

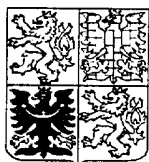
PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

285 795

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2215-96**

(22) Přihlášeno: **06. 02. 95**

(30) Právo přednosti:

04. 02. 94 SE 94/9400368

12. 07. 94 SE 94/9402454

(40) Zveřejněno: **13. 11. 96**

(Věstník č. 11/96)

(47) Uděleno: **07. 09. 99**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **17. 11. 99**

(Věstník č. 11/99)

(86) PCT číslo: **PCT/SE95/00115**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 95/20943**

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K 9/127

A 61 K 9/50

A 61 K 31/70

(73) Majitel patentu:

KARLSHAMNS LIPIDTEKNIK AB,
Stockholm, SE;

(72) Původce vynálezu:

Carlsson Anders, Stockholm, SE;
Delogu Marina, Saltsjö-Boo, SE;
Herslöf Bengt, Stockholm, SE;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1273,
Praha 4, 14021;

(54) Název vynálezu:

**Emulze oleje ve vodě, její použití a
farmaceutický prostředek ji obsahující**

(57) Anotace:

Emulze oleje ve vodě, obsahuje, vztaženo na její celkovou hmotnost, 0,01 až 50 % hmotnostních, zejména 0,1 až 10 % hmotnostních, emulgátoru a 0,1 až 70 % hmotnostních oleje emulgovaného v polárním rozpouštědle. Jako emulgátor obsahuje galakto-lipidový materiál obsahující nejméně 50 % hmotnostních digalaktosyldi-C₁₀-C₂₂-acylglycerolů a zbytek tvoří polární lipidy. Emulze podle vynálezu se používá jako nosič aktivní látky ve farmaceutických, nutričních a kosmetických prostředcích. Farmaceutický prostředek obsahuje emulzi oleje ve vodě podle vynálezu v kombinaci s terapeuticky účinnou látkou.

CZ 285 795 B6

Emulze oleje ve vodě, její použití a farmaceutický prostředek ji obsahujícíOblast techniky

5

Vynález se týká emulze oleje ve vodě, jejího použití a farmaceutického prostředku ji obsahujícího. Tyto emulze jsou vhodné jako nosiče pro aktivní látky ve farmaceutických prostředcích, ale také v nutričních, kosmetických, potravinářských a zemědělských výrobcích.

10

Dosavadní stav techniky

Emulze typu olej ve vodě pro farmaceutické aplikace, jako klinická výživa a k podávání lipofilních drog, jsou obvykle založeny na přírodních lipidech. Olejem bývá obvykle rostlinný olej, jako sojový olej, světlcový olej nebo triacylglycerolový olej se středním řetězcem (MCT). Emulgátorem je obvykle fosfolipid jako jsou fosfolipidy vaječného žloutku (vaječný lecitin) nebo sojové fosfolipidy (sojový lecitin). Tyto emulgátory sestávají ze směsi fosfolipidů různých tříd, jako jsou fosfatidylcholin a fosfatidylethanolamin, jež jsou obojetně iontové a fosfatidylinositol, který je anionický. Je obecně známo, že tyto lecitinové emulgátory jsou nejvíce používanými přírodními lipidy k přípravě shora uvedených emulzí v provozním měřítku. Je také dobře známo, že tyto emulze trpí nedostatky a problémy souvisejícími s tím, že emulgátory jsou fosfolipidy. Takovými nedostatky a problémy jsou například široké rozdělení velikosti částic a spojování částic, jež vede k tak zvanému zkrémování.

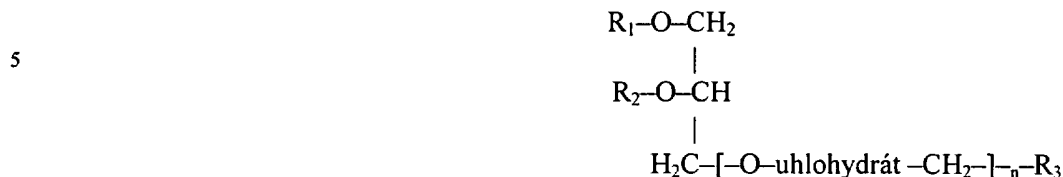
Většina komerčních tukových emulzí je založena na vaječných fosfolipidech, jež se vyrábějí ze živočišných zdrojů, ve většině případů z práškovitých vaječných žloutků. Živočišné zdroje jsou v některých případech vystaveny problémům souvisejícím s virovou kontaminací a v případě práškovitých vaječných žloutků bakteriím jako je Salmonella. Jinou významnou okolností u vaječných fosfolipidů je obsah polynenasycených mastných esterů, jako jsou arachonáty a dokosahexaenoáty, jež jsou extrémně náchylné k oxidaci v přítomnosti i malých množství kyslíku. Pachy a chuť vaječných fosfolipidů jsou tudíž často velmi nelibé, což se může zavléci do tukových emulzí. Kontaminace a oxidace mohou často způsobit problémy, které ovlivňují průmyslová bezpečnostní a manipulační hlediska.

V patentovém spise číslo EP-A2-0 402090 je popsána emulze jedlého oleje ve vodě vhodná pro krémy a nálevy tvořící 10 až 99 % veškerého oleje a obsahu tuků diglyceridové směsi. Ke zlepšení stálosti může emulze obsahovat také 0,1 až 10 % fosfolipidů vztaheno k olejové fázi. Patentový spis číslo EP-A2-0 391369 popisuje stálou farmaceutickou kompozici emulze oleje ve vodě, jež sestává z účinného množství lipofilní drogy. Emulze se skládá ze 3 až 50 % olejového nosiče, hlavně oleje MCT, 0,05 až 20 % fosfolipidů, 0,03 až 10 % neiontového povrchově aktivního činidla a 0,05 až 50 % iontového povrchově aktivního činidla. Tvrdí se, že stálost je způsobována synergismem mezi udanými složkami.

Glykosilglyceridy jsou typem glykolipidů, jež jsou dobře známou součástí membrán rostlinných buněk. Velmi známé jsou dva typy založené na galaktose, monogalaktosyldiacylglycerol, MGDG, a digalaktosyldiacylglycerol, DGDG, představující 40 % suché hmotnosti thylakoidových membrán.

Rostlinné glykolipidy mají uhlohydrátové jednotky, hlavně galaktosu, vázanou na glycerol. V MGDG má 1-poloha galaktosového kruhu β -vazbu na glycerol a u DGDG je vazba α , 1 $\rightarrow$ 6 mezi cukry. Minoritní součástí je rostlinný sulfolipid, správněji pojmenovaný jako sulfochinosyldiacylglycerol, SQDG, který obsahuje sulfonát spíše než hydroxylovou skupinu, vázaný na

uhlík v poloze 6 koncového deoxyglukosového zbytku. Většina rostlinných glykolipidů může být popsána obecným vzorcem



kde znamená R_1 a R_2 na sobě nezávislé zbytky nasycených nebo nenasycených mastných kyselin se 2 až 24 atomy uhlíku s 0 až 6 dvojnými vazbami, dále zbytky esterifikované hydroxykyseliny, to je estolidy nebo atomy vodíku; uhlohydrát monosacharidovou jednotku; n číslo 1 až 5 a R_3 hydroxylovou nebo sulfonátovou skupinu.

