

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10)

PL 244834 B1

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **438767**

(22) Data zgłoszenia: **2021.08.19**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2023.02.20 BUP 08/2023**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2024.03.11 WUP 11/2024**

(51) MKP:

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 8/02 (2006.01)

A61K 8/92 (2006.01)

A61K 8/9706 (2017.01)

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIwersytet im. Adama Mickiewicza
w Poznaniu, Poznań, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:

**MARTA MARZEC, Kościan, PL
IZABELA NOWAK, Swarzędz, PL
PRZEMYSŁAW DĄBEK, Szczecin, PL
ANDRZEJ WITKOWSKI, Szczecin, PL**

(74) Pełnomocnik:

**rzecz. pat. Joanna Matkowska-Peszko,
Poznań, PL**

(54) Tytuł:

**Sposób otrzymywania nanocząstek lipidowych syntetyzowanych na bazie oleju
z mikroglonów morskich (*Schizochytrium*) oraz lipidów pozyskiwanych z okrzemek
(*Halamphora*)**

PL 244834 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania nanocząstek lipidowych, syntetyzowanych na bazie lipidów z glonów, tj. oleju z mikroglonów (potocznie nazywanych mikroalgami) morskich (*Schizochytrium*) oraz lipidów pozyskiwanych z okrzemek (*Halamphora*), charakteryzujących się wielkością cząstek w zakresie 100–300 nm oraz mających zastosowanie w preparatach farmaceutycznych oraz kosmetycznych.

Nanocząstki lipidowe stosowane są jako nośniki substancji aktywnych w produktach farmaceutycznych od roku 1990 oraz kosmetycznych od 2005, zapewniając poprawę penetracji składników czynnych do docelowego miejsca działania. Pierwszą generację nośników stanowią stałe nanocząstki lipidowe (*ang.* solid lipid nanoparticles, SLN), których kluczową wadą jest relatywnie niska pojemność dla enkapsulowanej substancji czynnej oraz ich tendencja do postępującego ubytku związku aktywnego z matrycy lipidowej podczas przechowywania utworzonej dyspersji. Drugą generację nośników lipidowych stanowią nanostrukturalne nośniki lipidowe (*ang.* nanostructured lipid carriers, NLC), w których do lipidów stałych dodane zostały lipidy ciekłe (oleje). W porównaniu do klasycznych SLN, takie rozwiązanie zapewniło możliwość zwiększenia ilości inkorporowanego związku czynnego oraz poprawę stabilności fizycznej dyspersji nanocząstek lipidowych i stabilności chemicznej enkapsulowanej substancji aktywnej. Tematyka obejmująca wykorzystanie nanocząstek lipidowych jako nośników przeznaczonych do celów farmaceutycznych oraz kosmetycznych została szeroko opisana w pracach: E.B. Souto, I. Baldim, W.P. Oliveira, R. Rao, N. Yadav, F.M. Gama, S. Mahant, *Expert Opinion on Drug Delivery*, **2020**, 17(3), 357–377; E.B. Souto, R.H. Müller, *Lipid Nanoparticles (Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers) for Cosmetic, Dermal, and Transdermal Applications*, w: D. Thassu (red.), *Nanoparticulate Drug Delivery Systems*, CRC Press, **2007**, 213–233. Ponadto, synteza NLC oparta na wprowadzeniu do matrycy lipidowej olejów pochodzenia naturalnego wydaje się być zasadna z punktu widzenia obniżenia ryzyka wystąpienia reakcji niepożądanych po kontakcie ze skórą jak i samych właściwości olejów, m.in. antyoksydacyjnych, a nawet fotoprotekcyjnych [G. Badea, I. Lăcătușu, N. Badea, C. Ott, A. Meghea, *Industrial Crops and Products*, **2015**, 67, 18–24], korzystnych z punktu widzenia późniejszego ich wykorzystania w produktach farmaceutycznych i kosmetycznych.

