

19



Bureau voor de
Industriële Eigendom
Nederland

11 1006444

12 C OCTROOI²⁰

21 Aanvraag om octrooi: 1006444

22 Ingediend: 01.07.97

51 Int.Cl.⁶
B01J13/14, A61K9/50, A01N25/28,
C08J3/215

41 Ingeschreven:
05.01.99

47 Dagtekening:
05.01.99

45 Uitgegeven:
01.03.99 I.E. 99/03

73 Octrooihouder(s):
Instituut voor Agrotechnologisch Onderzoek
(ATO-DLO) te Wageningen.

72 Uitvinder(s):
Jeroen Johannus Gerardus van Soest te
Wageningen
Renee Josie Gide van Schijndel te
Geldermalsen

74 Gemachtigde:
Ir. L.C. de Bruijn c.s. te 2517 KZ Den Haag.

54 Inkapseling van werkzame stoffen.

57 Microbolletjes met een deeltjesgrootte van 50 nm tot 1 mm en een polydispersiteit van minder dan 40%, bestaande uit een chemisch verknoopte zetmeelomhulling met daarin een hydrofobe fase met werkzame stof, worden verkregen doordat men een olie-in-water-emulsie bereidt van de werkzame stof in een eerste hydrofobe fase en zetmeel of een derivaat daarvan in water, de olie-in-water-emulsie opneemt in een tweede hydrofobe fase, waarbij men deeltjes van de olie-in-water-emulsie in de tweede hydrofobe fase vormt, het zetmeel of derivaat daarvan verknoopt, en de tweede hydrofobe fase desgewenst verwijdert.

NL C 1006444

De inhoud van dit octrooi komt overeen met de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekeningen.

Inkapseling van werkzame stoffen

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze ter bereiding van microdeeltjes die een werkzame stof in een zetmeelomhulling bevatten.

5 Een dergelijke werkwijze is bekend uit WO 89/03674. Volgens die bekende werkwijze bereidt men microbolletjes door een werkzame stof, zoals paramagnetische deeltjes, in een zetmeeloplossing te suspenderen, het zetmeel met een fosfaat te verknopen en het zetmeel voor of na de verknoping vervolgens in een hydrofoob medium te emulgeren.

10 Uit WO 93/02712 is een werkwijze voor de bereiding van microbolletjes bekend volgens welke een olie-in-water-emulsie van een oplosbare zetmeelfractie en bij voorbeeld dichloormethaan wordt bereid, waarna een ontwateringsmiddel zoals een alcohol wordt toegevoegd. De deeltjes worden gefixeerd door retrogradatie van het zetmeel, dat daarom een hoog amylosegehalte dient te hebben.

15 Gevonden is nu een werkwijze die leidt tot handzame deeltjes waarin een werkzame stof is ingekapseld, welke werkzame stof slechts onder bepaalde gekozen omstandigheden of na langere duur vrijkomt. De werkwijze wordt gekenmerkt door de maatregelen van de bijgaande conclusies.

20 Een belangrijk onderdeel van de microdeeltjes is zetmeel, dat het voordeel heeft een veelheid aan werkzame stoffen te kunnen omhullen en biologisch afbreekbaar te zijn. In aanmerking komen natief zetmeel en fracties en derivaten daarvan. Bij voorkeur is het zetmeel granulair zetmeel, dat natief of gemodificeerd kan zijn en niet oplosbaar hoeft te zijn. Eventueel kan het zetmeel ook geheel of gedeeltelijk verstijfseld zijn. Ook kan een mengsel van verschillende typen zetmeel worden gebruikt. Zo kan aan natief zetmeel gedeeltelijk oplosbaar zetmeel worden toegevoegd. Als fracties komen bij voorbeeld in
25 aanmerking aan amylose of juist aan amylopectine verrijkt zetmeel. Als derivaten komen in aanmerking gedeeltelijk gehydrolyseerd zetmeel, geoxideerd zetmeel (carboxyzetmeel, dialdehydzetmeel), gecarboxyalkyleerd zetmeel, gesulfateerd of gefosfateerd zetmeel, kationisch zetmeel e.d.. Deze derivaten kunnen ook granulair zijn.