Při zkoumání interakcí glykosilglyceridů s vodou a jinými polárními rozpouštědly se s překvapením zjistilo, že specifické glykolipidové materiály obilnin mají chování, které činí uvedené lipidové materiály vhodnými a jednoduše využitelnými jako nosiče zejména pro farmaceutické prostředky a také pro jiné prostředky, jako jsou kosmetické, zemědělské, nutriční a potravinářské výrobky.

Patentový spis číslo SE 9400368–8 uvádí průmyslově využitelný způsob přípravy glykolipidového materiálu z rostlin, předně z obilnin, extrakcí a chromatografickou separací. Takto připraveného glykolipidového materiálu je možno použít jako amfiflického materiálu ve farmaceutických, kosmetických a potravinářských produktech.

Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu je emulze oleje ve vodě, obsahující, vztažen na její celkovou hmotnost, 0,01 až 50 % hmotnostních, zejména 0,1 až 10 % hmotnostních, emulgátoru a 0,1 až 70 % hmotnostních oleje emulgovaného v polárním rozpouštědle. Podstata vynálezu je v tom, že emulze oleje ve vodě jako emulgátor obsahuje galaktolipidový materiál obsahující nejméně 50 % hmotnostních digalaktosyldi- $\text{C}_{10}\text{--C}_{22}$ -acylglycerolů a zbytek tvoří polární lipidy.

Podle jednoho provedení obsahuje emulze podle vynálezu galaktolipidový materiál sestávající ze 70 až 80 % hmotnostních digalaktosyldi- $\text{C}_{10}\text{--C}_{22}$ -acylglycerolů a ze 20 až 30 % hmotnostních polárních lipidů.

Při jiném provedení obsahuje emulze galaktolipidový materiál tvořený až 100 % hmotnostními digalaktosyldi- $\text{C}_{10}\text{--C}_{22}$ -acylglyceroly.

Jako olej obsahuje emulze podle vynálezu gama-linolenovou kyselinu ve formě volné kyseliny, solí nebo esterů.

Při výhodném provedení obsahuje emulze podle vynálezu olej z pupalky dvouleté nebo olej borago.

Předmětem vynálezu je též použití emulze podle vynálezu jako nosiče aktivní látky ve farmaceutických, nutričních a kosmetických prostředcích.

Předmětem vynálezu je dále farmaceutický prostředek, který obsahuje emulzi oleje ve vodě podle vynálezu v kombinaci s terapeuticky účinnou látkou.

Farmaceutický prostředek podle vynálezu obsahuje jako olej v emulzi gama-linolenovou kyselinu ve formě volné kyseliny, solí nebo esterů.

- 5 S výhodou obsahuje farmaceutický prostředek jako olej v emulzi olej z pupalky dvoulété nebo olej borago.

Farmaceutický prostředek podle vynálezu může s výhodou jako olej v emulzi obsahovat tri- C_8 - C_{22} -acylglycerolový olej, s výhodou s C_8 - C_{22} řetězcem, nebo bioaktivní látku.

10

Konkrétněji farmaceutický prostředek podle vynálezu obsahuje

- terapeuticky aktivní látku v terapeuticky účinném množství
- 15 - galaktolipidový emulgátor v množství 0,1 až 5,0 % hmotnostních, vztaženo na hmotnost celkového prostředku,
- olej v množství 1 až 50 % hmotnostních, vztaženo na hmotnost celkového prostředku,
- 20 - popřípadě isotonické činidlo v isotonicky účinném množství a
- polární rozpouštědlo.

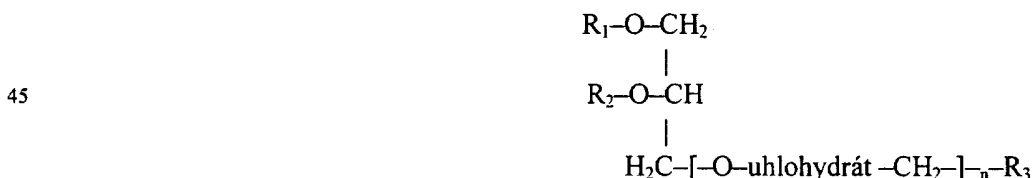
25 Farmaceutický prostředek k parenterálnímu podávání podle vynálezu obsahuje, vztaženo na hmotnost celkového prostředku,

- 0,2 až 3 % hmotnostní 2,6-diisopropylfenolu
- 0,3 až 5 % hmotnostních galaktolipidů,
- 30 - 5 až 30 % hmotnostních tri- C_8 - C_{22} -acylglycerolového oleje,
- isotonicky účinné množství isotonického činidla a
- 35 - vodu jako zbytek do 100 % hmotnostních.

Farmaceutický prostředek podle vynálezu je určen k orálnímu, enterálnímu, parenterálnímu, rektálnímu, vaginálnímu, topickému, očnímu, nosnímu nebo ušnímu podávání a obsahuje emulzi podle vynálezu.

40

Digalaktosyldiacylglyceroly je možno popsat obecným vzorcem



50 kde znamená R_1 a R_2 na sobě nezávisle zbytky nasycených nebo nenasycených mastných kyselin s 10 až 22 atomy uhlíku s 0 až 4 dvojnými vazbami nebo atom vodíku; a R_3 hydroxylovou nebo sulfonátovou skupinu.

Podle výhodných případů provedení mohou zbytky mastných kyselin R_1 a R_2 znamenat přírodně se vyskytující skupiny mastných kyselin, jako zbytky nasycených kyselin palmitové ($C_{15}H_{31}CO$; 16:0) a stearové ($C_{17}H_{35}CO$; 18:0); mononasycené kyseliny olejové ($C_{17}H_{33}CO$; 18:1) a polynasycených kyselin jako linolové ($C_{17}H_{31}CO$; 18:2) a linolenové ($C_{17}H_{29}CO$; 18:3). Zbytky mastných kyselin mohou také obsahovat hydroxykyseliny vázané na glycerolový podíl svými hydroxylovými skupinami esterifikovanými dalšími mastnými kyselinami, tak zvané estolidy.

Ostatní polární lipidy tím, že jsou galaktolipidovým materiálem, jsou směsí různých glykolipidů a fosfolipidů jako MGDEG a fosfatidylcolinů. Složení závisí na výchozím materiálu a na procesu, použitím k výrobě galaktolipidů.

Specifické poměry složek galaktolipidových materiálů nejsou pro vynález rozhodující, pokud je hmotnostní obsah DGDG nejméně 50 %. U mnohých aplikací se však maximálních výhod dosahuje vysokým obsahem DGDG, nejvýznamnější složkou vytvářející dvouvrstvy. Galaktolipidový materiál je možno extrahovat téměř z každého druhu rostlinného materiálu. Výhodnými materiály jsou semena a jádra zrn a obilnin, například pšenice, žito, oves, kukuřice, rýže, prosa a sezamu. Ovesné krupky jakož i pšeničný lepek mají vysokou koncentraci lipidů a dává se jim proto přednost v procesu přípravy. Digalaktosyldiacylglyceroly galaktolipidového materiálu mohou být popřípadě také syntetického původu.

