

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **241766**
(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **428783**

(22) Data zgłoszenia: **31.01.2019**

(51) Int.Cl.
A61K 31/375 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 31/733 (2006.01)
A61K 31/685 (2006.01)

(54) **Sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C
oraz preparat zawierający liposomalną witaminę C**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
10.08.2020 BUP 17/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
05.12.2022 WUP 49/22

(73) Uprawniony z patentu:
**FORMEDS SPÓŁKA Z OGRANICZONĄ
ODPOWIEDZIALNOŚCIĄ, Poznań, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:
TOMASZ PAWIŃSKI, Warszawa, PL
GRZEGORZ ŚLIFIRSKI,
Grodzisk Mazowiecki, PL
DAWID KRYSIK, Poznań, PL

(74) Pełnomocnik:
rzecz. pat. Anna Cybulka

PL 241766 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C oraz preparat zawierający liposomalną witaminę C.

W związku z postępującym ubożeniem diety w cenne składniki odżywcze jak witaminy czy też minerały, podejmuje się działania zmierzające do ograniczenia takich niedoborów między innymi poprzez suplementację. Pozostaje jednak problem biodostępności przyjmowanych preparatów, rozumianej przez to w jakiej mierze przyswajają się one, a na ile organizm wydala je bez spożytkowania. Z tych powodów aby zwiększyć wchłanianie i zmniejszyć skutki uboczne podawania doustnego, witaminę C zamyka się w liposomach do podawania doustnego.

Z opisu wynalazku do zgłoszenia międzynarodowego WO 2012/094033 A1 znany jest sposób otrzymywania preparatu z zatrzymanym środkiem, obejmujący:

- solubilizację co najmniej około 18% wag. lipidów tworzących pęcherzyki w około 1–12% wag. wodnego rozpuszczalnika w temperaturze pokojowej z wytworzeniem roztworu lipidu;
- oddzielnie, solubilizację pewnej ilości tego środka w 0,005–0,01% wag. EDTA, w temperaturze pokojowej z wytworzeniem roztworu zawierającego ten środek;
- filtrowanie roztworu zawierającego ten środek;
- wstrzykiwanie strumienia roztworu lipidowego do roztworu zawierającego środek podczas mieszania;
- pozostawienie powstałego lipidu i roztworu zawierającego środek do uwodnienia przez co najmniej godzinę z częstym mieszaniem.

Po etapie hydratacji dodaje się większą ilość lipidu lub zagęszczacza do postaci żelu. Jako środek stosuje się kwas askorbinowy lub jego sól, natomiast jako rozpuszczalnik wodny stosuje się alkohol. Lipidy tworzące pęcherzyki zawierają co najmniej około 45–50% fosfatydylocholiny, przy czym fosfatydylocholina pochodzi z jaja lub soi.

Z opisu tego zgłoszenia znana jest też kompozycja liposomowa, złożona z:

- co najmniej około 18% wag. lipidów tworzących pęcherzyki; 0,005–0,1% wag. EDTA;
- 10–12% wag. alkoholu;
- liposomów o średniej wielkości cząstek 200–500 nm i co najmniej około 22% wag. kwasu askorbinowego lub jego soli, zamkniętego w liposomach. Lipidy tworzące pęcherzyki stanowią co najmniej około 45–50% fosfatydylocholiny. Lipidami fosfatydylocholinowymi są fosfatydylocholina sojowa, ponadto kompozycja zawiera 0–0,6% wag. gumy ksantanowej. Kwas askorbinowy lub jego sól stanowi askorbinian sodu.

Z polskiego opisu patentowego numer PL 197 938 B1 znany jest sposób wytwarzania preparatu liposomowego substancji przeciwnowotworowej o wysokim stopniu zamykania substancji aktywnej. Zgodnie z tym sposobem:

- a) roztwór substancji aktywnej w rozpuszczalniku, korzystnie alkanolu, łączy się z roztworem składników lipidowych w rozpuszczalniku organicznym, przy czym składniki lipidowe stanowią mieszaninę co najmniej jednej pochodnej fosfolipidu i co najmniej jednej pochodnej alki-
lofenolu przedstawionej wzorem ogólnym 1, w którym:

m – stanowi liczbę całkowitą od 0 do 4;

R₁ – oznacza C=O lub O;

X – stanowi grupę NR₂R₃;

Y – stanowi -H, -O-, -N-, -OR₄ -NR₄ lub grupę monosacharydową,

przy czym

(i) gdy R₁ stanowi C=O, to X stanowi grupę NR₂R₃, w której R₂ oznacza atom wodoru lub grupę alkilową C₁–C₃, R₃ – oznacza grupę alkilową C₁–C₆ podstawioną co najmniej jedną grupą hydroksylo-
wą, a Y stanowi -H, -N- lub -NR₄, gdzie R₄ oznacza atom wodoru lub grupę alkilową C₁–C₂; lub też Y stanowi -N-, a R₁ i R₂ razem z Y tworzą nasycony pierścień heterocykliczny;
zaś

(ii) gdy R₁ stanowi O, to X stanowi grupę monosacharydową, a Y stanowi atom wodoru lub grupę monosacharydową połączoną z X poprzez atom tlenu,

- b) odpędza się rozpuszczalniki,

- c) film lipidowy otrzymany w etapie b) rozprowadza się w rozpuszczalniku organicznym, korzystnie alkanolu i poddaje liofilizacji,

- d) liofilizat z etapu c) hydratyzuje się wodą, otrzymując pierwotny preparat wielowarstwowych liposomów,
- e) preparat pierwotny poddaje się dodatkowym procesom fizycznym, otrzymując zawiesinę kalibrowanych liposomów dwuwarstwowych o wielkości 50–200 nm, korzystnie 100 nm, a następnie
- f) zawiesinę liposomową z ewentualnym dodatkiem substancji pomocniczych, takich jak substancje kriochronne, poddaje się liofilizacji.