30 De olie-in-water-emulsie kan op op zichzelf bekende wijze worden bereid, door toevoeging van een olie of een andere hydrofobe stof aan de waterige oplossing of dispersie van zetmeel. Als olie of hydrofobe stof komen in aanmerking alle niet met water mengbare vlocistoffen, zoals koolwaterstoffen (alkanen, cycloalkanen), ethers,

esters, halogeenkoolwaterstoffen en oliën. Indien de werkzame stof eveneens hydrofoob is, kan deze met voordeel via de olie worden toegevoegd. De emulsie wordt gevormd door toevoeging van de hydrofobe fase aan de suspensie of oplossing van zetmeel in water. Bij voorkeur is er voorafgaand aan de toevoeging van de hydrofobe fase aan de waterfase een zeep of een andere oppervlakteactieve stof toegevoegd, die de vorming van een o/w-emulsie bevordert. Na de toevoeging wordt door toepassing van voldoende mechanische krachten een stabiele emulsie gevormd. Onder stabiel wordt hier verstaan satbiel voor de duur van het proces. Hierbij kan bij voorbeeld een bovenroerder, een ultra-thurrax, een homogenisator of enig ander geschikt emulsie vormend apparaat worden gebruikt.

Nadat een stabiele olie-in-water-emulsie is verkregen, wordt daarvan een deeltjesvormig materiaal bereid door dispersie van de emulsie in een tweede hydrofobe fase. De hydrofobe fase kan worden gevormd door een niet met water mengbaar oplosmiddel, zoals een alkaan, cycloalkaan, ether, ester, halogeenkoolwaterstof e.d., of een olie. Aldus ontstaat een olie-in-water-in-olie-(o/w/o)-emulsie. De omstandigheden van de emulsiëvorming kunnen dezelfde zijn als die van de vorming van de eerste, o/w-emulsie. Daarbij kan ook een zeep of andere oppervlakte-actieve stof die de vorming van een water-in-olie-emulsie bevordert aan de tweede hydrofobe fase worden toegevoegd.

De verknoping vindt plaats nadat de emulsie in een hydrofobe stof is gedispergeerd. De verknoping kan geschieden door middel van een verknopingsmiddel, dat bij voorkeur vooraf aan de zetmeeloplossing/dispersie wordt toegevoegd. De verknoping wordt op het gewenste moment, bij voorkeur nadat de deeltjesvorming in de suspensie of emulsie heeft plaatsgevonden, op gang gebracht door toevoeging van een katalysator, bij voorbeeld een base, een zout of een zuur, afhankelijk van het type verknopingsreactie. Eventueel kan de verknoping ook op gang worden gebracht door temperatuurverhoging. Als verknopingsmiddel kan een gangbaar verknopingsmiddel zoals epichloorhydrin, fosforylchloride of een anhydride van een di- of polybasisch carbonzuur worden gebruikt. Bijzondere voorkeur heeft echter het gebruik van een fosfaat als verknopingsmiddel, zoals trinatriumtrimetafosfaat. In deze gevallen kan de katalysator een base zoals natriumhydroxide zijn. Per anhydroglucose-eenheid past men bij voorkeur 20 tot 500 mmol verknopingsmiddel per mol anhydroglucose-eenheden toe. De toe te passen hoeveelheid is mede afhankelijk van de werkzame stof en van de gewenste afgiftesnelheid.

Ingeval van dialdehyd-zetmeel kan het verknopingsmiddel bij voorbeeld een

diamine zijn, zoals ureum, tetramethyleendiamine of hexamethyleendiamine, waarbij een zuur als katalysator kan worden gebruikt. In geval van bij voorbeeld carboxymethylzetmeel of dicarboxyzetmeel, kan ook met een diamine of een diol kan worden verknoopt. Verknoping kan hier echter ook, en met voordeel, worden bereikt door interne ester-

5 vorming, welke kan worden gekatalyseerd door een multivalent metaalion zoals calcium, magnesium, aluminium, zink of ijzer, bij voorkeur calcium. Een andere mogelijke uitgangsstof is kationisch (aminoalkyl-) zetmeel, dat met een dicarbonzuur of een dialdehyd in situ kan worden verknoopt.