Olejovitým materiálem je lipifolní materiál mající při teplotě místnosti polotekutou nebo tekutou konzistenci. Na olejovitý materiál nejsou kladena žádná zvláštní omezení. Jako příklady lze jmenovat příkladně rostlinné oleje, živočišné oleje, syntetické oleje, mastné kyseliny, přírodní a syntetické glyceridy a lipofilní drogy.

Výhodnými oleji jsou rostlinné oleje obsahující gama-linolenovou kyselinu (GLA), jako je olej z pupalky dvouleté a olej borago a rybí olej obsahující eikosapentenovou kyselinu (EPA) a dokosahexanoovou kyselinu (DHA).

Poměr mezi emulgačním a olejovitým materiálem může být s výhodou hmotnostně 1:40 až 1:10, zvláště hmotnostně 1:25 až 1:15.

Vlastní příznivý účinek galaktolipidů je v tom, že galaktosové jednotky mají polární hlavní skupiny v každé lipidové molekule, které mohou stericky stabilizovat kapičky emulze a tudíž zajišťovat prodlouženou životnost, když jsou injektovány do krevního oběhu.

Podle vynálezu je možno použít syntetických diglykosyldiacylglycerolů na bázi galaktosy nebo jakékoli jiné monosacharidové jednotky, jako glukosy, a přírodních glykosilglyceridů, izolovaných z jakéhokoli jiného zdroje, založených na jiných uhlohydrátových jednotkách než galaktose, jako je glukosa.

Emulze podle vynálezu se připravují za použití galaktolipidového materiálu jako emulgátoru mohou však obsahovat jiné nízkomolekulární sloučeniny v účinných isotonických množstvích. Emulze oleje ve vodě může obsahovat také případné aditivy známé v oboru, zlepšující různé charakteristiky prostředku, jako jsou například vonné přísady, barviva, zahušťovadla, povrchově aktivní činidla, ochranné látky a antioxidanty.

Emulze se připravují konvenčními způsoby. Například emulze obsahující hmotnostně 30 % triacylglycerolu se středním řetězcem ve vodě se připraví dispergováním emulgátoru, což je galaktolipidní materiál, v oleji. Glycerol a olej se smísí. Olejová fáze i vodná fáze se předeheřejí a pak se přidá olejová fáze do vodné fáze za míchání vysokým smykem. Pak se podrobí vysokotlaké homogenizaci.

Vynález se také týká farmaceutického prostředku obsahujícího terapeuticky účinnou látku v kombinaci s emulzí oleje ve vodě. Terapeuticky účinnou látkou může být lipofilní droga, jako jsou činidla působící proti rakovině, anti-mikrobiální a zejména antifungální činidla, imunosupresantní drogy, jako cyklosporin, dermatologické drogy, psychotropní drogy, anestetické drogy a jiné drogy, jež jsou lipofilní a jež mohou způsobovat formulační potíže, které se mohou vyřešit použitím galaktolipidů.

Vedle shora uvedených olejů jako výhodných olejovitých materiálů pro emulze, je výhodný také olej MCT. Existuje také mnoho lipidů, jako jsou volné mastné kyseliny, mono-, di- a triacylglyceroly, fosfolipidy, estery cholesterolu a lipidy četných jiných typů, které mají samy o sobě terapeutické účinky, a které lze s výhodou formulovat do formy emulze založené na galaktolipidech. V tomto případě je terapeuticky účinnou látkou olejovitý materiál, který také může mít jiné bioaktivní vlastnosti.

Farmakologický prostředek mohou tvořit:

- terapeuticky aktivní látky v terapeuticky účinném množství
- galaktolipidový emulgátor, činící hmotnostně 0,1 až 5,0 % celého prostředku
- olejovitý materiál, činící hmotnostně 1 až 50 % celého prostředku
- popřípadě isotonické činidlo v isotonicky účinném množství.

Isotonickým činidlem je například glycerol, může to však být jakékoli jiné isotonické činidlo v isotonicky účinném množství.

Polárním rozpouštědlem může být voda nebo vodné roztoky, jako pufrů a solanky, nebo jakékoli jiné vhodné rozpouštědlo, jako ethanol, glycerol, propylenglykol, polyethylenglykol, polypropylenglykol, glykofuran, methylpyrrolidon, transkutol. Voda je však výhodným rozpouštědlem.

Farmakologický prostředek k parenterálnímu podávání může mít následující hmotnostní složení:

- 0,2 až 3 % 2,6-diisopropylfenolu,
- 0,3 až 5 % galaktolipidového materiálu,
- 5 až 30 % triacylglycerolového oleje,
- isotonicky účinné množství isotonického činidla,
- a do 100 % vodu.

Farmaceutický prostředek může být formulován pro orální, enterální, parenterální, rektální, vaginální, topikální, okulární, nasální nebo aurální podávání živočichům obzvláště savcům, včetně lidí.

Emulze na bázi galaktolipidů jsou překvapivě stálými prostředky ve srovnání s fosfolipidovými emulzemi připravenými z vaječného lecitinu nebo ze sojového lecitinu. Protřepávací zkoušky, které zničí fosfolipidové emulze, nemají vliv na galaktolipidové emulze.

Galaktolipidové emulze vykazují také úzké a konzistentní rozdělení velikosti částic, což je normálně problémem u fosfolipidových emulzí. Obchodně dostupné emulze na bázi vaječného

lecitinu mají často i problém obsahu částic, které jsou příliš velké, což může vést k problémům jako je krémovací jev nebo k výskytu kapek na povrchu.

Galaktolipidové emulze jsou také překvapivě stále vůči sterilizaci ve standardním autoklávu. Obchodně dostupné tukové emulze vyžadují často autoklávování ve speciálním rotačním autoklávu, což činí technické potíže. Použití standardních autoklávovacích postupů je vysloveným průmyslovým zlepšením dosaženým vynálezem.

Galaktolipidový materiál

Galaktolipidové materiály se připravují z různých obilnin jak shora uvedeno a používá se jich k přípravě farmaceutických prostředků podle vynálezu, jak uvedeno v příkladech. Procenta jsou míněna vždy hmotnostně, pokud není uvedeno jinak. Podíly rozpouštědel ve směsích rozpouštědel jsou uvedeny v objemových dílech.

Galaktolipidový materiál z ovsa

Rozemele se 200 kg ovesných zrn (Kungsörnen AB, Švédsko) a extrahuje se 1000 litry 95% ethanolu při teplotě 70 °C po dobu 3 hodin v extrakčním tanku za míchání. Kaše se odstředí ještě za tepla a oddělí se pevné částice. Tekutá frakce se odpaří při teplotě 60 °C, čímž se získá asi 10 kg světle hnědého oleje.

Olej se vnese do sloupce z nerezavějící oceli obsahujícího 6,25 kg silikagelu (Matrex Silica Si, o velikosti částic 20 až 45 mm, průměr pórů 6 nm (Amicon Corp. USA). Teplota sloupce je 50 °C. Sloupec se promyje 30 litry směsi hexan: isopropanol 90:10 k odstranění všech nepolárních lipidů. Galaktolipidový materiál se pak eluuje ze sloupce 20 litry směsi hexan:isopropanol, 60:40 což poskytne galaktosyldiacylglycerolovou frakci. Odpařením této frakce se získá 700 g DGDG, hlavní lipidové třídy. Galaktolipidový materiál se pak disperguje ve vodě a podrobí se sušení vymrazováním za získání volně tekutého prášku.

