

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10)

PL 245365 B1

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **439126**

(22) Data zgłoszenia: **2021.10.04**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2023.04.11 BUP 15/2023**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2024.07.08 WUP 28/2024**

(51) MKP:

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 31/714 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

**FORMEDS SPÓŁKA Z OGRANICZONĄ
ODPOWIEDZIALNOŚCIĄ, Poznań, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:

GRZEGORZ ŚLIFIRSKI, Grodzisk Mazowiecki, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Magdalena Tagowska, Warszawa, PL

(54) Tytuł:

Preparat witaminy B12 oraz sposób jego wytwarzania

PL 245365 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest preparat witaminy B12 w postaci proszku liposomów, zawierająca go kapsułka twarda oraz sposób jego wytwarzania.

Witamina B12 jest rozpuszczalną w wodzie witaminą pozyskiwaną ze spożywania ryb, mięsa i produktów mlecznych, a także produktów roślinnych poddanych procesowi fermentacji. Ulega ona wchłanianiu w końcowym odcinku jelita krętego w obecności glikoproteiny wytwarzanej przez komórki okładzinowe żołądka. Ma ona kluczowe znaczenie dla funkcji neurologicznych, wytwarzania czerwonych krwinek, syntezy DNA, oraz stanowi kofaktor trzech głównych reakcji: konwersji metylomalonylo-CoA do sukcyńlo-CoA; konwersja homocysteiny do metioniny; i konwersja kwasu foliowego do tetrahydrofolianu. [A. Kośmider, K. Czaczyk, ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 2010, 5 (72), 17–32]. W znaczeniu tu stosowanym określenie witamina B12 obejmuje kobalaminę w postaci podstawowej oraz jej pochodne, takie jak hydroksykobalamina, cyjanokobalamina, metylokobalamina i adenozylokobalamina.

Liposomy to syntetyczne pęcherzyki składające się z jednej lub więcej dwuwarstw fosfolipidowych, wykorzystywane jako system dostarczania leków, genów oraz szczepionek. W zależności od składu warstwy fosfolipidowej oraz sposobu ich wytwarzania, możliwe jest kontrolowanie wielkości i ładunku liposomów oraz ich trwałości, co przekłada się w sposób bezpośredni na uwalnianie zawartych w nich substancji aktywnych [G. Gregoriadis, Y. Perrie, Liposomes. Encycl Life Sci, 2010, 1–8]. Dodatkowo, stanowią one idealny nośnik zarówno dla substancji rozpuszczalnych, jak i nierozpuszczalnych w wodzie. Dlatego stanowią one szczególnie pożądaną postać dostarczania leków. Pierwsze doniesienia o wykorzystaniu zawierającego liposomy preparatu farmaceutycznego do wstrzyknięć można znaleźć w publikacji patentowej GB417715 zgłoszenia dokonanego 29 grudnia 1932. W publikacji tej wskazano, że preparaty farmaceutyczne, zawierające lecytynę, cholesterol i wodę, mogą być wykorzystane do podawania dowolnej dawki leku przy kontrolowanym jej uwalnianiu (preparat typu „depot”).

Jednakże, technologie wykorzystujące liposomy są obecnie dużo bardziej zaawansowane. Na przykład, liposomy mogą być wykorzystywane do aktywnego kierowania substancji aktywnych do odpowiedniego miejsca działania, poprawiając w ten sposób swoistość i zmniejszając toksyczność, przez przyłączanie do ich powierzchni odpowiednich ligandów lub przez modyfikację składu dwuwarstwy fosfolipidowej. Znane są również preparaty liposomowe w postaci proszków, które są stosowane do podawania substancji czynnych drogą wziewną [A. Misra, Expert Opin Drug Deliv. 2009 6(1):71–89].