Zawiesinę w etapie c) zamraża się przez zanurzenie kolby z zawiesiną, ewentualnie z dodatkiem substancji kriochronnych, w ciekłym azocie, a następnie rozmrażanie w temperaturze 40°C. Czynności te powtarza się 7 do 10 razy. Badania przy użyciu elektronowego mikroskopu transmisyjnego Jeol 100C, przy powiększeniach 5000–100 000 $\times$ wykazują, że wielokrotne zamrażanie i rozmrażanie zawiesiny liposomowej powoduje dwie istotne z punktu widzenia zastosowań farmaceutycznych zmiany: zmniejszenie warstwowości liposomów oraz ujednolicenie ich rozmiarów. Podobne zadanie spełnia poddawanie zawiesiny liposomów krótkotrwałemu działaniu ultradźwięków, czyli sonikacja. Właściwy liposomowy preparat substancji aktywnej otrzymuje się przez hydratację preparatu pierwotnego, polegającą na wytrząsaniu, mieszaniu mechanicznym, lub poddaniu preparatu działaniu ultradźwięków (sonikacji) w obecności wody, roztworu soli fizjologicznej, buforu i ewentualnie roztworu innych farmaceutycznie dopuszczalnych substancji. Otrzymany hydratyzowany preparat liposomowy składa się z liposomów wielo- i jednowarstwowych o średniej wielkości 80–1500 nm. Dwuwarstwowe liposomy o korzystnej wielkości 100–200 nm można uzyskać poddając zawiesinę liposomową odpowiednim procesom fizycznym, takim jak wymrażanie, ekstruzja, homogenizacja wysokociśnieniowa lub sonikacja. Odpowiednią metodą ujednolicania wielkości liposomów stanowi kilkukrotna ekstruzja zawiesiny przez membranę poliwęglanową o średnicy porów 50–200 nm, korzystnie o średnicy 100 nm. Przeprowadzona kilkukrotnie ekstruzja pozwala na przeprowadzenie w jednej operacji jednostkowej trzech procesów wytwarzania preparatu liposomowego: ładowania pęcherzyków substancją aktywną, kalibracji liposomów i sterylizacji preparatu. Hydratacja liofilizatu substancji przeciwnowotworowej o ujawnionym składzie nawet w najprostszych warunkach, przez wytrząsanie składników lipidowych z wodnym roztworem substancji czynnej, zapewnia uzyskanie liposomowego preparatu o wysokim stopniu enkapsulacji, przekraczającym 95%.

Z tego opisu patentowego znana jest też kompozycja farmaceutyczna do podawania pozajelitowego charakteryzująca się tym, że zawiera liposomowy preparat substancji aktywnej zamkniętej w pęcherzykach liposomowych stanowiących kompozycję składników lipidowych w proporcji 1 część wagowa substancji aktywnej na 10 do 30 części wagowych składników lipidowych, korzystnie 1 część wagowa substancji aktywnej na 10 do 20 części wagowych składników lipidowych, przy czym kompozycja składników lipidowych obejmuje co najmniej jedną pochodną fosfolipidu i co najmniej jedną pochodną alkilofenolu przedstawioną wzorem ogólnym 1, w którym:

m – stanowi liczbę całkowitą od 0 do 4;

R₁ – oznacza C=O lub O;

X – stanowi grupę NR₂R₃;

Y – stanowi -H, -O-, -N-, -OR₄, -NR₄ lub grupę monosacharydową,

przy czym

(iii) gdy R₁ stanowi C=O, to X stanowi grupę NR₂R₃, w której R₂ oznacza atom wodoru lub grupę alkilową C₁-C₃, R₃ oznacza grupę alkilową C₁-C₆ podstawioną co najmniej jedną grupą hydroksylową, a Y stanowi -H, -N- lub -NR₄, gdzie R₄ oznacza atom wodoru lub grupę alkilową C₁-C₂;

lub też Y stanowi -N-, a R₁ i R₂ razem z Y tworzą nasycony pierścień heterocykliczny; zaś

(iv) gdy R₁ stanowi O, to X stanowi grupę monosacharydową, a Y stanowi atom wodoru lub grupę monosacharydową połączoną z X poprzez atom tlenu; oraz farmaceutycznie dopuszczalne nośniki i/lub substancje pomocnicze.

Farmaceutycznie dopuszczalny nośnik stanowi dowolna znana z praktyki farmaceutycznej substancja lub mieszanina substancji nośnikowych nie wywierających własnego działania farmakologicznego, rozcieńczalnik lub substancja pomocnicza, przeznaczone do podawania substancji biologicznie czynnych. W związku z wynalazkiem korzystne do stosowania nośniki odpowiednie do podawania kompozycji drogą dożylną obejmują na przykład wyjałowione roztwory wodne, takie jak roztwór soli fizjologicznej, roztwory węglowodanów, np. glukozy, mannitolu, dekstrozy, laktozy i roztwory wodne buforów, na przykład buforu fosforanowego. Ponadto kompozycja może zawierać inne substancje pomocnicze, tradycyjnie stosowane w celu zapewnienia izoosmotyczności, przeciwutleniacze, sub-