Obohacení DGDG z galaktolipidů

Ve 250 ml systému hexan: isopropanol 70:30 se rozpustí 50 g galaktolipidů z ovsa, jak byly shora získány, s obsahem DGDG přibližně 70 %, čímž se získá celkové množství 300 ml. Získaný roztok se vnese do sloupce naplněného silikagelem (110 g) a méně polární součásti se eluují jedním litrem směsi hexan:isopropanol, 70:30. Obohacené frakce DGDG se eluují dvěma litry acetonu. Aceton se odpaří a vysuší se vymrazováním. Celkový výtěžek je 17 g téměř čistého produktu DGDG.

Hydrogenace galaktolipidů

200 g galalipidové shora uvedené směsi z ovsa se rozpustí ve dvou litrech teplého isopropanolu. Na dno tlakového reaktoru (Model č. 4552M, Parr Instrument Co. USA), vybaveného dvěma lopatkami za míchacím hřídelí, se umístí 15 g palladia na uhlí (Pd 15%, vlhkost 53 %, Engelhard Rome s.r.l., Itálie). Roztok se pak přenese do reaktoru pod ochranou dusíkového prostředí ke snížení nebezpečí ohně. Reakční nádoba se uzavře a napřed se třikrát natlakuje dusíkem k vypuzení vzduchu a pak třikrát plynným vodíkem (Plus 4,5 od AGA Gas AB, Švédsko). Tlak vodíku se udržuje na 0,6 MPa, míchadlo se nastaví na 600 otáček a směs se zahřeje na teplotu 70 °C. Zahřátí reakční směsi na 70 °C trvá 14 minut. Hydrogenační proces trvá 6 hodin, načež se reakční produkt zfiltruje filtrem o velikosti ok 0,45 μm k odstranění uhlíkových částic a palladia. Rozpouštědlo se odpaří v rotační odparce, zbylý pevný materiál se disperguje ve 1600 ml deionizované vody a vysuší se vymrazováním.

Výtěžek hydrogenovaných galaktolipidů po filtraci a vymrazovacím vysušení je 155 g. Účinnost hydrogenace se vyhodnotí plynovou chromatografií; v hydrogenovém produktu lze zjistit pouze nasycené mastné kyseliny.

5 Galaktolipidy z pšeničných krup

V kádince se extrahuje 1 kg prášku z pšeničných krup (AG Sköanebrännerier, Švédsko) 4 litry 95% ethanolu 3 hodiny při teplotě 70 °C. Kaše se pak zfiltruje pod tlakem 400 až 500 kPa a získaný filtrační koláč se promyje 1 litrem horkého 95% ethanolu. Spojené ethanolové roztoky se odpaří při teplotě maximálně 60 °C, čímž se získá přibližně 60 g žlutého oleje.

Olej se vnese do sloupce z nerezavějící oceli obsahujícího 45 g silikagelu (Matrex Silica Si, o velikosti částic 20 až 45 µm, s rozměry pórů 6 nm od společnosti Amicon Corp, USA). Sloupec se pak promyje 700 ml směsi hexan: isopropanol 90:10 k odstranění neutrálních lipidů.

K odstranění MGDG a ještě jiných polárních lipidů se sloupec pak promyje 1000 ml směsi hexan:isopropanol, 70:30. Eluování DGDG se provede 1000 ml čistého acetonu. Po odpaření se získají přibližně 4 g téměř čistého produktu DGDG.

20 Galaktolipidy ze žita

Ve směsi průmyslového hexanu a isopropanolu 90:10, se míchá po dobu 60 minut 100 g žitných vloček (Kungsörnen AG, Švédsko). Kaše se zfiltruje a odpařením se získá 0,5 g polárních lipidů. Zbytek, rozpuštěný v 10 ml směsi hexanu a isopropanolu 70:30 se vnese do třech sloupců Sep-pak Silica Plus (Millipore Corp. USA) zapojených do série, promyje se 20 ml stejné směsi rozpouštědel a eluuje se 15 ml acetonu. Eluát se odpaří a vysuší vymrazováním, čímž se získá 47 mg galaktolipidů.

Chemické a fyzikální vlastnosti různých galaktolipidových materiálů.

30

Analýza lipidové třídy

Analýza lipidové třídy se provádí vysoce výkonnou kapalinovou chromatografií, HPLC, pomocí sloupce naplněného dialem modifikovaného oxidu křemičitého (LiChrosphere 100 DIOL, 5 µm, 250x4 mm vnější průměr; E. Merck, Německo). Sloupec se uzavře ve vodní lázni udržované na teplotě 75 °C. Analytický systém sestává z čerpadla HPLC CM 4000 (LDC/Milton Roy, USA) a injektoru, model 7125, s 20 µl injekční smyčkou (Rheodyne Inc., USA). Použitý odpařovací světlo rozptylující detektor je Sedex 45 (S.E.D.E.R.E., Francie) vybavený mlžnou komorou Sedex 55 s teplotou driftové trubice 97 °C a tlakem 0,2 MPa.

40

Průtočná rychlost mobilní fáze v průběhu analýzy je 1 ml/min. Použije se binárního grafientu roztoku, lineárního v 25 minutách, s počátkem 100% A a koncem 100% B, kde A je systém hexan: isopropanol: n-butanol 64:20:6:4,5:4,5:1 a B je systém isopropanol:n-butanol:tetrahydrofuran:isooktan:voda, 75:6:4,5:4,5:10. Všechna rozpouštědla obsahují amoniumacetát.

45

Ke shromáždění a zpracování dat slouží GynkoSoft Data system, verze 4,22 (Softtron GmbH, Německo). Typickým injektovaným množstvím pro analýzu je 100 µg. Identifikace je založena na porovnání retenční doby s autentickými standardy (Karlshamns LipidTechnik AB, Švédsko). Těžké sloučeniny se v tomto systému nedekují. Kvantifikace je založena na výpočtu plochy pod vrcholy.

50

Zeta–potenciály se stanoví u zředěných vodných galaktolipidových dispersí přístrojem Zetasizer 4 (Malvern Instruments Ltd., UK).

Tabulka I

Charakterizace různých galaktolipidových materiálů

	o-GL		o-h-GL	o-DGDG	w-GL	w-DGDG	r-GL
Obsah DGDG	73	70	72	100	80	100	67
% plochy							
Z-potencial mV	-74	-76	-30	-51	-75	-38	-37

5 V tabulce I a v následující tabulce II je použito těchto zkratk:

- o-GL = galaktolipidy z ovsa
 o-h-GL = hydrogenované galaktolipidy z ovsa
 o-DGDG = obohacené galaktolipidy z ovsa
 w-GL = galaktolipidy z pšenice
 10 w-DGDG = obohacené galaktolipidy z pšenice
 r-GL = galaktolipidy z žita