Dobór metody otrzymywania nanocząstek lipidowych uzależniony jest w głównej mierze od docelowej struktury i rozmiaru nośnika. W przypadku penetracji przez skórę (przede wszystkim przez naskórkową), wielkość nośników w zakresie 100–300 nm predysponuje je do wykorzystania jako surowców farmaceutycznych/kosmetycznych. Znanych jest wiele metod otrzymywania nanocząstek lipidowych obejmujących między innymi metodę homogenizacji wysokociśnieniowej (HPH), z wykorzystaniem homogenizatora wysokoobrotowego (HSH), metodę mikroemulsji czy też sonikacji przedstawione szczegółowo w M. Uner, *Pharmazie*, **2006**, 61, 375–386 oraz E.B. Souto, I. Baldim, W.P. Oliveira, R. Rao, N. Yadav, F.M. Gama, S. Mahant, *Expert Opinion on Drug Delivery*, **2020**, 17(3), 357–377. Dotychczas nanostrukturalne nośniki lipidowe zawierające oleje pochodzenia naturalnego otrzymuje się w toku:

- ✓ syntezy metodą homogenizacji wysokociśnieniowej (300–800 bar, temp. 40–70°C) z zastosowaniem, m.in. oleju buriti, oleju kokosowego, oleju z orzechów brazylijskich, oleju z passiflory, oleju andiroba, oleju z jagód accai, oleju arganowego, oleju z awokado, oleju rumiankowego, oleju słonecznikowego lub ich kombinacji [WO2017185147A1; <https://patents.google.com/patent/WO2017185147A1/en>]. Synteza zaproponowana przez twórców wynalazku bazuje na zastosowaniu w ramach dyspersji nanocząstek lipidowych masy murumuru w ilości 0,5–15% wag., mieszaniny estrów glicerolu i poliacyladypinianu na poziomie 0,3–10% wag., lipidu ciekłego w przedziale 0,01–20% wag. oraz surfaktantu w ilości 0,01–5% wag. Rozmiar otrzymanych nośników mieści się w zakresie 160–250 nm;
- ✓ syntezy metodą homogenizacji wysokociśnieniowej (100–2000 bar, temp. 50–90°C) z zastosowaniem oleju z *Petiolus Trachycarpi* i lipidu stałego w stosunku 90 : 10 [CN102283809B; <https://patents.google.com/patent/CN102283809B/en>]. W trakcie trwania syntezy modyfikacji poddano rodzaj zastosowanych surfaktantów hydrofilowych oraz lipofilowych;
- ✓ syntezy metodą sonikacji z zastosowaniem oleju sojowego lub arachidowego [CN1490055A; <https://patents.google.com/patent/CN1490055A/en>]. Proces syntezy zakłada zastosowanie kwasu tłuszczowego i oleju w stosunku od 10 : 1 do 1 : 1, Tween 80 jako surfaktantu oraz poprzedzenie procesu sonikacji homogenizacją HSH przy prędkości 3000–25000 rpm. Otrzymuje się NLC wielkości 200–300 nm, stabilne przez czas 8 tygodni.

- ✓ syntezy metodą homogenizacji wysokociśnieniowej (80–1000 bar) z zastosowaniem, m.in. oleju sojowego, oleju słonecznikowego, oleju kukurydzianego, oliwy z oliwek, oleju palmowego, oleju z nasion bawełny, oleju rzepakowego, oleju arachidowego, oleju rycynowego, oleju lnianego, oleju z ogórecznika, oleju z wiesiołka oraz dodatkowej otoczki polimerowej chroniącej inkorporowane substancje aktywne przed chemiczną degradacją [ES2384060B1; <https://patents.google.com/patent/ES2384060B1/en>]. Zsyntetyzowane nośniki lipidowe (rozmiar w przedziale 102–198 nm) przeznaczone są do zastosowania w produktach kosmetycznych, farmaceutycznych oraz żywnościowych.

Pozyskiwanie lipidów z okrzemek (m.in. z gatunku *Halamphora*) przeprowadzane jest najczęściej z wykorzystaniem powszechnie znanej jednoetapowej metody, opisanej w pracy M. Axelsson, F. Gentili, *A single-step method for rapid extraction of total lipids from green microalgae*, *PLoS ONE* **2014**, 9, e89643, doi: 10.1371/journal.pone.0089643. Procedura zakłada dodanie 8 ml mieszaniny chloroformu i metanolu (v/v) w stosunku 2 : 1 do świeżej biomasy glonów (4 ml) znajdującej się w szklanej probówce wirówkowej. Biomasa zostaje zdyspergowana poprzez energiczne potrząsanie probówką przez kilka sekund, a następnie dodanie 2 ml 0,73% wodnego roztworu NaCl (układ 2 : 1 : 0,8 chloroform : metanol : woda (v/v/v)). Rozdzielenie faz przyspieszane jest poprzez 2-minutowe wirowanie przy prędkości 350 rpm, gdzie po zakończonym rozdziale dolną fazę stanowią ekstrahowane lipidy w chloroformie. Opisana powyżej metoda została w roku 2014 porównana z innymi metodami i w ramach cytowanej powyżej pracy określona jako najkorzystniejsza ze względu na wysoką wydajność procesu. Metoda oparta ma ekstrakcji w układzie chloroform-metanol-woda znana jest już od roku 1959 (E.G. Bligh, W.J. Dyer, *A rapid method of total lipid extraction and purification*, *Can J Biochem Physiol*, **1959**, 37(8), 911–7, doi: 10.1139/o59-099). Metodę tę zastosowano do pozyskania lipidów z okrzemek (*Halamphora*).

