän olemassaolon, jossa ei ole neste-kiteisiä rakenteita.

5 Esimerkki 4

Liposomien tunkeutumisen osoitus in vivo

- Juuri eristettyä fysiologisestri ehjää ihoa kiinnitettiin sisäpuoleltaan O_2 -anturiin (Clark-Elektrode), ja orvaskesi kostutettiin O_2 :ta kuljettavalla dispersiolla, jossa oli asymmetrisiä lamelliaggregaatteja. Näissä olosuhteissa elektrodeissa ei näy lainkaan
- 10 O_2 -osapainetta. 57 min tunkeutumisen keston jälkeen aggregaatit olivat saavuttaneet dermaalisen iholeikkeen elektrodien mittausalueella. O_2 -osapaine kohosi arvoon 21,2 MPa (159 mm Hg). Tunkeutumisnopeus ihossa riippuu aggregaattien tyypistä ja suuruudesta.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä ihon hapenkuljetuksen avustamiseen tarkoitetun dermatologisen aineen valmistamiseksi, **tunnettu** siitä, että fosfolipidejä, joiden fosfatidyylikoliinipitoisuus on 30–99 paino-%, emulgoidaan hapella ladatulla fluorihiihellä tai hapella ladatulla fluorihiielseoksella, jolloin fluorihiihen osuus on alueella 0,2–100 % paino/tilavuus, ja tällöin saadut asymmetriset lamelliaggregaatit, joiden hiukkaskoko on 50–1000 nm, työstetään dermatologiseen käyttöön sopivaan väliaineeseen.
- 5 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että fluorihiihen osuus on alueella 20–100 % paino/tilavuus, edullisesti alueella 40–100 %, ja fosfatidyylikoliinin osuus käytetyssä lipidifraktiossa on alueella 60–90 %.
- 10 3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että hiukkaskoko on alueella 120–820 nm, edullisesti välillä 140 ja 400 nm.
4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että fluorihiihet ovat alifaattisia suoraketjuisia tai haaroittuneita fluorialkaaneja, mono- tai bisyklisiä
- 15 mahdollisesti fluorialkyyli substituoituja fuorisykloalkaaneja, perfluorattuja alifaattisia tai bisyklisiä amiineja ja/tai bis-(perfluorialkyyli)eteeneitä.
5. Patenttivaatimuksen 4 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että fluorihiihet ovat perfluoridekaliinia, F-butyylitetrahydrofuraania, perfluoritributyylimiinia, perfluorioktyylibromidia, bis-fluori(butyyli)eteeniä ja/tai C₆₋₉-perfluorialkaaneja.
- 20 6. Jonkin patenttivaatimuksista 1–5 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että fluorihiihen osuus on alueella 70–100 %.
7. Jonkin patenttivaatimuksista 1–6 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että fosfolipidit ovat luonnollisia fosfolipidejä kuten soijalesitiini ja munalesiitiini, samoin kuin synteettisiä fosfolipidejä ja/tai osaksi hydrattuja fosfolipidejä, jolloin fosfolipidien konsentraatio on alueella 0,5–20 %.
- 25 8. Jonkin patenttivaatimuksista 1–7 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että käytetty lipidifraktio sisältää fosfatidyylikoliinin ohella lysolesitiinejä konsentraatioalueella 0,1–5 paino-%.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av ett dermatikum för att underlätta syretransporten i huden, **kännetecknat** av att fosfolipider med en fosfatidylkolinhalt om 30-99 vikt-% emulgeras med ett med syre laddat fluoriderat kolväte eller med en med
5 syre laddad blandning av fluoriderade kolväten, varvid andelen fluoriderat kolväte ligger inom intervallet 0,2-100 % vikt/volym och de därvid erhållna asymmetriska lamellära aggregaten med en partikelstorlek om 50-1000 nm införlivas i en för det dermatologiska användningsändamålet lämplig bärare.
2. Förfarande enligt patentkrav 1, **kännetecknat** av att andelen fluoriderade
10 kolväten ligger inom intervallet 20-100 % vikt per volym, företrädesvis inom intervallet 40-100 %, och att andelen fosfatidylkolin i den använda lipidfraktionen uppgår till 60-90 %.
3. Förfarande enligt patentkrav 1 eller 2, **kännetecknat** av att partikelstorleken ligger inom intervallet 120-820 nm, företrädesvis mellan 140 och 400 nm.
- 15 4. Förfarande enligt patentkrav 1, **kännetecknat** av att de fluoriderade kolvätena väljes ur gruppen bestående av alifatiska fluoralkaner med rak eller förgrenad kedja, mono- eller bicykliska, eventuellt fluoralkylsubstituerade fluorcykloalkaner, perfluoriderade alifatiska eller bicykliska aminer och/eller bis-(perfluoralkyl)-etener.
5. Förfarande enligt patentkrav 4, **kännetecknat** av att de fluoriderade kolvätena
20 väljes ur gruppen bestående av perfluordekalin, F-butyltetrahydrofuran, perfluortributylamin, perfluoroktylbromid, bisfluor(butyl)eten och/eller C₆-C₉-perfluoralkaner.
6. Förfarande enligt något av patentkrav 1-5, **kännetecknat** av att andelen fluoriderade kolväten ligger inom intervallet 70-100 %.
7. Förfarande enligt något av patentkrav 1-6, **kännetecknat** av att fosfolipiderna
25 väljes ur gruppen bestående av naturliga fosfolipider som soja- och ägglecitin samt syntetiska fosfolipider och/eller delvis hydrerade fosfolipider, varvid fosfolipidkoncentrationen uppgår till 0,5-20 %.
8. Förfarande enligt något av patentkrav 1-7, **kännetecknat** av att i den använda lipidfraktionen återfinns förutom fosfatidylkolin lysolecitiner i en mängd om 0,1-
30 5 vikt-%.

001004 0480038

110841

Fig. 1