Analýza mastných kyselin

- 15 Analýza profilu mastných kyselin se provádí plynovou chromatografií to transesterifikaci lipidů na estery mastných kyselin. Ty se separují a kvantifikují kapilární sloupcovou chromatografií na kapilárním plynovém chromatografu Varian 3500 vybaveném kapilárním sloupem 30 m x 0,25 mm vnitřní průměr (DB-WAX; J&W Scientific, USA) s injektorem na sloupcem a detektorem ionizace plamene. Jako nosného plynu je použito helia. K integraci slouží GynkoSoft
 20 Data system verze 4,22 (Softron GmbH., Německo). Transesterifikace se provádí přidáním 1 mg lipidového vzorku do 2 ml systému dimethylkarbonát:isooktan 1:1. Přidá se 1 ml roztoku obsahujícího 2,3 g sodíku rozpuštěného ve 200 ml methanolu a zkumavka se 30 sekund intenzivně protřepává a ponechá se 15 minut při teplotě místnosti k zaručenému ukončení reakce. Přidají se 3 ml vody a zkumavka se protřepe a pak odstředí při 2 x g. Do chromatografu se
 25 injektuje 0,5 µl organické vrstvy při následujících podmínkách separace. Píčka má programovanou teplotu s počátkem 130 °C po dobu 2 minut, zvýšením na 150 °C (rychlost 30 °C/min) a 220 °C (rychlost 3,2 °C/min) s výdrží 10 minut na teplotě. Teplota injektoru je 130 °C a teplota detektoru 250 °C. Zpočátku je průtočná rychlost plynu 2,7 ml/min. Výsledky jsou vyjádřeny jako normovaná hmotnostní procenta pomocí externí standardní metody. Na minoritní
 30 součásti není provedena korekce, z čehož vyplývá, že standardy nejsou k dispozici nebo přijatelně čisté.

Tabulka II

35 Charakterizace složení mastných kyselin

Složení mastných kyselin, %	o-GL		o-h-GL	o-DGDG	w-DL	w-DGDG	r-GL
C 14:0						1	
C 16:0	20	21	21	16	15	13	12
C 18:0	1	1	74	2	1	1	
C 18:1 n-9	17	17		19	6	5	8
C 18:1 n-7	1	1		1	1	1	1
C 18:2 n-6	53	52		58	71	68	69
C 18:3 n-3	2	2		3	3	3	5
Minor. < 1% a neidentifikované	6	6	5	1	3	8	5

Spektroskopie NMR digalaktosyldiacylglycerolů.

Na Brukově spektrometru AM-400 se zaznamenají spektra NMR jednorozměrného proton-
 5 rozděleného přirozeného nadbytku ^{13}C (Bruker Analytische Messtechnik GmbH., Německo) při
 frekvenci ^{13}C 100,614 Hz. Úhel pulsu je 36° doba opakování pulsu 1,0 s a rozlišení 1,526 Hz na
 údaj. Při zpracování se aplikuje liniové rozšíření 4 Hz. Vzorky (10 až 40 mg) se zředí ve směsi
 730 μl DMSO- d_6 (Aldrich Chemical Corp., Inc., USA) a 20 μl D $_2$ O (Aldrich Chemical Corp.,
 Inc., USA) a přenesou se do trubice NMR (s vnitřním průměrem 5 mm).

Tabulka III

Chemické posuny ^{13}C (ppm) digalaktosyldiacylglycerolů z pšenice a ovsa

Signál	w-DGDG	o-DGDG
Podíly masných kyselin		
C (n)	13,8	13,7
C (n-1)	21,9	21,9
C (n-2)	30,8	30,8
C, methylen	28,3–18,9	28,4–29,0
C, allylický	26,5	26,5
C, dvojité allylický	25,1	25,1
C, olefinický	127,6–129,6	127,6–129,5
C3	24,3	24,3
C2	33,3, 33,5	33,3, 33,5
C1	172,2, 172,5	172,1 172,4
Glycerolový podíl		
sn-1	62,3	62,4
sn-2	69,8	69,8
sn-3	66,6	66,6
Digalaktosylový podíl		
C1 (uvnitř)	103,6	103,6
C1' (vně)	99,4	99,4
ostatní	60,4, 66,3	60,4, 66,3
	67,7, 68,2	67,7, 68,2
	68,6, 69,3	68,6, 69,3
	70,1, 71,1	70,1, 71,1
	72,8, 72,8	72,8, 72,9

Příklady provedení vynálezu

V příkladech je použito obchodně dostupných chemikálií bez dalšího čištění, pokud není
 20 uvedeno jinak. Ve všech případech je použito deionizované membránou filtrované vody. Jako
 modelových olejů je použito sojového oleje, triacylglycerolového oleje se středním řetězcem
 (MCT), rybích olejů a olejů s vysokým obsahem kyseliny gama-linolenové (GLA), získaných ze
 semen pupavy dvouleté. Typ olejovitého materiálu není však rozhodující k dosažení specifických
 předností vynálezu.

25 Sojový olej, kukuřičný olej a MCT vyrobila firma Karlshamns AB, Švédsko a chromatograficky
 je vyčistila. Oleje ze semen pupavy dvouleté s různým obsahem GLA, volné GLA a rybí oleje

vyrobila firma Gallandish Ltd. Skotsko a je jich použito v dodaném stavu, s výjimkou rybích olejů, které byly chromatograficky vyčištěny.

5 Antioxidační činidla ascorbylpalmitát a E 442 (fosfatidy amonné) jsou od firmy Roche Products Ltd., UK a Palsgaard AS, Dánsko.

Emulze se připravují vysokotlakou homogenizací za použití různých zařízení uvedených v příkladech. Rozdělení velikosti částic (kapiček) a zeta potenciál výsledných emulzí se stanoví dynamickým rozptylem světla (Zetasizer 4; Malvern Instruments Ltd., UK) při teplotě místnosti. 10 Měření velikosti částic se provádí pod úhlem 90° pomocí sondy AZ104 a multimodální analýzy. Údaje jsou uvedeny v průměrech Z . Zetapotenciály se měří stejnou sondou s následujícím nastavením přístroje: Příčný paprsek $F_{(KA)} = 1,50$ a napětí sondy 134 V.

15 Příklad 1

Příprava 10% tukové emulze (olej MCT)

Připraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 200 g) obsahující následující složky:

20	Složka	%
	Emulgátor	0,5
	Olej MCT	10,0
	Glycerol, 99%	2,3
25	Voda	do 100,0

Emulgátor, kterých je galaktolipid, se disperguje v oleji. Smísí se glycerol s vodou. Olejová fáze se předeheje na 70 °C a vodná fáze na 85 °C. Vodná fáze se přidá do olejové fáze za míchání s velkým smykem při 18 000 otáčkách za minutu během 6 minut. Předběžná emulze se pak 30 zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 50 °C v 6 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Rannie AS, Dánsko). Vytvořená emulze má střední průměr kapiček 243 nm.

35 Příklad 2

Příprava 20% tukové emulze (olej MCT)

Připraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 200 g) obsahující následující složky:

40	Složka	%
	Emulgátor	1,0
	Olej MCT	20,1
	Glycerol 99%	2,3
45	Voda	do 100,0

Emulgátor, kterým je galaktolipid, se disperguje v oleji. Smísí se glycerol s vodou. Olejová fáze se předeheje na 90 °C a vodná fáze na 50 °C. Olejová fáze se přidá do vodné fáze za míchání s velkým smykem při 14 000 otáčkách za minutu během 4 minut. Předběžná emulze se pak 50 zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 45 °C v 5 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Rannie AS, Dánsko). Vytvořená emulze má střední průměr kapiček 213 nm. Tento střední průměr se podstatně nemění autoklávováním (121 °C, 20 min) a protřepáváním (120 h, 150 cyklů/min).