De deeltjesgrootte van de microdeeltjes volgens de uitvinding ligt bij voorkeur

10 tussen 50 nm en 1 mm. De deeltjes zijn gewoonlijk bolvormig en zijn vrijwel mono-dispers. De polydispersiteit is maximaal 40%, in het bijzonder minder dan 30%. Bruikbare werkzame stoffen zijn bij voorbeeld geurstoffen, smaakstoffen, kleurstoffen, geneesmiddelen (bij voorbeeld hormonen, ontstekingsremmers, insuline, chemo-

15 therapeutica), vaccinstoffen, vitaminen (bij voorbeeld A en D), voedingsmiddelen, zoals meervoudig verzadigde vetten en vetzuren (visolie), eiwitten en peptiden, meststoffen, bestrijdingsmiddelen (bij voorbeeld atachloor), reagentia of katalysatoren voor chemische reacties, coatings, verfstoffen, inkt, diagnostica e.d..

De beladingsgraad van de microdeeltjes hangt mede af van de eerste hydrofobe fase. Is de werkzame stof zelf de hydrofobe stof, dus zonder hydrofobe hulpstof, dan ligt

20 de belading in het algemeen tussen 0 en 60 gew.% van het totaal gewicht van het zetmeel (droge stof), in het bijzonder tussen 5 en 25 gew.%. Indien de werkzame stof is opgelost in de hydrofobe fase, is de belading, afhankelijk van de oplosbaarheid, tussen 0 en 20 gew.%, in het bijzonder tussen 2 en 10 gew.% gelegen.

De werkzame stof kan in een doelomgeving worden afgegeven door chemische,

25 enzymatische of fysische modificatie of afbraak van de zetmeelomhulling. Zo kan de werkzame stof in het spijsverteringskanaal worden afgegeven onder invloed van de verschillende omstandigheden (pH, amylasen); eventueel kan de gevoeligheid voor een bepaalde pH of voor een bepaald enzym worden verhoogd of verlaagd door modificatie van het uitgangs-zetmeel. In bij voorbeeld wasmiddelen kan de afgifte worden bevorderd

30 door temperatuurverhoging of door pH- of enzym-invloeden. Op of in cultuurgrond of potgrond kan de afgifte worden bewerkstelligd door hydrolyse of inwerking van zouten. In reactiemengsels kan de afgifte ook worden bewerkstelligd bij voorbeeld onder invloed van elektrische stroom of pH-verandering.

De microdeeltjes kunnen worden toegepast in wasmiddelen, meststoffen, voedingsmiddelen, smaakstoffen, farmaceutische middelen, tissues, cosmetica, bodemverbeteraars, bestrijdingsmiddelen (tegen schimmels, bacteriën, insecten, mijten, aaltjes, e.d.), coatings, verven, inkt, organische reactanten (waterstofperoxide), katalyse, diagnostica. De te gebruiken hoeveelheden zijn de voor de betrokken toepassing gebruikelijke hoeveelheden.

Voorbeeld 1

Van 62 g Paselli 2 in 175 ml water werd een oplossing gemaakt. Hierin werd 5 ml Tween-80 opgelost, en vervolgens 10 g TNTP (trinatriumtrifosfaat). Ter verlaging van de viscositeit werd nog 100 ml water toegevoegd. Vervolgens werd aan de oplossing 20 ml slaolie toegevoegd, waardoor onder toepassing van een bovenroerder (800 rpm) een olie-in-water-emulsie ontstond.

De emulsie werd vervolgens gedispergeerd in 750 ml cyclohexaan onder toepassing van een bovenroerder (650 rpm). Hieraan werd een oplossing van 2,1 g NaOH in 25 ml water toegevoegd om de verknopingsreactie te starten. Na twee uur werden de zetmeeldeeltjes geïsoleerd en op verschillende manieren (drogen aan de lucht, wassen met ethanol) opgewerkt. De gemiddelde deeltjesgrootte was 400 μm , met een polydispersiteit van minder dan 40%.

