



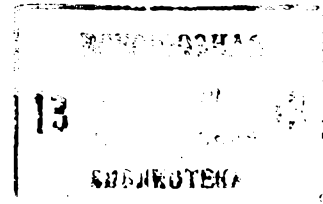
СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1112056

3 (5D) C 12 N 9/18; C 12 N 11/02

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



(21) 3581644/28-13
(22) 18.02.83
(46) 07.09.84. Бюл. № 33
(72) Р.Б.Айсина, Н.Б.Демина, Н.Ф.Казанская, В.Я.Лебеденко, А.И.Тенцова, М.М.Рахимов и К.Давранов
(71) МГУ им. М.В.Ломоносова
(53) 577.15(088.8)
(56) 1. Патент США № 3943063, кл. 252-316, 1976.
2, Патент США № 3691090, кл. 252-316, 1972.
(54)(57) 1. СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МИКРОКАПСУЛИРОВАННОЙ ЛИПАЗЫ путем диспергирования ее порошка в растворе ацетилфталилцеллюлозы в органическом растворителе, добавления дисперсионной среды и испарения органического растворителя из полученной эмульсии, отличающийся

тем, что, с целью повышения стабильности фермента, используют липазу, предварительно смешанную с водорастворимым высокомолекулярным наполнителем при соотношении 1:0,25 - 0,75 соответственно.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что в качестве наполнителя используют желатин или эфиры целлюлозы, или крахмал, или поливиниловый спирт.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что, с целью упрощения процесса, в качестве органического растворителя используют ацетон.

4. Способ по пп. 1 и 3, отличающийся тем, что в качестве дисперсионной среды используют жидкий парафин.

(19) SU (11) 1112056 A

Изобретение относится к биохимии, а именно к способу получения микрокапсулированной липазы, которая может найти применение в медицине при заместительной терапии болезней, обусловленных дефицитом фермента.

Поскольку липаза инактивируется при кислых значениях pH, а действие фермента происходит в кишечнике, где значение pH составляет 7-8, для медицинского применения необходимо иметь препараты липазы, микрокапсулированной в оболочке, которая предохраняла бы липазу от действия желудочного сока, но растворялась в кишечнике.

Известен способ получения микрокапсулированной липазы, согласно которому путем высаживания полимера из раствора получают микрокапсулы с оболочкой из этилцеллюлозы [1].

Однако такая оболочка не растворяется ни в желудочном соке, ни в кишечнике, поэтому действие фермента может происходить очень медленно за счет диффузии.

Наиболее близким к предлагаемому по технической сущности и достигаемому результату является способ получения микрокапсулированной липазы путем диспергирования ее порошка в растворе ацетилфталилцеллюлозы в органическом растворителе, добавления дисперсионной среды и испарения органического растворителя из полученной эмульсии, при этом в качестве органического растворителя используют изопропанол, а в качестве дисперсионной среды - 30%-ный раствор хлорида кальция.

Оболочка микрокапсул формируется испарением изопропанола при 35°C и пониженном давлении [2].

Недостатком известного способа является невысокая стабильность фермента, который при инкубации в желудочном соке (pH 1,2) при 37°C в течение 30 мин сохраняет 5-10% первоначальной активности.

Цель изобретения - повышение стабильности фермента.

Указанная цель достигается тем, что согласно способу получения микрокапсулированной липазы путем диспергирования ее порошка в растворе ацетилфталилцеллюлозы в органическом растворителе, добавления дисперсионной среды и испарения органического растворителя из полученной эмульсии

используют липазу, предварительно смешанную с водорастворимым высокомолекулярным наполнителем при соотношении 1:0,25-0,75 соответственно.

При этом в качестве наполнителя используют желатин или эфиры целлюлозы, или крахмал, или поливиниловый спирт.

Целесообразно с целью упрощения процесса в качестве органического растворителя использовать ацетон.

В качестве дисперсионной среды обычно используют жидкий парафин.