Celem wynalazku jest opracowanie sposobu otrzymywania nanocząstek lipidowych, syntetyzowanych na bazie oleju z mikroglonów morskich (*Schizochytrium*) oraz lipidów pozyskiwanych z okrzemek (*Halamphora*), nośników charakteryzujących się wielkością cząstek w zakresie 100–300 nm, predysponującym je do wykorzystania jako surowiec farmaceutyczny/kosmetyczny.

Istotą wynalazku jest sposób otrzymywania nanocząstek lipidowych syntetyzowanych na bazie oleju z mikroglonów morskich (*Schizochytrium*) oraz lipidów pozyskiwanych z okrzemek (*Halamphora*) metodą homogenizacji z wykorzystaniem homogenizatora wysokoobrotowego (HSH), który polega na tym, że ogrzewa się mieszaninę zawierającą stearynian glicerolu (Imwitor 900K) w ilości 1–5 g korzystnie 2,5 g, bromek cetylotrimetyloamoniowy (CTAB) w ilości 0,1–0,8 g korzystnie 0,4 g, lipidy wyekstrahowane wcześniej z okrzemek *Halamphora* w ilości 0,2–1 g korzystnie 0,6 g, olej z mikroglonów morskich (*Schizochytrium*) w ilości 0,4–1,2 g korzystnie 0,8 g i glicerol w ilości 5–15 g korzystnie 10 g, do temperatury powyżej 75°C przy ciągłym mieszanii z prędkością 400–600 rpm korzystnie 600 rpm do uzyskania jednolitej konsystencji, następnie mieszaninę poddaje się prehomogenizacji przy prędkości 8 000–24 000 rpm korzystnie 13 500 rpm przez 5–20 sekund korzystnie 10 sekund, dalej do zhomogenizowanej próbki dodaje się 1 ml wodnego roztworu monooleinianu polioksyetylenosorbitanu (Tween 80) podgrzanego do temperatury 40°C o stężeniu 10–60% wag. korzystnie 30% wag. i miesza się z prędkością 400–600 rpm korzystnie 600 rpm przez 0,5–2 minut korzystnie przez 1 minutę do uzyskania jednolitej konsystencji, dalej próbkę poddaje się dwuetapowej homogenizacji właściwej: w pierwszym etapie przy prędkości 13 500–24 000 rpm korzystnie 20 500 rpm przez 5–15 sekund korzystnie 10 sekund; w drugim etapie przy prędkości 8 000–13 500 rpm korzystnie 9 500 rpm przez 5–15 sekund korzystnie 10 sekund, po czym tak powstałą dyspersję dodaje się do 14–14,9 ml korzystnie 14,3 ml wodnego roztworu monooleinianu polioksyetylenosorbitanu (Tween 80) o stężeniu 10–60% wag. korzystnie 30% wag. przy ciągłym mieszanii z prędkością 350–550 rpm, korzystnie 350 rpm i miesza do momentu ochłodzenia układu do temperatury pokojowej korzystnie 25°C i do otrzymania nanocząstek lipidowych typu NLC, charakteryzujących się wielkością cząstek w zakresie 100–300 nm.