stancje konserwujące i inne, nie wykazujące niezgodności z substancją aktywną i ze składnikami dwuwarstwy lipidowej. W korzystnej postaci wykonania wynalazku, do kompozycji farmaceutycznej dodaje się glukozę, w ilości około 5:1 (w/w) w stosunku do składników lipidowych. Glukoza pełni w kompozycji funkcję substancji wypełniającej i krioochronnej. Stosuje się ilość glukozy zapewniającą odpowiednią izoosmotyczność i izochydryczność kompozycji, tak że preparat przed użyciem można odtwarzać wyłącznie wodą do iniekcji, uzyskując roztwór o odpowiednim stężeniu glukozy (5%), bez konieczności stosowania dodatkowych rozcieńczalników substancji pomocniczych. Kompozycja farmaceutyczna może mieć postać zawiesiny liposomowego preparatu substancji przeciwnowotworowej gotowej do podania, postać liofilizatu do odtwarzania *ex tempore* bądź też koncentratu do sporządzania wlewów dożylnych. Liofilizat występuje w jednostkowej postaci dawkowania, korzystnie w ampułce, zawierającej terapeutycznie skuteczną ilość substancji aktywnej. Kompozycję w jednostkowych postaciach dawkowania otrzymuje się przez rozdysponowanie jałowej zawiesiny w sterylnych warunkach do ampułek, liofilizację i szczelne zamknięcie. Liofilizat odtwarza się wodą do iniekcji lub innym farmaceutycznie dopuszczalnym rozcieńczalnikiem bezpośrednio przed użyciem. Skład warstwy lipidowej według wynalazku umożliwia uzyskanie liposomowego preparatu przeciwnowotworowych substancji aktywnych o korzystnym stosunku lipid/substancja aktywna, charakteryzującego się wysoką wydajnością zamykania substancji aktywnej i odpowiednią trwałością. Preparat liposomowy znajduje zastosowanie do wytwarzania liofilizowanych kompozycji do podawania pozajelitowego, zawierających terapeutycznie skuteczną ilość substancji aktywnej. Liofilizowane kompozycje według wynalazku charakteryzują się wysoką trwałością przy przechowywaniu w temperaturach od 4°C do 30°C.

Większość znanych produktów w tym kompozycji farmaceutycznych zawiera liposomalną witaminę C w formie płynnej (żel). Jest to istotny problem technologiczny, ponieważ wymaga on stosowania specjalnych saszetek lub butelek wypełnionych azotem, które po otwarciu należy przechowywać w lodówce i spożyć zawartość w przeciągu 3 miesięcy. Alternatywnym rozwiązaniem jest zastosowanie kapsułki z płynną, liposomalną witaminą C oraz wypełnioną azotem, natomiast jest to skomplikowana i droga technologia.

Celem wynalazku jest sposób otrzymywania produktu mającego postać liposomalnej witaminy C w formie proszku, którą można zamknąć w każdym rodzaju kapsułki twardej (żelatynowej, celulozowej, pullulanowej) oraz produkt w postaci liposomalnej witaminy C w formie proszku, którą można zamknąć w każdym rodzaju kapsułki twardej (żelatynowej, celulozowej, pullulanowej).

Istota sposobu otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, w którym zgodnie z wynalazkiem, lecytynę rozpuszcza się w wodzie oczyszczonej w zakresie temperatur 5°C +/-5°C do 90°C +/-5°C, optymalnie w temperaturze 70°C, ponadto witaminę C rozpuszcza się w wodzie oczyszczonej w zakresie temperatur 5°C +/-5°C do 90°C +/-5°C, optymalnie w temperaturze 50°C, po czym powstałe roztwory łączy się intensywnie mieszając, **charakteryzuje się tym, że** w temperaturze od 15°C +/-5°C do 80°C +/-5°C, a korzystnie w temperaturze 50°C +/-5°C, rozpuszcza się inulinę w wodzie oczyszczonej, po czym powstałą mieszaninę dodaje się do zhomogenizowanej emulsji powstałej z połączenia roztworu wodnego lecytyny i roztworu wodnego witaminy C, intensywnie mieszając je w temperaturze od 15°C +/-5°C do 80°C +/-5°C, a korzystnie w temperaturze 50°C +/-5°C, przy czym w powstałej mieszaninie zachowuje się stosunek zawartości lecytyny do inuliny w przedziale od 1:0,1 do 1:5, a korzystnie w stosunku zawartości lecytyny do inuliny wynoszącym od 1:0,88, następnie powstałą zawiesinę poddaje się suszeniu w suszarni rozpyłowej w temperaturze znajdującej się w przedziale od 100°C +/-5°C do 200°C +/-5°C, a korzystnie w temperaturze wynoszącej 135°C +/-5°C. Według innej cechy wynalazku jako witaminę C stosuje się kwas L-askorbinowy oraz jego estry. Według kolejnej cechy wynalazku jako witaminę C stosuje dopuszczone do spożycia sole kwasu L-askorbinowego takie jak L-askorbinian sodu, L-askorbinian potasu, L-askorbinian wapnia, L-askorbinian magnezu, L-askorbinian cynku, 6-palmitynian L-askorbylu. Według następnej cechy wynalazku jako lecytynę stosuje się lecytynę słonecznikową. Według innej cechy wynalazku jako lecytynę stosuje się lecytynę sojową. Według kolejnej cechy wynalazku jako lecytynę stosuje się lecytynę rzepakową. Według następnej cechy wynalazku jako lecytynę stosuje się lecytynę z żółtek jaj. Według innej cechy wynalazku utrzymuje się stosunek zawartości witaminy C do lecytyny w przedziale 1:50, a korzystnie 1:1. Według kolejnej cechy wynalazku składniki do sporządzenia zawiesiny liposomowej dobiera się zachowując ich procentowy udział, w którym witamina C stanowi 9,6%, lecytyna stanowi 9,6%, inulina stanowi 8,5%, natomiast woda stanowi 72,3%. Według następnej cechy wynalazku suszenie prowadzi się w suszarni rozpyłowej w temperaturze znajdującej się w przedziale od 100°C +/-5°C do 200°C +/-5°C, a korzystnie w temperaturze wynoszącej 135°C +/-5°C. Według innej cechy

wynalazku suszenie prowadzi się w liofilizatorze półkowym, w przedziale temperatur od $-200,8^{\circ}\text{C}$ $\pm 5^{\circ}\text{C}$ do -20°C $\pm 5^{\circ}\text{C}$, korzystnie w temperaturze -50°C $\pm 5^{\circ}\text{C}$.