Voorbeeld 2

Van 65 g Paselli 2 in 250 ml water werd een oplossing gemaakt. Hierin werd 26 g TNTP opgelost, en vervolgens 5 ml Tween-80. Ter verlaging van de viscositeit werd nog 100 ml water toegevoegd. Vervolgens werd aan de oplossing 20 ml slaolie toegevoegd, waardoor onder toepassing van een bovenroerder (800 rpm) een olie-in-water-emulsie ontstond.

De emulsie werd vervolgens gedispergeerd in 500 ml cyclohexaan onder toepassing van een bovenroerder (650 rpm). Hieraan werd een oplossing van 3,3 g NaOH in 25 ml water toegevoegd om de verknopingsreactie te starten. Na 18 uur werden de zetmeeldeeltjes geïsoleerd en aan de lucht gedroogd. De gemiddelde deeltjesgrootte was 400 μm , met een polydispersiteit van minder dan 40%.

Voorbeeld 3

Voorbeeld 3 werd uitgevoerd zoals voorbeeld 2, met dit verschil, dat aan de slaolie een rode kleurstof werd toegevoegd voordat de olie aan de zetmeelfase werd toegevoegd. Deze kleurstof is niet in water oplosbaar, maar wel in bijvoorbeeld ethanol

en cyclohexaan. De emulsie was nu roze van kleur. Deze werd vervolgens gedispergeerd in cyclohexaan, en na vier uur reactie werd de roerder gestopt. Het product bestond uit roze zetmeeldeeltjes, die zich in een lichtroze gekleurde cyclohexaanfase bevonden. De deeltjes werden geïsoleerd door decanteren.

5 Om te testen in hoeverre de kleurstof zich in de deeltjes bevond, en niet aan de buitenkant alleen, werden verschillende experimenten uitgevoerd. Zo werden de deeltjes in een weinig cyclohexaan gezet. De cyclohexaan kleurde niet meer roze. Als aan de deeltjes echter ethanol werd toegevoegd, werd een gedeelte van de kleurstof uitgewassen. Blijkbaar kon ethanol genoeg in de zetmeelbolletjes dringen om met de oliefase in contact
10 te komen. Een klein gedeelte van de zetmeelbolletjes werd in water gezet. De kleurstof loste niet op in de waterfase.

Voorbeeld 4

Een suspensie werd bereid van 20 g PN (natief aardappelzetmeel) in 200 ml water waarin 5 ml Tween-80 was opgelost. Vervolgens werd hierin 2 g TNTP opgelost.
15 Daarna werd 20 ml slaolie toegevoegd en een emulsie gevormd met behulp van een ultrathurrax. De O/W-emulsie werd vervolgens geëmulgeerd in een tweede hydrofobe fase, nl. 400 ml pindaolie. Hierbij werd gebruik gemaakt van een bovenroerder, roersnelheid 800 rpm. Onder roeren werd een oplossing van 5 g NaOH in 50 ml water aan de emulsie toegevoegd om de verknoping te starten. Na 4 uur werd de emulsie
20 gebroken door toevoeging van azijnzuur. De zetmeeldeeltjes verzamelden zich in de water/azijnzuur-fase. Na scheiding werden de deeltjes enkele malen gewassen met demi-water, gevolgd door wassen met ethanol en drogen aan de lucht.

Voorbeeld 5

10 g Floegel LV-W werd opgelost in 200 g water waarin 5 ml Tween-80 was
25 opgelost. Aan de oplossing werd 10 g PN toegevoegd, en 2 g TNTP. Aan de slurry werd 20 ml slaolie toegevoegd, waarna met behulp van een ultrathurrax een emulsie werd gevormd. De emulsie werd aan 400 ml pinda-olie toegevoegd en met een bovenroerder werd de secundaire emulsie gevormd. Onder roeren werd een oplossing van 5 g NaOH in 50 ml water toegevoegd om de verknoping te starten. Na 18 uur werd de emulsie
30 gebroken met azijnzuur. De zetmeeldeeltjes verzamelden zich in de water/azijnzuur-fase. Na scheiding werden de deeltjes enkele malen gewassen met demi-water, gevolgd door wassen met ethanol en drogen aan de lucht.