Dzięki zastosowaniu rozwiązania według wynalazku uzyskano następujące efekty techniczno-użytkowe:

- a. możliwość wykorzystania metody HSH – czyli metody niewymagającej zastosowania wysokiego ciśnienia;
- b. właściwości zastosowanych lipidów:
Olej z mikroglonów morskich (*Schizochytrium*) oraz lipidy pozyskiwane z okrzemek (*Halamphora*) ze względu na korzystną kompozycję kwasów tłuszczowych mogą być z powodzeniem wprowadzane do syntezy nośników lipidowych w roli lipidów ciekłych

wbudowywanych w matrycę lipidową NLC. Olej z mikroglonów zawiera układ wielonienasyconych kwasów tłuszczowych – kwas eikozapentaenowy – EPA, kwas dokozaheksaenowy – DHA – odpowiadające, m.in. za ochronę skóry przed negatywnym działaniem promieniowania słonecznego, zabezpieczając ją przed fotostarzeniem i powstawaniem przebarwień. Wspomagają również leczenie egzemy oraz nadmiernej szorstkości skóry, zapewniając prawidłowy poziom lipidów naskórkowych [H. Bojarowicz, B. Woźniak, *Problemy Higieny i Epidemiologii*, **2008**, 89(4), 417–475]. Zbliżone działanie wykazują, zawarte w okrzemkach gatunku *Halimnophora*, kwas oleopalmitynowy i palmitynowy, które regulują metabolizm kwasów tłuszczowych w obrębie naskórka. Sprzyjają wytwarzaniu większej ilości lipidów w ciałach lamelarnych warstwy ziarnistej naskórka, przyczyniając się do wzmożonego tempa procesów regeneracyjnych w przebiegu jednostek chorobowych skóry związanych z zaburzeniami rogowacenia [T.K. Lin, L. Zhong, J.L. Santiago, *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(1), 70];

- c. możliwość uzyskania wielkości nośników lipidowych w zakresie 100–300 nm predysponuje je do wykorzystania jako surowiec farmaceutyczny/kosmetyczny;
- d. homogeniczność rozkładu wielkości cząstek przejawia się wskaźnikiem polidispersyjności (PDI) poniżej 0,26;
- e. wysoka stabilność cząstek manifestowana potencjałem zeta powyżej +40 mV;
- f. dodatni ładunek uzyskanych nanocząstek lipidowych jest korzystny ze względu na obecność oddziaływania elektrostatycznego pomiędzy ujemnie naładowaną powierzchnią skóry a dodatnio naładowanymi cząsteczkami.

Wynalazek ilustrują poniższe przykłady:

Przykład I

0,8 g oleju z mikroglonów morskich (*Schizochytrium*) oraz 0,6 g lipidów pozyskiwanych z okrzemek (*Halimnophora*) połączono z mieszaniną stopionego 2,5 g stearynianu glicerolu, 10 g glicerolu i 0,4 g CTAB oraz mieszano z prędkością 600 rpm do uzyskania jednolitej konsystencji, po czym zhomogenizowano przy prędkości 13 500 rpm przez 10 sekund. Następnie, dodano 1 ml wodnego roztworu monooleinianu polioksyetylenosorbitanu (Tween 80) podgrzanego do temperatury 40°C o stężeniu 30% wag. i mieszano z prędkością 600 rpm przez 1 minutę, po czym próbkę homogenizowano w dwóch etapach: I. przy prędkości 20 500 rpm przez 10 sekund; II. przy prędkości 9 500 rpm przez 10 sekund. Tak powstałą dyspersję dodano do 14,3 ml wodnego roztworu monooleinianu polioksyetylenosorbitanu (Tween 80) o stężeniu 30% wag. przy ciągłym mieszaniu z prędkością 350 rpm i mieszano do momentu ochłodzenia układu do temperatury pokojowej (25°C).

Przykład II

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, zmieniając stężenie roztworu surfaktantu niejonowego (monooleinianu polioksyetylenosorbitanu – Tween 80) na 10% wag.

Przykład III

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, zmieniając stężenie roztworu surfaktantu niejonowego (monooleinianu polioksyetylenosorbitanu – Tween 80) na 60% wag.

Przykład IV

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, zmieniając ilość oleju z mikroglonów morskich (*Schizochytrium*) na 0,4 g.

Przykład V

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, zmieniając ilość oleju z mikroglonów morskich (*Schizochytrium*) na 1,2 g.

Przykład VI

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 1 g.

Przykład VII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 5 g.

Przykład VIII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie II, zmieniając ilość oleju z mikroglonów morskich (*Schizochytrium*) na 0,4 g.

Przykład IX

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie II, zmieniając ilość oleju z mikroglonów morskich (*Schizochytrium*) na 1,2 g.