Istota preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, w którym zgodnie z wynalazkiem zawarta jest również lecytyna, **charakteryzuje się tym, że** ma postać proszku zawierającego inulinę, przy czym stosunek zawartości witaminy C do lecytyny mieści się w przedziale 1:50, korzystnie 1:1, natomiast stosunek lecytyny do inuliny mieści się w przedziale od 1:0,1 do 1:5, korzystnie 1:0,88.

Według innej cechy wynalazku jako witaminę C zawiera kwas L-askorbinowy i/lub jego estry. Według kolejnej cechy wynalazku jako witaminę C zawiera dopuszczone do spożycia sole kwasu L-askorbinowego takie jak L-askorbinian sodu, L-askorbinian potasu, L-askorbinian wapnia, L-askorbinian magnezu, L-askorbinian cynku, 6-palmitinian L-askorbylu. Według następnej cechy wynalazku jako lecytynę zawiera lecytynę słonecznikową. Według innej cechy wynalazku jako lecytynę zawiera lecytynę sojową. Według kolejnej cechy wynalazku jako lecytynę zawiera lecytynę rzepakową. Według następnej cechy wynalazku jako lecytynę zawiera lecytynę z żółtek jaj.

Korzystnym skutkiem stosowania wynalazku jest rozwiązanie dotyczące sposobu otrzymywania produktu mającego postać liposomalnej witaminy C w formie proszku, którą można zamknąć w każdym rodzaju kapsułki twardej (żelatynowej, celulozowej, pullulanowej) oraz produkt w postaci liposomalnej witaminy C w formie proszku, którą można zamknąć w każdym rodzaju kapsułki twardej (żelatynowej, celulozowej, pullulanowej). Korzystne skutki potwierdziły wyniki badań zilustrowane rysunkiem, gdzie na Fig. 1a przedstawiono wyniki uzyskane podczas badania wielkości cząstek wynalazku w roztworze wodnym w postaci trzech niezależnych pomiarów nałożonych na siebie, na Fig. 1b przedstawiono uśredniony wynik uzyskany z trzech niezależnych pomiarów, natomiast na Fig. 1c przedstawiono raport urządzenia z pomiaru uśrednionego, powstałego poprzez nałożenie na siebie i dokonanie uśrednienia (Average) trzech poprzednich wykresów, poza tym na Fig. 2a przedstawiono wyniki uzyskane podczas badania wielkości cząstek wynalazku po dwugodzinnej inkubacji w 0,1 M HCl w temperaturze 37°C w postaci trzech niezależnych pomiarów nałożonych na siebie, na Fig. 2b przedstawiono uśredniony wynik uzyskany z trzech niezależnych pomiarów, natomiast na Fig. 2c przedstawiono raport urządzenia z pomiaru uśrednionego, powstałego poprzez nałożenie na siebie i dokonanie uśrednienia (Average) trzech poprzednich wykresów. Analiza wyników badań pozwala wnioskować, iż badany wynalazek podczas dwugodzinnej inkubacji w 0,1 M roztworze HCl jest stabilny o czym świadczą marginalne zmiany w dystrybucji, a tym samym znikoma agregacja liposomów. Potwierdza to również analiza fotograficzna, obraz jest klarowny.

W przypadku preparatów konkurencyjnych dostępnych na rynku zaobserwowano znaczące zmiany w wielkościach liposomów – pojawiają się zupełnie nowe rozmiary bardzo rozbieżne od wyjściowych. W dwóch produktach konkurencyjnych można zaobserwować obecność liposomów o rozmiarze mniejszym niż 100 nm co wskazuje na nanomateriał, który nie jest dopuszczalny w środkach spożywczych, a tym samym w suplementach diety. Również analiza fotograficzna produktów rynkowych wskazuje na mniejszą stabilność, obrazy charakteryzują się mniejszą klarownością oraz sporą agregacją struktur.

Analizując publikacje naukowe i literaturę można wyciągnąć wnioski, iż mały rozmiar liposomów może mieć korzystny wpływ na przyswajalność. Inulina jako nośnik zabezpiecza liposomy przed agregacją w surowcu. Świadczy o tym utrzymanie się bardzo zbliżonych rozmiarów liposomów.

Sposób według wynalazku oraz preparat według wynalazku zostaną bliżej wyjaśnione za pomocą ich przykładowych realizacji.

Przykład 1

W sposobie otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, według przykładowej realizacji wynalazku 100,0 kg lecytyny słonecznikowej SF100 rozpuszcza się w 256,75 kg wody oczyszczonej – zabieg prowadzi się w temperaturze 70°C $\pm 5^{\circ}\text{C}$. Niezależnie od tego 100,0 kg witaminy C, w postaci kwasu L-askorbinowego, rozpuszcza się w 220,05 kg wody oczyszczonej, przy czym zabieg prowadzi się w temperaturze 50°C $\pm 5^{\circ}\text{C}$, natomiast wodę do rozpuszczenia witaminy C podaje się w temperaturze 62°C $\pm 5^{\circ}\text{C}$. W trakcie tego zabiegu po dodaniu witaminy C temperatura roztworu spada do 50°C $\pm 5^{\circ}\text{C}$. Przy intensywnym mieszaniu łączy się ze sobą roztwór lecytyny słonecznikowej z wodą oraz roztwór witaminy C z wodą, w temperaturze 25°C $\pm 5^{\circ}\text{C}$, przy czym tak powstałą emulsję homogenizuje się w porcjach po 20 L. Czas homogenizowania dla każdej porcji przyjmuje się jako 5 minut. Poza tym w temperaturze 50°C $\pm 5^{\circ}\text{C}$ rozpuszcza się 88,46 kg inuliny w 298,5 kg wody oczyszczonej. W temperaturze 25°C $\pm 5^{\circ}\text{C}$ do emulsji, powstałej z połączenia się

ze sobą roztworu lecytyny słonecznikowej z wodą oraz roztworu witaminy C z wodą, dodaje się roztwór inuliny z wodą intensywnie mieszając. Inulinę traktuje się jako nośnik zabezpieczający liposomy przed agregacją w surowcu. Po zakończeniu procesu otrzymywania zawiesiny liposomowej poddaje się ją suszeniu w suszarni rozpyłowej w temperaturze około $135^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.