Способ осуществляют следующим образом.

Порошок фермента в соотношении 1:0,25-0,75 смешивают с водорастворимым наполнителем, в качестве которого используют желатин, эфиры целлюлозы, крахмал, поливиниловый спирт, растворяют в небольшом количестве воды и высушивают. Полученную пластинку измельчают и диспергируют в растворе ацетилфталилцеллюлозы в ацетоне. К полученной суспензии приливают жидкий парафин и растворитель испаряют при комнатной температуре и нормальном давлении. Полученные микрокапсулы отделяют, промывают и сушат. В результате липаза полностью сохраняет свою активность. Оболочка из ацетилфталилцеллюлозы устойчива к действию желудочного сока и растворима в кишечном соке. Использование для капсулирования смеси липазы с наполнителем приводит к тому, что наполнитель защищает липазу от инактивации в процессе получения микрокапсул, а также от действия кислой среды. При инкубации при 37°C в течение 30 мин липаза, микрокапсулированная с наполнителем, сохраняет 54-65% активности, в то время как липаза, микрокапсулированная без наполнителя сохраняет 5-10%, а нативная липаза полностью теряет активность за 20 мин.

Пример 1. Липазу и метилцеллюлозу в соотношении 1:0,25 растворяют в минимальном количестве дистиллированной воды и высушивают при 4°C. Полученную однородную смесь измельчают до частиц диаметром меньше 250 мкм. 2 г этого порошка диспергируют в 15 мл 13,3%-ного раствора ацетилфталилцеллюлозы в ацетоне. К суспензии приливают 30 мл жидкого парафина и систему перемешивают в течение 1,5 ч при комнатной темпера-

туре до полного удаления ацетона и отверждения оболочек микрокапсул. Готовые микрокапсулы отфильтровывают от дисперсионной среды, промывают гексаном и сушат при комнатной температуре в течение 6 ч. Липаза после капсулирования полностью сохраняет свою активность. При инкубации микрокапсулированной липазы в желудочном соке при 37°C в течение 20 мин сохраняется 80% первоначальной активности, в течение 30 мин - 65%, в то время как нативная липаза в этих условиях полностью теряет активность за 20 мин.

Пример 2. Липазу и желатин в соотношении 1:0,5 растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды и далее поступают, как описано в примере 1. Препарат сохраняет 98% активности после микрокапсулирования и 55% активности после инкубации в желудочном соке в течение 30 мин.

Пример 3. Липазу и поливиниловый спирт в соотношении 1:0,75 растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды и далее поступают, как описано в примере 1. Препарат сохраняет 98% активности после микрокапсулирования и 65% активности после инкубации в желудочном соке в течение 30 мин.

Пример 4. Липазу и растворимый крахмал в соотношении 1:0,25 растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды и поступают, как описано в примере 1. Препарат сохраняет полностью ферментативную активность после микрокапсулирования и 60% активности после инкубации в желудочном соке в течение 30 мин.

Пример 5. Липазу и натрий-карбоксиметилцеллюлозу в соотношении 1:0,4 растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды и далее поступают, как описано в примере 1. Препарат после микрокапсулирования сохраняет 99% активности и 57% активности после инкубации в желудочном соке в течение 30 мин.

Пример 6 (контрольный). Микрокапсулирование проводят, используя липазу без наполнителя. 2,0 г липазы диспергируют в 15 мл 13,3%-ного раствора ацетилфталилцеллюлозы в ацетоне и далее поступают, как описано в примере 1.

После капсулирования липаза сохраняет 64,6% активности. После инкубации липаза сохраняет 64,6% активности. После инкубации микрокапсулированной липазы в желудочном соке в течение 20 мин сохраняется 10% активности, через 30 мин - 5%.

Редактор С. Пекарь Составитель О. Скородумова
Техред Т. Фанта Корректор В. Синицкая

Заказ 6419/18 Тираж 521 Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ИПИ "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4