Przykład X

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie II, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 1 g.

Przykład XI

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie II, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 5 g.

Przykład XII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie III, zmieniając ilość oleju z mikroglonów morskich (*Schizochytrium*) na 0,4 g.

Przykład XIII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie III, zmieniając ilość oleju z mikroglonów morskich (*Schizochytrium*) na 1,2 g.

Przykład XIV

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie III, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 1 g.

Przykład XV

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie III, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 5 g.

Przykład XVI

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie IV, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 1 g.

Przykład XVII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie IV, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 5 g.

Przykład XVIII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie V, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 1 g.

Przykład XIX

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie V, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 5 g.

Przykład XX

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie VIII, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 1 g.

Przykład XXI

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie VIII, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 5 g.

Przykład XXII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie IX, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 1 g.

Przykład XXIII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie IX, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 5 g.

Przykład XXIV

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie XII, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 1 g.

Przykład XXV

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie XII, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 5 g.

Przykład XXVI

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie XIII, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 1 g.

Przykład XXVII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie XIII, zmieniając ilość stearynianu glicerolu na 5 g.

Przykład XXVIII

Postępowanie analogiczne, jak w przykładzie I, zmieniając ilość lipidów pozyskiwanych z okrzemek (*Halophora*) na 0,2 g.

Przykład XXIX

Postępowanie analogiczne, jak w przykładzie I, zmieniając ilość lipidów pozyskiwanych z okrzemek (*Halophora*) na 1 g.

Przykład XXX

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, zmieniając ilość glicerolu na 5 g.

Przykład XXXI

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, zmieniając ilość glicerolu na 15 g.

Przykład XXXII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, zmieniając ilość CTAB na 0,1 g.

Przykład XXXIII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, zmieniając ilość CTAB na 0,8 g.

Przykład XXXIV

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując prędkość łączenia fazy lipidowej na 400 rpm.

Przykład XXXV

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując prędkość łączenia fazy lipidowej na 500 rpm.

Przykład XXXVI

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując czas prehomogenizacji na 5 sekund.

Przykład XXXVII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując czas prehomogenizacji na 20 sekund.

Przykład XXXVIII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując prędkość prehomogenizacji na 8 000 rpm.

Przykład XXXIX

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie XXXVIII, modyfikując czas prehomogenizacji na 5 sekund.

Przykład XL

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie XXXVIII, modyfikując czas prehomogenizacji na 20 sekund.

Przykład XLI

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując prędkość prehomogenizacji na 24 000 rpm.

Przykład XLII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie XLI, modyfikując czas prehomogenizacji na 5 sekund.

Przykład XLIII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie XLI, modyfikując czas prehomogenizacji na 20 sekund.

Przykład XLIV

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując prędkość dodawania roztworu surfaktantu niejonowego (monooleinianu polioksyetylenosorbitanu – Tween 80) na 400 rpm.

Przykład XLV

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując prędkość dodawania roztworu surfaktantu niejonowego (monooleinianu polioksyetylenosorbitanu – Tween 80) na 500 rpm.

Przykład XLVI

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując czas mieszania po dodaniu roztworu surfaktantu niejonowego (monooleinianu polioksyetylenosorbitanu – Tween 80) na 0,5 min.

Przykład XLVII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując czas mieszania po dodaniu roztworu surfaktantu niejonowego (monooleinianu polioksyetylenosorbitanu – Tween 80) na 2 min.

Przykład XLVIII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując prędkość I etapu homogenizacji właściwej na 13 500 rpm.

Przykład XLIX

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując prędkość I etapu homogenizacji właściwej na 24 000 rpm.

Przykład L

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując prędkość II etapu homogenizacji właściwej na 8 000 rpm.

Przykład LI

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie XLVIII, modyfikując prędkość II etapu homogenizacji właściwej na 8 000 rpm.

Przykład LII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie XLIX, modyfikując prędkość II etapu homogenizacji właściwej na 13 500 rpm.

Przykład LIII

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując czas I etapu homogenizacji właściwej na 5 sekund.

Przykład LIV

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując czas I etapu homogenizacji właściwej na 15 sekund.

Przykład LV

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując czas II etapu homogenizacji właściwej na 5 sekund.

Przykład LVI

Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I, modyfikując czas II etapu homogenizacji właściwej na 15 sekund.