Przykład 2

W sposobie otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, według przykładowej realizacji wynalazku 100,0 kg witaminy C, w postaci L-askorbinianu magnezu, rozpuszcza się w 220,05 kg wody oczyszczonej, przy czym zabieg prowadzi się w temperaturze $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, natomiast wodę do rozpuszczenia witaminy C podaje się w temperaturze $90^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, w trakcie tego zabiegu po dodaniu witaminy C temperatura roztworu spada do $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Niezależnie od tego 200,0 kg lecytyny sojowej rozpuszcza się w 256,75 kg wody oczyszczonej – zabieg prowadzi się w temperaturze $90^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Po rozpuszczeniu roztwór schłodzić do $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Roztwór witaminy C o temp. $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ wprowadza się do roztworu lecytyny o temp. $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ intensywnie mieszając przez kilka minut przy pomocy mieszadła mechanicznego. Mieszaninę homogenizuje się w porcjach po 20 L. Czas homogenizowania dla każdej porcji przyjmuje się jako 5 minut. Poza tym w temperaturze $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ rozpuszcza się 180 kg inuliny w 298,5 kg wody oczyszczonej. W temperaturze $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ do emulsji, powstałej z połączenia się ze sobą roztworu lecytyny sojowej z wodą oraz roztworu witaminy C z wodą, dodaje się roztwór inuliny z wodą intensywnie mieszając. Po zakończeniu procesu otrzymywania zawiesiny liposomowej poddaje się ją suszeniu w suszarni rozpyłowej w temperaturze około $190^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.

Przykład 3

Preparat zawierający liposomalną witaminę C w postaci kwasu L-askorbinowego, w którym zawarta jest również lecytyna słonecznikowa, według przykładowej realizacji wynalazku ma postać proszku zawierającego inulinę, przy czym stosunek zawartości witaminy C do lecytyny wynosi 1:1, natomiast stosunek lecytyny do inuliny wynosi 1:0,88.

Przykład 4

Preparat zawierający liposomalną witaminę C w postaci L-askorbinianu magnezu, w którym zawarta jest również lecytyna sojowa, według przykładowej realizacji wynalazku ma postać proszku zawierającego inulinę, przy czym stosunek zawartości witaminy C do lecytyny wynosi 1:5, natomiast stosunek lecytyny do inuliny wynosi 1:2

Wyniki badania stabilności produktu według przykładowego procesu wynalazku, otrzymanego technologią według niniejszego wynalazku przedstawiono w Tabeli 1 oraz w Tabeli 2.

Parametry badane: wygląd, pH, zapach

Temperatura badania: 25°C

Tabela 1

Formulacja

Lp	Nazwa	Ilość %
1.	Witamina C (kwas L-askorbinowy)	34,67
2.	Lecytyna słonecznikowa	34,67
3.	Inulina	30,66

Tabela 2

0	Po upływie 1 miesiąca	Po upływie 2 miesięcy	Po upływie 3 miesięcy
+	+	+	+

+ – produkt w pełni stabilny

+/- – co najmniej jeden kluczowy parametr poza specyfikacją

- – całkowita utrata stabilności

Wyniki badania wskazują na pełną stabilność w zakresie wyglądu, pH oraz zapachu.

Wyniki badania stabilności produktu według przykładowego procesu wynalazku, otrzymanego sposobem według niniejszego wynalazku przedstawiono w Tabeli 1 oraz w Tabeli 2.

Parametry badane: wygląd, pH, zapach

Temperatura badania: 30°C

Tabela 1

Formulacja

L.p	Nazwa	Ilość %
1.	Witamina C (kwas L-askorbinowy)	34,67
2.	Lecytyna słonecznikowa	34,67
3.	Inulina	30,66

Tabela 2

0	Po upływie 1 miesiąca	Po upływie 2 miesięcy	Po upływie 3 miesięcy
+	+	+	+

+ – produkt w pełni stabilny

+/- – co najmniej jeden kluczowy parametr poza specyfikacją

- – całkowita utrata stabilności

Wyniki badania wskazują na pełną stabilność w zakresie wyglądu, pH oraz zapachu.

Raport z badań stabilności liposomowych suplementów diety zawierających witaminę C w 0,1 M roztworze HCl w temperaturze 37°C

Metody:

Analiza wielkości cząstek metodą PCS

Inkubacja preparatów w 0,1 M roztworze HCl

Badania wynalazku

Badania stabilności liposomowych suplementów diety zawierających witaminę C w 0,1 M roztworze HCl w temperaturze 37°C

Pomiaru wielkości cząstek dokonano za pomocą urządzenia NanoSizer ZS (Malvern Instruments, Wielka Brytania) w funkcji „volume”. W przypadku nierozcieńczonych preparatów 10 µl próbki liposomów (po dokładnym wymieszaniu preparatów) rozcieńczano wodą dejonizowaną do objętości 1000 µl i umieszczano w kuwecie przyrządu a następnie dokonywano co najmniej trzech niezależnych pomiarów rozkładu wielkości. W przypadku zawiesin uzyskanych po inkubacji rozcieńczonych preparatów 1:133 roztworem 0,1 M HCl w kuwecie umieszczano 1 ml takiej zawiesiny.