Příklad 3

Příprava 30% tukové emulze (olej MCT)

- 5 Přípraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 200 g) obsahující následující složky:

	Složka	%
	Emulgátor	1,5
	Olej MCT	30,1
10	Glycerol 99%	2,3
	Voda	do 100,0

- 15 Emulgátor, kterým je galaktolipid, se disperguje v oleji. Smísí se glycerol s vodou. Olejová fáze se přehřeje na 67 °C a vodná fáze na 55 °C. Olejová fáze se přidá do vodné fáze za míchání s velkým smykem při 13 000 otáčkách za minutu během 6 minut. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 40 °C v 6 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Rannie AS, Dánsko). Vytvořená emulze má střední průměr kapiček 200 nm.

- 20 Jedna část výsledné emulze se sterilizuje teplem ve standardním autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 20 minut. Po tepelném zpracování je zjištěna velikost kapiček 209 nm, což naznačuje, že kapičky emulze nebyly průběhem procesu významně ovlivněny.

- 25 Druhá část emulze se podrobí testu protřepávání při 150 cyklech/min po dobu 5 dní. Po testu protřepáváním není možno pozorovat agregaci kapiček emulze ani následný krémovací jev. Průměrná velikost kapiček 206 nm naznačuje, že emulze je velmi odolná vůči protřepávání při vysoké frekvenci po dlouhou dobu. Také tepelně sterilizovaná emulze se podrobí témuž testu protřepávání, aniž je patrná změna výsledku testu.

- 30 Emulze založená na 1,2 % vaječných fosfolipidů a 20 % sojového oleje neodolala protřepávacímu testu stejné frekvenci; krémování může být pozorováno na vrchu vaječné fosfolipidové emulze po 1 až 2 hodinách.

Příklad 4

35

Příprava 39% tukové emulze (olej MCT)

Přípraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 200 g) obsahující následující složky:

40	Složka	%
	Emulgátor	2,0
	Olej MCT	39,4
	Voda	do 100,0

- 45 Emulgátor, kterým je galaktolipid, se disperguje v oleji. Smísí se glycerol s vodou. Voda a olejová fáze se přehřeje na 70 °C a olej se přidá do vodné fáze za míchání s velkým smykem při 16 000 otáčkách za minutu během 7 minut. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za tlaku 82 MPa a za teploty 50 °C v 6 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Rannie AS, Dánsko). Vytvořená emulze má mírně krémovitou konzistenci a úzké rozdělení velikosti kapiček se středním průměrem kapiček 206 nm.
- 50

Příklad 5

Příprava 50% tukové emulze (olej MCT)

- 5 Přípraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 200 g) obsahující následující složky:

	Složka	%
	Emulgátor	2,5
	Olej MCT	50,3
10	Glycerol, 99%	2,3
	Voda	do 100,0

- 15 Emulgátor, kterým je galaktolipid, se disperguje v oleji. Smísí se glycerol s vodou. Olejová fáze se předeře na 60 °C a vodná fáze na 75 °C. Olejová fáze se přidá do vodné fáze za míchání s velkým smykem při 20 000 otáčkách za minutu během 4,5 minut. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 55 °C v 5 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Ranie AS, Dánsko). Vytvořená emulze má dosti vysokou viskozitu („podobnou jogurtu“) se střední velikostí kapiček 235 nm.

20

Příklad 6

Příprava 20% tukové emulze (olej MCT/sojový olej)

- 25 Přípraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 200 g) obsahující následující složky:

	Složka	%
	Galaktolipidový materiál	1,0
	Fosfatidylcholin ze sojových bobů	1,0
30	Sojový olej	10,0
	Olej MCT	10,0
	Glycerol, 99%	2,3
	Voda	do 100,0

- 35 V olejové směsi se disperguje galaktolipidový materiál a fosfatidylcholin ze sojových bobů. Smísí se glycerol s vodou. Olejová fáze se předeře na 65 °C a vodná fáze na 55 °C. Olejová fáze se přidá do vodné fáze za míchání s velkým smykem při 11 000 otáčkách za minutu během 9 minut. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 46 °C v 5 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Rannie AS, Dánsko). Vytvořená střední velikostí kapiček 262 nm se nemění významně po autoklávování.

40

Příklad 7

Příprava 20% tukové emulze (sojový olej)

45

- Přípraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 200 g) obsahující následující složky:

	Složka	%
	Emulgátor	1,5
50	Sojový olej	20,0
	Glycerol, 99%	2,3
	Voda	do 100,0

V části vody se disperguje emulgátor, což je galaktolipid a hydratuje se. Přidá se glycerol a zbytek vody a smísí se. Vodná disperze se podrobí homogenizaci za vysokého tlaku ve dvou cyklech při 60 MPa a při teplotě 40 °C. Sojový olej, předehřátý na teplotu 40 °C se přidá do vodné disperze za míchání s velkým smykem při 13 000 otáčkách za minutu během 10 minut. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 40 °C v 6 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Ranie AS, Dánsko). Po vychlazení na teplotu místnosti se hodnota pH emulze nastaví na 7,2 roztokem 2M hydroxidu sodného.

V tabulce IV jsou uvedeny střední průměry kapiček v nm emulzí popsanych v příkladech 1 až 7.

Kromě toho jsou v tabulce IV uvedeny hodnoty potenciálu zeta v mV, jež naznačují, že kapičky emulze nesou významný negativní náboj, který znamená dobrou životnost emulzí.

Tabulka IV

Př. č.	Olejovitý materiál	Počáteční emulze	Po autoklávování	Po testu protřepáváním	Potenciál Zeta
1	10% MCT	243			- 69
2	20% MCT	213	226	222	- 72
3	30% MCT	200	209	206	- 68
4	39% MCT	206	216		- 71
5	50% MCT	235			- 72
6	10% MCT	262	266		- 69
7	10% soja 20% soja	400			- 77

Příklad 8

Příprava 20% tukové emulze (olej z pupalky dvouleté obsahující 9 % GLA).

Připraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 200 g) obsahující následující složky:

Složka	%
Emulgátor, hydrogenovaný	1,02
Olej z pupalky	20,46
Voda	do 100,0

V oleji se disperguje emulgátor, což je hydrogenovaný galaktolipid. Olejová fáze se předehřeje na teplotu 62 °C a voda se předehřeje na teplotu 73 °C a olejová fáze se přidá do vody za míchání s velkým smykem při 14 000 otáčkách za minutu během 2,5 minuty. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 56 °C v 7 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Rannie AS, Dánsko). Získá se emulze se střední velikostí kapiček 240 nm. Potenciál zeta je - 57 mV.

Příklad 9

Příprava 20% tukové emulze (olej z pupalky dvouleté obsahující 9 % GLA)

Připraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 200 g) obsahující následující složky:

Složka	%
Emulgátor, obohacený	1,01
Olej z pupalky	20,16
Voda	do 100,0

- 5 V oleji se disperguje emulgátor, což je obohacený galaktolipid. Olejová fáze se předeřeje na teplotu 64 °C a voda se předeřeje na teplotu 63 °C a olejová fáze se přidá do vody za míchání s velkým smykem při 13 500 otáčkách za minutu během 2,5 minuty. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 50 °C v 7 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Rannie AS, Dánsko). Získá se emulze se střední velikostí kapiček 260 nm. Potenciál zeta je – 50 mV.