Według przykładów I-LVI uzyskano nanostrukturalne nośniki lipidowe charakteryzujące się wielkością cząstek (Z-Ave) w przedziale **145,8–280,8 nm**, wskaźnikiem polidispersyjności (PDI) maksymalnie do **0,259** oraz potencjałem zeta (ZP) minimum **44,1 mV**. Szczegółowe wyniki zebrano w poniższej tabeli:

Przykład	Wielkość cząstek (Z-Ave) [nm]	Wskaźnik polidispersyjności (PDI) [-]	Potencjał zeta (ZP) [mV]
I.	194,5±3,5	0,194±0,014	50,1±0,8
II.	241,8±5,4	0,160±0,020	51,5±1,3
III.	179,9±3,2	0,178±0,018	49,9±0,6
IV.	203,6±4,2	0,186±0,010	51,4±0,7
V.	207,2±5,3	0,157±0,010	49,4±1,3
VI.	205,2±2,6	0,159±0,013	50,5±0,5
VII.	195,2±3,4	0,155±0,015	50,8±0,5
VIII.	196,7±6,6	0,175±0,006	48,3±1,2
IX.	216,6±3,1	0,122±0,021	52,7±0,6
X.	201,1±4,7	0,155±0,024	51,0±1,3
XI.	253,1±9,0	0,129±0,018	53,1±0,6
XII.	156,9±3,0	0,218±0,006	49,7±1,0
XIII.	179,9±3,1	0,147±0,005	51,2±1,9
XIV.	155,4±1,8	0,160±0,012	49,1±2,1
XV.	189,5±4,3	0,210±0,009	47,9±1,8
XVI.	186,8±5,3	0,198±0,018	52,6±0,2
XVII.	247,4±7,4	0,259±0,006	48,4±1,3
XVIII.	195,0±2,6	0,155±0,007	49,4±0,5
XIX.	215,4±4,3	0,178±0,005	48,5±1,0
XX.	232,6±5,9	0,166±0,016	53,0±1,4
XXI.	280,8±6,9	0,180±0,018	53,9±2,3
XXII.	190,1±2,2	0,119±0,004	50,6±1,0
XXIII.	245,7±3,3	0,124±0,021	53,1±1,4
XXIV.	145,8±1,6	0,232±0,012	51,1±1,0
XXV.	209,3±4,4	0,234±0,006	48,7±1,7
XXVI.	151,8±1,7	0,152±0,018	51,5±3,4
XXVII.	173,1±3,0	0,163±0,011	49,9±1,6
XXVIII.	175,9±0,4	0,158±0,006	45,9±1,1
XXIX.	230,2±4,4	0,195±0,008	52,9±1,2
XXX.	172,8±1,7	0,190±0,005	50,5±1,2
XXXI.	253,4±1,9	0,187±0,004	44,5±0,5
XXXII.	237,4±4,3	0,247±0,004	50,3±1,4
XXXIII.	194,4±1,3	0,149±0,010	53,2±2,2
XXXIV.	220,3±3,6	0,193±0,011	50,8±1,3
XXXV.	218,9±2,8	0,224±0,011	50,7±1,3

XXXVI.	211,5±6,5	0,250±0,010	49,5±0,6
XXXVII.	204,1±0,7	0,181±0,018	50,8±1,1
XXXVIII.	252,0±0,9	0,172±0,033	50,2±0,4
XXXIX.	228,9±3,1	0,198±0,010	51,4±1,2
XL.	248,2±3,9	0,224±0,018	51,3±1,1
XLI.	259,7±5,3	0,209±0,013	49,7±1,7
XLII.	203,0±3,7	0,178±0,009	51,7±0,6
XLIII.	203,9±3,6	0,210±0,025	48,9±0,3
XLIV.	241,4±4,1	0,150±0,017	49,9±1,6
XLV.	189,9±1,4	0,175±0,010	43,4±0,1
XLVI.	211,6±1,7	0,195±0,023	46,8±0,6
XLVII.	272,2±4,7	0,158±0,016	49,6±1,5
XLVIII.	209,5±3,1	0,178±0,014	49,0±2,3
XLIX.	190,6±2,3	0,170±0,031	51,4±1,3
L.	225,1±5,6	0,135±0,005	50,2±0,7
LI.	249,5±2,7	0,157±0,012	51,3±0,8
LII.	202,0±1,9	0,153±0,016	50,3±0,8
LIII.	174,2±5,2	0,183±0,018	47,3±2,6
LIV.	263,7±5,8	0,137±0,041	51,7±0,5
LV.	225,0±2,1	0,149±0,024	47,8±3,0
LVI.	194,2±3,4	0,144±0,010	44,1±1,2