Pomiarów zachowania badanych preparatów wykonano w następujący sposób.

Odpowiednie ilości preparatów (376 µl) mieszano z 49,6 ml roztworu 0,1 M roztworu HCl o temperaturze 37°C znajdującego się w plastikowych probówkach wirówkowych typu Falcon o objętości 50 ml tak aby uzyskać jednorodną zawiesinę. Następnie probówki umieszczono w łaźni wodnej o takiej samej temperaturze i inkubowano przez okres 2 godzin.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, w którym lecytynę rozpuszcza się w wodzie oczyszczonej w zakresie temperatur 5°C +/-5°C do 90°C +/-5°C, optymalnie w temperaturze 70°C, ponadto witaminę C rozpuszcza się w wodzie oczyszczonej w zakresie temperatur 5°C +/-5°C do 90°C +/-5°C, optymalnie w temperaturze 50°C, po czym powstałe roztwory łączy się intensywnie mieszając, **znamienny tym**, że w temperaturze od 15°C +/-5°C do 80°C +/-5°C, a korzystnie w temperaturze 50°C +/-5°C, rozpuszcza się inulinę w wodzie oczyszczonej, po czym powstałą mieszaninę dodaje się do zhomogenizowanej emulsji powstałej z połączenia roztworu wodnego lecytyny i roztworu wodnego

witaminy C, intensywnie mieszając je w temperaturze od 15°C +/-5°C do 80°C +/-5°C, a korzystnie w temperaturze 50°C +/-5°C, przy czym w powstałej mieszaninie zachowuje się stosunek zawartości lecytyny do inuliny w przedziale od 1:0,1 do 1:5, a korzystnie w stosunku zawartości lecytyny do inuliny wynoszącym od 1:0,88, następnie powstałą zawiesinę poddaje się suszeniu w suszarni rozpyłowej w temperaturze znajdującej się w przedziale od 100°C +/-5°C do 200°C +/-5°C, a korzystnie w temperaturze wynoszącej 135°C +/-5°C.

2. Sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako witaminę C stosuje się kwas L-askorbinowy i/lub jego estry.
3. Sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako witaminę C stosuje dopuszczone do spożycia sole kwasu L-askorbinowego takie jak L-askorbinian sodu, L-askorbinian potasu, L-askorbinian wapnia, L-askorbinian magnezu, L-askorbinian cynku, 6-palmitynian L-askorbylu.
4. Sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako lecytynę stosuje się lecytynę słonecznikową.
5. Sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako lecytynę stosuje się lecytynę sojową.
6. Sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako lecytynę stosuje się lecytynę rzepakową.
7. Sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako lecytynę stosuje się lecytynę z żółtek jaj.
8. Sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że utrzymuje się stosunek zawartości witaminy C do lecytyny w przedziale 1:50, a korzystnie 1:1.
9. Sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że składniki do sporządzenia zawiesiny liposomowej dobiera się zachowując ich procentowy udział, w którym witamina C stanowi 9,6%, lecytyna stanowi 9,6%, inulina stanowi 8,5%, natomiast woda stanowi 72,3%.
10. Sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że suszenie prowadzi się w suszarni rozpyłowej w temperaturze znajdującej się w przedziale od 100°C +/-5°C do 200°C +/-5°C, a korzystnie w temperaturze wynoszącej 135°C +/-5°C.
11. Sposób otrzymywania preparatu zawierającego liposomalną witaminę C, według zastrz. 1, **znamienny tym**, że suszenie prowadzi się w liofilizatorze półkowym, w przedziale temperatur od -200,8°C +/-5°C do -20°C +/-5°C, korzystnie w temperaturze -50°C +/-5°C.
12. Preparat zawierający liposomalną witaminę C, w którym zawarta jest również lecytyna, **znamienny tym**, że ma postać proszku zawierającego inulinę, przy czym stosunek zawartości witaminy C do lecytyny mieści się w przedziale 1:50, korzystnie 1:1, natomiast stosunek lecytyny do inuliny mieści się w przedziale od 1:0,1 do 1:5, korzystnie 1:0,88.
13. Preparat zawierający liposomalną witaminę C, w którym zawarta jest również lecytyna, według zastrz. 12, **znamienny tym**, że jako witaminę C zawiera kwas L-askorbinowy i/lub jego estry.
14. Preparat zawierający liposomalną witaminę C, w którym zawarta jest również lecytyna, według zastrz. 12, **znamienny tym**, że jako witaminę C zawiera dopuszczone do spożycia sole kwasu L-askorbinowego takie jak L-askorbinian sodu, L-askorbinian potasu, L-askorbinian wapnia, L-askorbinian magnezu, L-askorbinian cynku, 6-palmitynian L-askorbylu.
15. Preparat zawierający liposomalną witaminę C, w którym zawarta jest również lecytyna, według zastrz. 12, **znamienny tym**, że jako lecytynę zawiera lecytynę słonecznikową.
16. Preparat zawierający liposomalną witaminę C, w którym zawarta jest również lecytyna, według zastrz. 12, **znamienny tym**, że jako lecytynę zawiera lecytynę sojową.
17. Preparat zawierający liposomalną witaminę C, w którym zawarta jest również lecytyna, według zastrz. 12, **znamienny tym**, że jako lecytynę zawiera lecytynę rzepakową.
18. Preparat zawierający liposomalną witaminę C, w którym zawarta jest również lecytyna, według zastrz. 12, **znamienny tym**, że jako lecytynę zawiera lecytynę z żółtek jaj.