Příklad 10

Příprava 40% tukové emulze (olej z pupalky dvouleté obsahující 9 % GLA)

- 15 Připraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 300 g) obsahující následující složky:

Složka	%
Emulgátor	1,99
Olej z pupalky	39,55
20 Acetát vitaminu E	1,08
Amoniumfosfatidy, E 442	0,10
Askorbylpalmitát	0,02
Sacharóza	14,08
Citronová esence	2,00
25 Sorbát draselný	0,10
Kyselina citronová	0,01
Voda	do 100,0

- 30 V oleji se disperguje emulgátor a antioxidanty. Olejová fáze se předeřeje na teplotu 60 °C a voda se předeřeje na teplotu 68 °C a olejová fáze se přidá do vody za míchání s velkým smykem při 17 000 otáčkách za minutu během 4 minut. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 60 °C v 5 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Ranie AS, Dánsko). Získá se emulze se střední velikostí kapiček 230 nm. Potenciál zeta je – 72 mV. Hodnota PH je 5,8.

35 Příklad 11

Příprava 36% tukové emulze (olej z pupalky dvouleté obsahující 9 % GLA)

- 40 Připraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 2300 g) obsahující následující složky:

Složka	%
Emulgátor	1,80
Olej z pupalky	39,97
45 Acetát vitaminu E	1,09
Amoniumfosfatidy, E 442	0,10
Askorbylpalmitát	0,02
Sacharóza	15,00
Banánová esence	2,00
50 Sorbát draselný	0,10
Voda	do 100,0

V oleji se disperguje emulgátor a antioxidanty. Smísí se sacharóza, ochranný prostředek, vonná přísada a voda. Olejová fáze se přehřeje na teplotu 58 °C a voda se přehřeje na teplotu 63 °C a olejová fáze se přidá do vody za míchání s velkým smykem při 16 000 otáčkách za minutu během 7,5 minut. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za celkového tlaku 50 MPa a tlaku 10 MPa ve druhém stupni (Mini-Lab 12,51 H; APV Rannie AS, Dánsko). Průtočná rychlost je 0,82 l/min, a celková doba 12 minut a teplota 48 °C. Získá se emulze se střední velikostí kapiček 230 nm. Potenciál zeta je – 72 mV.

10

Příklad 12

Příprava 40% tukové emulze (obohacený olej z pupalky dvouleté obsahující 20 % GLA)

15 Přípraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 300 g) obsahující následující složky:

Složka	%
Emulgátor	2,49
Obohacený olej z pupalky, 20 % GLA	39,85
20 Acetát vitaminu E	0,39
Amoniumfosfatidy, E 442	0,10
Askorbylpalmitát	0,02
Sacharóza	15,04
Citronová esence	2,00
25 Sorbát draselný	0,10
Voda	do 100,0

V oleji se disperguje emulgátor a antioxidanty. Smísí se sacharóza, ochranný prostředek, vonná přísada a voda. Obě fáze se přehřejí na teplotu 65 až 70 °C a olej se přidá do vodné fáze za míchání s velkým smykem při 15 000 otáčkách za minutu během 3,5 minut. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za celkového tlaku 80 MPa a za teploty 60 °C v 5 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Rannie AS, Dánsko). Získá se emulze o konzistenci hustého jogurtu.

30

35 Příklad 13

Příprava 11% tukové emulze (obohacený olej z pupalky dvouleté obsahující 80 % GLA)

Přípraví se 100 g emulze oleje ve vodě obsahující následující složky:

40

Složka	%
Emulgátor obohacený	1,0
Obohacený olej z pupalky, 80 % GLA	11,0
Glycerol, 2,3% ve vodě	do 100,0

45

V oleji se rozpustí emulgátor, což je obohacený galaktolipidový materiál při teplotě přibližně 50 °C v prostředí dusíku. Olejová fáze se přidá do vody za míchání s velkým smykem při 12000 otáčkách za minutu během 30 sekund. Předběžná emulze se pak homogenizuje za tlaku 83 MPa a za teploty 35 °C po dobu 5 minut (EmulziFlex-C30, Avestin Inc. Canada). Výsledná emulze má střední velikost kapiček 224 nm a potenciál zeta – 40 mV a snadno se filtruje membránovým filtrem s velikostí pórů 0,22 µm.

50

Příklad 14

Příprava 20% tukové emulze (volná mastná kyselina obsahující 70 % GLA)

5

Připraví se 50 g emulze oleje ve vodě obsahující následující složky:

Složka	%
Emulgátor obohacený	2,5
10 Volná mastná kyselina, 70 % GLA	20,0
Glycerol, 2,3% ve vodě	do 100,0

Ve vodné mastné kyselině se rozpustí emulgátor, což je obohacený galaktolipidový materiál při teplotě přibližně 50 °C v prostředí dusíku. Smísí se glycerol a voda. Vodná fáze se přidá do olejové fáze za míchání s velkým smykem při 12000 otáčkách za minutu během 30 sekund. Předběžná emulze se pak zahřeje na 35 °C a homogenizuje se za tlaku 86 MPa po dobu 6,5 minut. (EmulziFlex-C30, Avestin Inc. Canada). Výsledná emulze má střední velikost kapiček 211 nm a potenciál zeta – 40 mV a snadno se filtruje membránovým filtrem s velikostí pórů 0,22 µm.

20

Příklad 15

Příprava 39% tukové emulze (sardinkový olej obohacený eikosapentaenovou kyselinou (EPA))

25

Připraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 250 g) obsahující následující složky:

Složka	%
Emulgátor	3,88
30 Sardinkový olej	38,93
Acetát vitaminu E	1,08
Amoniumfosfatidy, E 442	1,00
Palmitát askorbové kyseliny	0,02
Sacharóza	14,98
35 Pepermintová esence	1,00
Sorbát draselný	0,20
Voda	do 100,00

V oleji se disperguje emulgátor a antioxidanty. Smísí se sacharóza, ochranný prostředek, vonná přísada a voda. Olejová fáze se předeřeje na teplotu 57 °C a vodná fáze se předeřeje na teplotu 51 °C a olej se přidá do vodné fáze za míchání s velkým smykem při 16 000 otáčkách za minutu během 3,5 minut. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 55 °C v 7 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Rannie AS, Dánsko). Získá se emulze o střední velikosti kapiček 190 nm s potenciálem zeta –72 mV.

40

Příklad 16

Příprava 39% tukové emulze (tuňákový olej obohacený dokosahexanovou kyselinou (DHA))

- 5 Přípraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 250 g) obsahující následující složky:

	Složka	%
	Emulgátor	3,91
	Tuňákový olej	39,08
10	Acetát vitaminu E	1,10
	Amopniumfosfatidy, E 442	1,00
	Askorbylpalmitát	0,02
	Sacharóza	14,94
	Peprmintová esence	1,00
15	Sorbát draselný	0,20
	Voda	do 100,0

- 20 V oleji se disperguje emulgátor a antioxidanty. Smísí se sacharóza, ochranný prostředek, vonná přísada a voda. Olejová fáze se přehřeje na teplotu 59 °C a vodná fáze se přehřeje na teplotu 64 °C a olej se přidá do vodné fáze za míchání s velkým smykem při 16 000 otáčkách za minutu během 5 minut. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 60 °C v 7 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Rannie AS, Dánsko). Získá se emulze o střední velikosti kapiček 190 nm s potenciálem zeta -75 mV.