Nanostrukturalne nośniki lipidowe otrzymane sposobem według wynalazku (przykład I z zastosowaniem następującej ilości substratów: 0,8 g oleju z mikrogulonów morskich (*Schizochytrium*), 0,6 g lipidów pozyskiwanych z okrzemek (*Halophora*), 2,5 g stearynianu glicerolu, 10 g glicerolu, 0,4 g CTAB, roztwór monooleinianu polioksyetylenosorbitanu (Tween 80) o stężeniu 30% wag.) charakteryzują się wielkością cząstek (Z-Ave) na poziomie **194,5 nm**, wskaźnikiem polidispersyjności (PDI) – **0,194** oraz potencjałem zeta (ZP) – **50,1 mV**.

Nanostrukturalne nośniki lipidowe otrzymane sposobem według wynalazku scharakteryzowano z wykorzystaniem skaningowej kalorymetrii różnicowej – DSC przedstawiony na Fig. 1 i dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego – XRD przedstawionego na Fig. 2. Przeprowadzona charakterystyka matrycy lipidowej potwierdziła obecność lipidu w stabilnej odmianie polimorficznej β' , charakterystycznej dla lipidów na bazie triacylogliceroli w stanie koloidalnym (w dyspersji nanocząstek lipidowych).

Fig. 1 przedstawia porównanie termogramów DSC lipidu stałego (stearynianu glicerolu) oraz otrzymanych nanocząstek lipidowych a Fig. 2 przedstawia porównanie dyfraktogramów lipidu stałego (stearynianu glicerolu) oraz otrzymanych nanocząstek lipidowych.

4. Przykład zastosowania:

Nanocząstki lipidowe syntetyzowane na bazie oleju z mikrogulonów morskich (*Schizochytrium*) oraz lipidów pozyskiwanych z okrzemek (*Halophora*) mogą być stosowane w przemyśle kosmetycznym (nośniki substancji aktywnych i ich mieszanin), farmaceutycznym (do inkorporowania substancji aktywnych i ich mieszanin), spożywczym (jako ochrony substancji wartościowych, np. witamin podczas obróbki spożywczej) i ogólnie chemicznym (ochrona wybranych związków chemicznych przed degradacją czy też uleganiu reakcjom następczym i kaskadowym).

Zastrzeżenie patentowe

1. Sposób otrzymywania nanocząstek lipidowych syntetyzowanych na bazie oleju z mikrogulonów morskich (*Schizochytrium*) oraz lipidów pozyskiwanych z okrzemek (*Halophora*) metodą homogenizacji z wykorzystaniem homogenizatora wysokoobrotowego (HSH), **znamienny tym**,

że ogrzewa się mieszaninę zawierającą stearynian glicerolu (Imwitor 900K) w ilości 1–5 g korzystnie 2,5 g, bromek cetylotrimetyloamoniowy (CTAB) w ilości 0,1–0,8 g korzystnie 0,4 g, lipidy wyekstrahowane wcześniej z okrzemek *Halophora* w ilości 0,2–1 g korzystnie 0,6 g, olej z mikrogonów morskich (*Schizochytrium*) w ilości 0,4–1,2 g korzystnie 0,8 g i glicerol w ilości 5–15 g korzystnie 10 g, do temperatury powyżej 75°C przy ciągłym mieszaniu z prędkością 400–600 rpm korzystnie 600 rpm do uzyskania jednolitej konsystencji, następnie mieszaninę poddaje się prehomogenizacji przy prędkości 8 000–24 000 rpm korzystnie 13 500 rpm przez 5–20 sekund korzystnie 10 sekund, dalej do zhomogenizowanej próbki dodaje się 1 ml wodnego roztworu monooleinianu polioksyetylenosorbitanu (Tween 80) podgrzanego do temperatury 40°C o stężeniu 10–60% wag. korzystnie 30% wag. i miesza się z prędkością 400–600 rpm korzystnie 600 rpm przez 0,5–2 minut korzystnie przez 1 minutę do uzyskania jednolitej konsystencji, dalej próbkę poddaje się dwuetapowej homogenizacji właściwej: w pierwszym etapie przy prędkości 13 500–24 000 rpm korzystnie 20 500 rpm przez 5–15 sekund korzystnie 10 sekund; w drugim etapie przy prędkości 8 000–13 500 rpm korzystnie 9 500 rpm przez 5–15 sekund korzystnie 10 sekund, po czym tak powstałą dyspersję dodaje się do 14–14,9 ml korzystnie 14,3 ml wodnego roztworu monooleinianu polioksyetylenosorbitanu (Tween 80) o stężeniu 10–60% wag. korzystnie 30% wag. przy ciągłym mieszaniu z prędkością 350–550 rpm, korzystnie 350 rpm i miesza do momentu ochłodzenia układu do temperatury pokojowej korzystnie 25°C i do otrzymania nanocząstek lipidowych typu NLC, charakteryzujących się wielkością cząstek w zakresie 100–300 nm.