Rysunki

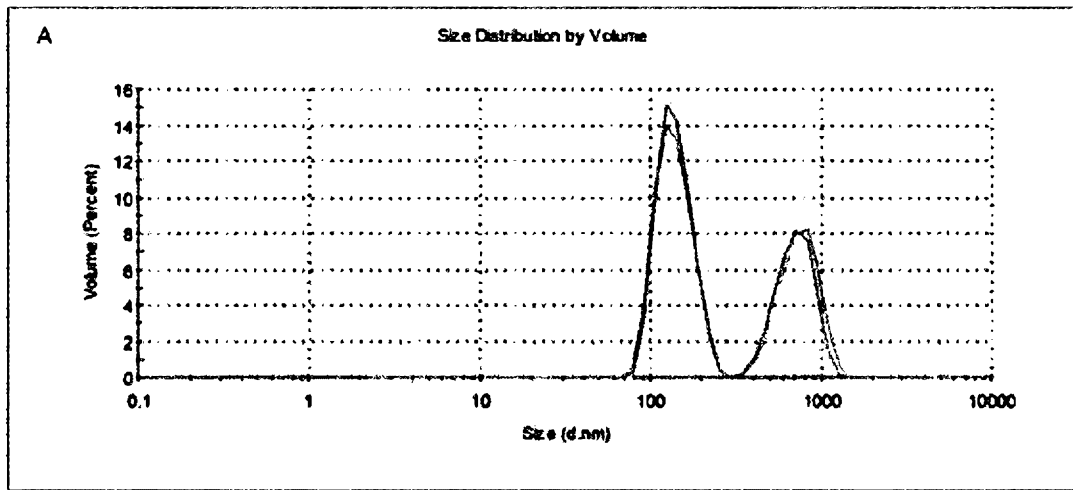


Fig. 1a

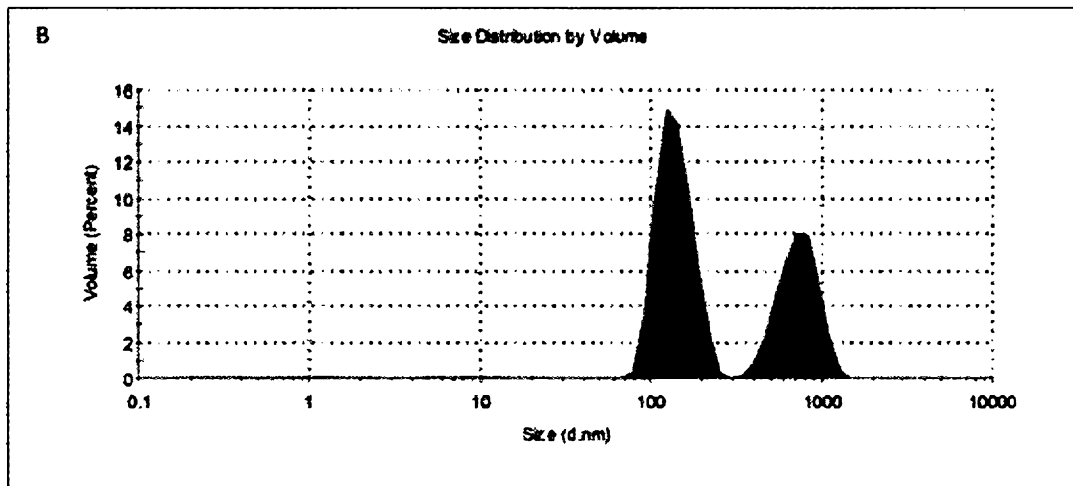


Fig. 1b

C

Sample Name: Liposomy Badane w wodzie average
 SOP Name: Liposomy w plastikowej 3x sop
 File Name: Uslugi.dls
 Record Number: 67
 Material Rf: 1.59
 Material Absorbion: 0,010
 Dispersant Name: Water
 Dispersant Rf: 1.330
 Viscosity (cP): 0.8872
 Measurement Date and Time: 22 stycznia 2019 13 14 58

Temperature (°C): 25.1
 Count Rate (kcps): 223.3
 Cell Description: Disposable sizing cuvette
 Duration Used (s): 70
 Measurement Position (mm): 4.65
 Attenuator: 6

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 167,3	Peak 1: 140,1	62,0	32,82
Pdk 0,204	Peak 2: 742,3	38,0	187,3
Intercept: 0,943	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality : Good