Conclusies

1. Werkwijze ter bereiding van microdeeltjes die een werkzame stof in een zetmeelomhulling bevatten, *met het kenmerk* dat men een olie-in-water-emulsie bereidt van de werkzame stof in een eerste hydrofobe fase en zetmeel of een derivaat daarvan in water, de olie-in-water-emulsie opneemt in een tweede hydrofobe fase, waarbij men deeltjes van de olie-in-water-emulsie in de tweede hydrofobe fase vormt, het zetmeel of derivaat daarvan verknoopt, en de tweede hydrofobe fase desgewenst verwijdert.
2. Werkwijze volgens conclusie 1, waarbij men voorafgaande aan de bereiding van de olie-in-water-emulsie aan het zetmeel een verknopingsmiddel toevoegt.
3. Werkwijze volgens conclusie 2, waarbij het verknopingsmiddel een diamine, een dialdehyd, een epoxide of bij voorkeur een trimetafosfaat is.
4. Werkwijze volgens een der conclusies 1-3, waarbij men de verknoping uitvoert door toevoeging van een verknopingskatalysator.
5. Werkwijze volgens conclusie 1, waarbij het zetmeelderivaat een carboxyalkyl-zetmeel is, en men de verknoping uitvoert door toevoeging van een multivalent metaalion.
6. Werkwijze volgens een der conclusies 1-5, waarbij het zetmeel granulair zetmeel is.
7. Werkwijze volgens een der conclusies 1-6, waarbij men aan het zetmeel een oppervlakteactieve stof toevoegt.
8. Werkwijze volgens een der conclusies 1-7, waarbij de werkzame stof een geneesmiddel, vetcomponent, peptide, bestrijdingsmiddel, organische reactant, paramagnetische stof, katalysator, kleurstof, geurstof, smaakstof of voedingsstof is.
9. Microbolletjes met een deeltjesgrootte van 50 nm tot 1 mm en een polydispersiteit van minder dan 40%, bestaande uit een chemisch verknoopte zetmeelomhulling met daarin een hydrofobe fase met werkzame stof, verkrijgbaar met de werkwijze volgens een der conclusies 1-8.
10. Toepassing van microdeeltjes volgens conclusie 9 of verkregen volgens een der conclusies 1-8, in wasmiddelen, cosmetica, voedingsmiddelen, geneesmiddelen, coatings, verf, inkt, tissues, organische synthese, diagnostica of in de landbouw.

**SAMENWERKINGSVERDRAG (PCT)
RAPPORT BETREFFENDE
NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN INTERNATIONAAL TYPE**

| | |
|--|---|
| IDENTIFIKATIE VAN DE NATIONALE AANVRAGE | Kenmerk van de aanvrager of van de gemachtigde N.O. 41336 EH |
| Nederlandse aanvraag nr. 1006444 | Indieningsdatum 1 juli 1997 |
| | Ingeroepen voorrangsdatum |
| Aanvrager (Naam) INSTITUUT VOOR AGROTECHNOLOGISCH ONDERZOEK (ATO-DLO) | |
| Datum van het verzoek voor een onderzoek van internationaal type -- | Door de Instantie voor Internationaal Onderzoek (ISA) aan het verzoek voor een onderzoek van internationaal type toegekend nr. SN 29595 NL |
| I. CLASSIFICATIE VAN HET ONDERWERP (bij toepassing van verschillende classificaties, alle classificatiesymbolen opgeven) | |
| Volgens de Internationale classificatie (IPC) Int.Cl. ⁶ : B 01 J 13/14 | |
| II. ONDERZOCHETE GEBIEDEN VAN DE TECHNIEK | |
| Onderzochte minimum documentatie | |
| Classificatiesysteem | Classificatiesymbolen |
| Int.Cl. ⁶ : | B 01 J |
| Onderzochte andere documentatie dan de minimum documentatie voor zover dergelijke documenten in de onderzochte gebieden zijn opgenomen | |
| | |
| III. <input type="checkbox"/> GEEN ONDERZOEK MOGELIJK VOOR BEPAALDE CONCLUSIES (opmerkingen op aanvullingsblad) | |
| IV. <input type="checkbox"/> GEBREK AAN EENHEID VAN UITVINDING (opmerkingen op aanvullingsblad) | |