Rysunki

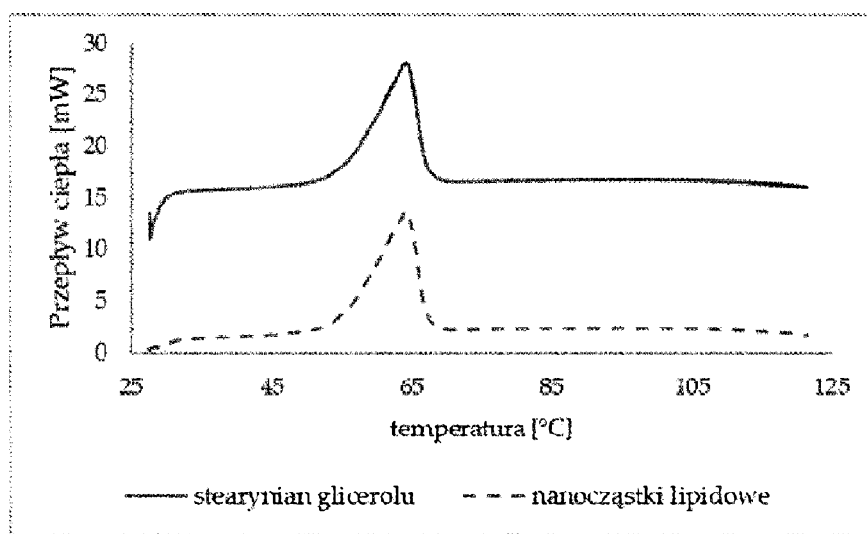


Fig. 1

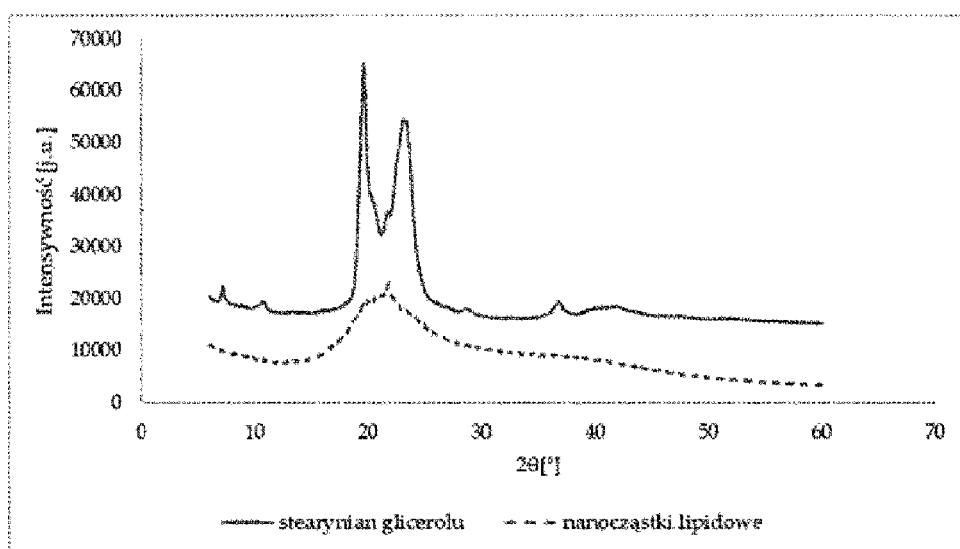


Fig. 2