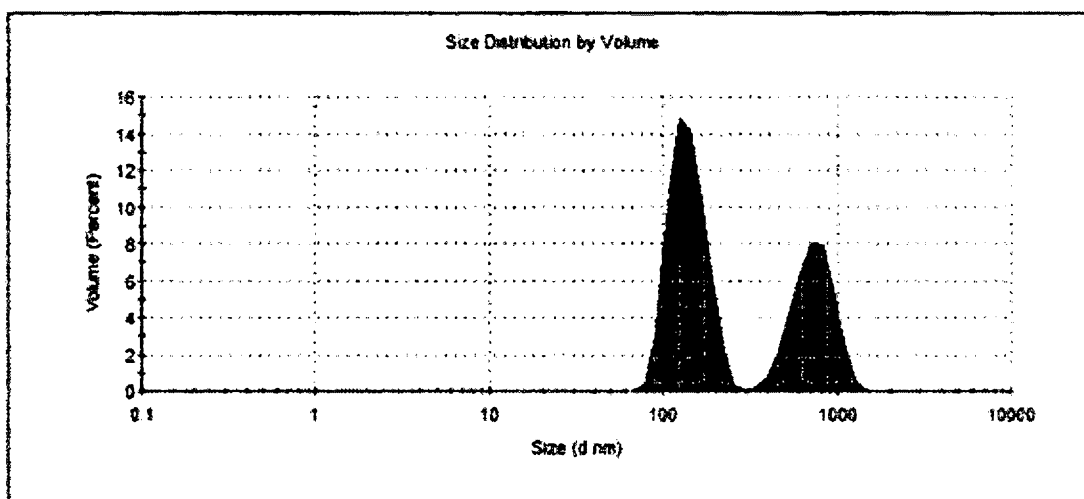
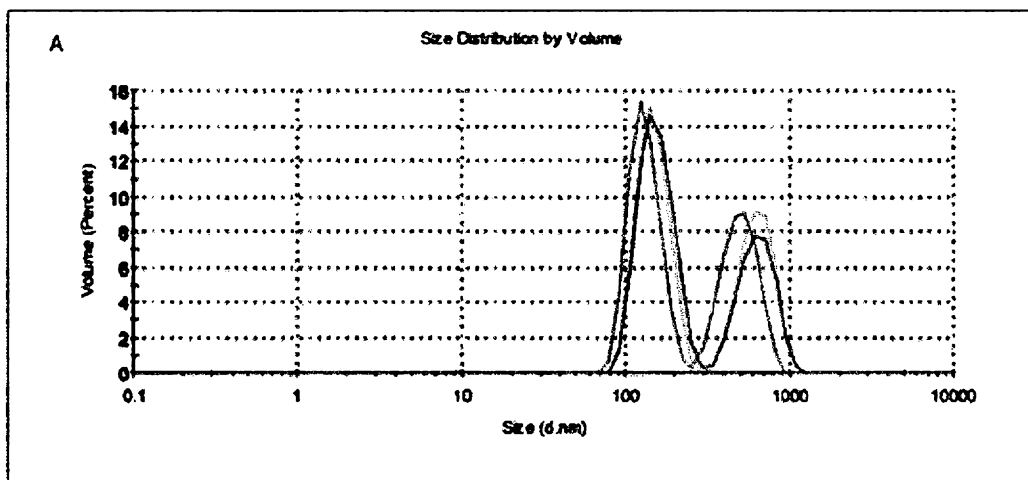
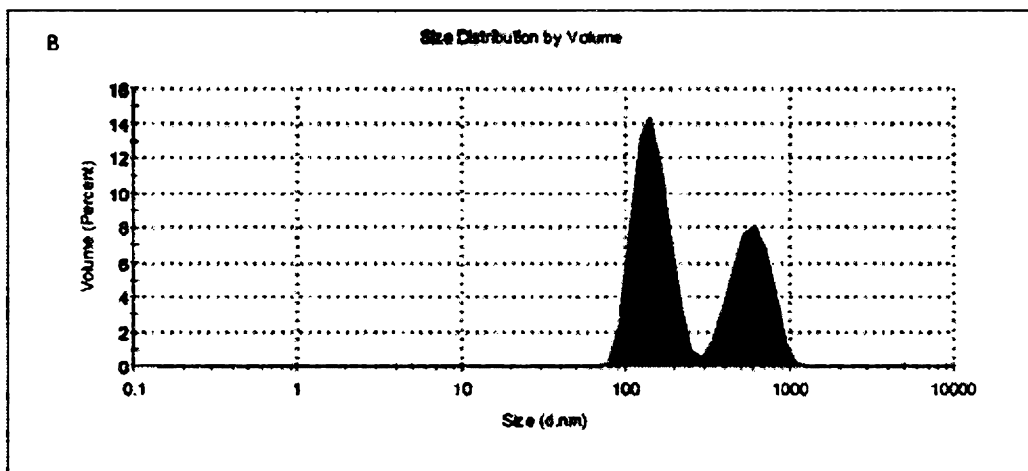


Fig. 1c

**Fig. 2a****Fig. 2b**

Sample Name: Liposomy Badane 2h w 37C i 0,1 N HCl Average
SOP Name: Liposomy w plashkovej 3L.sop
File Name: Uskugi.dts
Record Number: 26
Material Rt: 1.59
Material Absorption: 0.010
Dispersant Name: Water
Dispersant Rt: 1.330
Viscosity (cP): 0.8872
Measurement Date and Time: 21 stycznia 2019 16:40:31

Temperature (°C): 24.9
Count Rate (kcps): 135.9
Cell Description: Disposable sizing cuvette
Duration Used (s): 80
Measurement Position (mm): 4.65
Attenuator: 6

	Size (d.nm):	% Volume:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 184.6	Peak 1: 147.5	60.7	37.35
Pdl: 0.217	Peak 2: 594.1	39.3	157.0
Intercept: 0.961	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality: Good

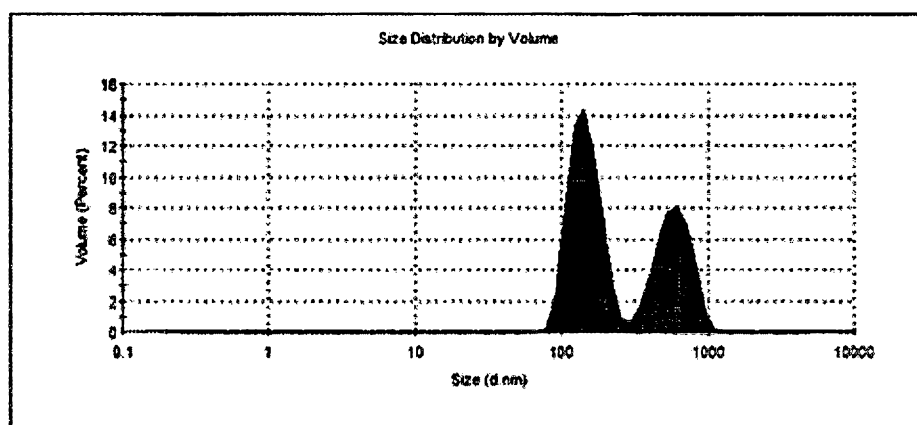


Fig. 2c