25

Příklad 17

Příprava 40% tukové emulze (kukuřičný olej)

- 30 Přípraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 200 g) obsahující následující složky:

	Složka	%
	Emulgátor	2,00
	Kukuřičný olej	40,8
35	Amoniumfosfatidy, E 442	1,00
	Askorbylpalmitát	0,02
	Sacharóza	14,98
	Sorbát draselný	0,10
	Voda	do 100,0

40

- 45 V oleji se disperguje emulgátor a antioxidanty. Smísí se sacharóza, ochranný prostředek a voda. Obě fáze se přehřejí na teplotu 65 °C a olej se přidá do vodné fáze za míchání s velkým smykem při 15 000 otáčkách za minutu během 4 minut. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 55 °C v 7 cyklech (Mini-Lab 8,30 H; APV Rannie AS, Dánsko). Výsledkem této formulace je emulze s úzkým rozdělením střední velikosti kapiček 210 nm s potenciálem zeta -74 mV.

Příklad 18

Příprava 11% parenterální tukové emulze (sojový olej) s obsahem 2,6-diisopropylfenolu

- 5 Přípraví se emulze oleje ve vodě (velikost šarže 150 g) obsahující farmakologicky účinnou látku za použití následujících složek:

Složka	%
Emulgátor	1,27
10 Sojový olej	10,57
2,6-diisopropylfenol	1,05
Glycerol, 99%	2,24
Voda	do 100,00

- 15 V sojovém oleji se rozpustí emulgátor, kterým je galaktolipid a aktivní složka, anestetická droga. Smísí se glycerol a voda. Vodná disperze se přehřívá na teplotu 72 °C a olejová fáze obsahující drogu se přehřívá na teplotu 68 °C. Olejová fáze se přidá do vodné disperze za míchání s velkým smykem při 13 000 otáčkách za minutu během 1,5 minuty. Předběžná emulze se pak zhomogenizuje za tlaku 80 MPa a za teploty 48 °C v 7 cyklech (MiniLab 8,30 H; APV Rannie AS, Dánsko). Vytvořená emulze má střední velikost kapiček 170 nm s potenciálem zeta – 63 mV. Mikroosmetrem (typ 13, Hermann Roebling Messtechnik, Německo) zjištěná osmolarita je 275 miliosmol/kg H₂O.

Závěry

- 25 Zjišťuje se, že podle vynálezu je možno vytvářet pozoruhodně stálé emulze oleje ve vodě na bázi galaktolipidového materiálu, které splňují významné a nutné požadavky, aby byly autoklávo-
vatelné a odolné vůči drsnému mechanickému zacházení. Emulze mají rozdělení velikosti částic, jež je vhodné pro parenterální a intravenózní použití. Emulze nemají nepříjemný zápach nebo
30 nepříjemnou chuť a jsou pozoruhodně odolné vůči oxidaci. Vynález poskytuje alternativu fosfolipidových emulzí, jež přináší konkrétní výhody ve srovnání s takovými emulzemi.

Technická využitelnost

- 35 Emulze oleje ve vodě obsahujících jako emulgátor polární lipidový materiál. Tyto emulze se hodí jako nosiče pro aktivní látky ve farmaceutických, nutričních, kosmetických, potravinářských a zemědělských výrobcích.

40

PATENTOVÉ NÁROKY

45

1. Emulze oleje ve vodě, obsahující, vztaženo na její celkovou hmotnost, 0,01 až 50 % hmotnostních, zejména 0,1 až 10 % hmotnostních, emulgátoru a 0,1 až 70 % hmotnostních oleje emulgovaného v polárním rozpouštědle, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že jako emulgátor obsahuje galaktolipidový materiál obsahující nejméně 50 % hmotnostních digalaktosyldi-C₁₀-
50 C₂₂-acylglycerolů a zbytek tvoří polární lipidy.

2. Emulze podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že obsahuje galaktolipidový materiál sestávající ze 70 až 80 % hmotnostních digalaktosyldi- C_{10} - C_{22} -acylglycerolů a ze 20 až 30 % hmotnostních polárních lipidů.
- 5 3. Emulze podle nároků 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že obsahuje galaktolipidový materiál tvořený až 100 % hmotnostními digalaktosyldi- C_{10} - C_{22} -acylglycerolů.
4. Emulze podle nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že jako olej obsahuje gama-linolenovou kyselinu ve formě volné kyseliny, solí nebo esterů.
- 10 5. Emulze podle nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že jako olej obsahuje olej z pupalky dvoulisté nebo olej borago.
6. Použití emulze podle nároků 1 až 5 jako nosiče aktivní látky ve farmaceutických, nutričních a kosmetických prostředcích.
- 15 7. Farmaceutický prostředek, **vyznačující se tím**, že obsahuje emulzi oleje ve vodě podle nároků 1 až 5 v kombinaci s terapeuticky účinnou látkou.
- 20 8. Farmaceutický prostředek podle nároku 7, **vyznačující se tím**, že jako olej v emulzi obsahuje gama-linolenovou kyselinu ve formě volné kyseliny, solí nebo esterů.
9. Farmaceutický prostředek podle nároků 7 nebo 8, **vyznačující se tím**, že jako olej v emulzi obsahuje olej z pupalky dvoulisté nebo olej borago.
- 25 10. Farmaceutický prostředek podle nároku 7, **vyznačující se tím**, že jako olej v emulzi obsahuje tri- C_8 - C_{22} -acylglycerolový olej, s výhodou s C_8 - C_{22} řetězcem, nebo bioaktivní látku.
- 30 11. Farmaceutický prostředek podle nároků 7 až 10, **vyznačující se tím**, že obsahuje
- terapeuticky aktivní látku v terapeuticky účinné množství
 - 35 – galaktolipidový emulgátor v množství 0,1 až 5,0 % hmotnostních, vztaženo na hmotnost celkového prostředku,
 - olej v množství 1 až 50 % hmotnostních, vztaženo na hmotnost celkového prostředku,
 - 40 – popřípadě isotonické činidlo v isotonicky účinném, množství a
 - polární rozpouštědlo.
- 45 12. Farmaceutický prostředek k parenterálnímu podávání, podle nároku 10 nebo 11, **vyznačující se tím**, že obsahuje, vztaženo na hmotnost celkového prostředku,
- 0,2 až 3 % hmotnostní, 2,6-diisopropylfenolu,
 - 50 – 0,3 až 5 % hmotnostních galaktolipidů,
 - 5 až 30 % hmotnostních tri- C_8 - C_{22} -acylglycerolového oleje,

– isotonicky účinné množství isotonického činidla a

– vodu jako zbytek do 100 % hmotnostních.

5

13. Farmaceutický prostředek podle nároků 7 až 11 k orálnímu, enterálnímu, parenterálnímu, rektálnímu, vaginálnímu, topickému, očnímu, nosnímu nebo ušnímu podávání, **v y z n a -**
č u j í c í s e t ě m, že obsahuje emulzi podle nároků 1 až 5.

10

Konec dokumentu

15