VERSLAG VAN HET NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN
INTERNATIONAAL TYPE

Nummer van het verzoek om een nieuwheidsonderzoek

NL 1006444

A. CLASSIFICATIE VAN HET ONDERWERP
IPC 6 B01J13/14

Volgens de Internationale Classificatie van octrooien (IPC) of zowel volgens de nationale classificatie als volgens de IPC.

B. ONDERZOCHE GEBIEDEN VAN DE TECHNIEK

Onderzochte minimum documentatie (classificatie gevolgd door classificatiesymbolen)
IPC 6 B01J

Onderzochte andere documentatie dan de minimum documentatie, voor dergelijke documenten, voor zover dergelijke documenten in de onderzochte gebieden zijn opgenomen

Tijdens het internationaal nieuwheidsonderzoek geraadpleegde elektronische gegevensbestanden (naam van de gegevensbestanden en, waar uitvoerbaar, gebruikte trefwoorden)

C. VAN BELANG GEACHTE DOCUMENTEN

| Categorie * | Geciteerde documenten, eventueel met aanduiding van speciaal van belang zijnde passages | Van belang voor conclusie nr. |
|-------------|--|-------------------------------|
| X | WO 94 07597 A (ALLIED COLLOIDS) 14 April 1994 zie bladzijde 7, regel 19 - bladzijde 9, regel 18; conclusies 1-10 ----- | 1,2,4, 7-10 |

Verdere documenten worden vermeld in het vervolg van vak C.

Leden van dezelfde octrooifamilie zijn vermeld in een bijlage

* Speciale categorieën van aangehaalde documenten

"A" document dat de algemene stand van de techniek weergeeft, maar niet beschouwd wordt als zijnde van bijzonder belang

"E" eerder document, maar gepubliceerd op de datum van indiening of daarna

"L" document dat het beroep op een recht van voorrang aan twijfel onderhevig maakt of dat aangehaald wordt om de publikatiedatum van een andere aanhaling vast te stellen of om een andere reden zoals aangegeven

"O" document dat betrekking heeft op een mondelinge uiteenzetting, een gebruik, een tentoonstelling of een ander middel

"P" document gepubliceerd voor de datum van indiening maar na de ingeroepen datum van voorrang

"T" later document, gepubliceerd na de datum van indiening of datum van voorrang en niet in strijd met de aanvraag, maar aangehaald ter verduidelijking van het principe of de theorie die aan de uitvinding ten grondslag ligt

"X" document van bijzonder belang; de uitvinding waarvoor uitsluitende rechten worden aangevraagd kan niet als nieuw worden beschouwd of kan niet worden beschouwd op inventiviteit te berusten

"Y" document van bijzonder belang; de uitvinding waarvoor uitsluitende rechten worden aangevraagd kan niet worden beschouwd als inventief wanneer het document beschouwd wordt in combinatie met één of meerdere soortgelijke documenten, en deze combinatie voor een deskundige voor de hand ligt

"&" document dat deel uitmaakt van dezelfde octrooifamilie

Datum waarop het nieuwheidsonderzoek van internationaal type werd voltooid

2 Maart 1998

Verzenddatum van het rapport van het nieuwheidsonderzoek van internationaal type

Naam en adres van de instantie

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

De bevoegde ambtenaar

Fouquier, J-P

1

VERSLAG VAN HET NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN

INTERNATIONAAL TYPE

Informatie over leden van dezelfde octrooifamilie

Nummer van het verzoek om een nieuwheidsonderzoek

NL 1006444

| In het rapport genoemd octrooigeeschrift | Datum van publicatie | Overeenkomend(e) geschrift(en) | Datum van publicatie |
|---|-------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| WO 9407597 A | 14-04-94 | AU 4832293 A | 26-04-94 |
| | | | |