Obecnie znane są preparaty witaminy B12, w których witamina B12 jest obecna w postaci liposomów. Jednakże preparaty te mają postać ciekłej zawiesiny lub emulsji o zawierającej liposomy. Na przykład, w publikacji L. Vitetta i wsp. [J. Funct. Biomater. 2018, 9, 12; doi:10.3390/jfb9010012] ujawniono zastosowanie metylokobalaminy w postaci zawiesiny do podawania przezśluzówkowego. W zgłoszeniu patentowym P.423135 opisano przygotowanie preparatu do podawania miejscowego na skórę, w postaci emulsji olej w wodzie, zawierającej liposomy z cyjanokobalaminą.

Wadą preparatów ciekłych oraz emulsji zawierających liposomy jest ich niestabilność w kwaśnym środowisku żołądka, gdzie ulegają one agregacji a nawet wytrąceniu. Tym samym biodostępność substancji czynnych zawartych w zagregowanych konglomeratach liposomów ulega znacznemu pogorszeniu. Postać ciekła preparatów liposomowych stanowi również dodatkowy problem technologiczny, ponieważ wymaga on stosowania specjalnych saszetek lub butelek wypełnionych azotem, które po otwarciu należy przechowywać w lodówce, a ich zawartość spożyć w przeciągu 3 miesięcy.

Mimo, że w stanie techniki znane są liposomowe preparaty witaminy B12, istniało zapotrzebowanie na preparat farmaceutyczny w postaci proszku zawierającego zamkniętą w liposomach witaminę B12, który to preparat mógłby być podawany doustnie. Twórcy niniejszego wynalazku opracowali preparat liposomowy witaminy B12 w postaci proszku, który dzięki liposomowej strukturze znacząco poprawia dostępność witaminy B12 z przewodu pokarmowego. Ponadto preparat liposomowy według wynalazku jest stabilny w warunkach kwasu żołądkowego. Co więcej, istotne jest również to, że zgodnie z wynalazkiem otrzymywane są liposomowe preparaty witaminy B12 w postaci proszku, w których zawartość witaminy B12 jest odpowiednio duża, tj. liposomy są naładowane witaminą B12 w sposób efektywny, co znajduje odzwierciedlenie w proporcji wagowej obecnej w liposomach witaminy B12 do otoczki lipidowej.

Przedmiotem wynalazku jest liposomowy preparat witaminy B12 w postaci proszku, w którym dwuwarstwa lipidowa liposomów zawiera lecytynę, który to preparat zawiera inulinę jako stabilizator, przy czym stosunek wagowy witaminy B12 do lecytyny mieści się w zakresie od 1:1 do 1:100, korzystnie 1:50, natomiast stosunek wagowy lecytyny do inuliny mieści się w zakresie od 1:0,1 do 1:5, korzystnie 1:3, najkorzystniej 1:0,89. Zaletą rozwiązania według wynalazku jest to, że obecność inuliny stabilizuje preparat liposomów i zapobiega tworzeniu agregatów liposomów, szczególnie w warunkach odpowiadających warunkom kwasu żołądkowego.

W korzystnej postaci wykonania witamina B12 w preparacie według wynalazku jest wybrana z grupy składającej się z metylokobalaminy, cyjanokobalaminy, hydroksykobalaminy, 5'-deoksyadenozykobalaminy, ich farmaceutycznie dopuszczalnych soli, oraz ich dowolnej mieszaniny, a najkorzystniej witaminę B12 stanowi metylokobalamina. Również korzystnie lecytyna w preparacie według wynalazku jest wybrana z grupy składającej się z lecytyny słonecznikowej, lecytyny sojowej, lecytyny rzepakowej oraz lecytyny z żółtek jaj, a najkorzystniej lecytynę stanowi lecytyna słonecznikowa.

W korzystnej postaci wykonania preparat witaminy B12 według wynalazku jest dostarczany w kwasoodpornej kapsułce twardej (twardej kapsułce dojelitowej), dzięki czemu liposomy są uwalniane dopiero w jelicie, gdzie następuje wchłanianie witaminy B12. Zatem, przedmiotem wynalazku jest twarda dojelitowa kapsułka żelowa z zawierającą liposomowy preparat witaminy B12 według wynalazku. Kiedy witamina B12 w postaci liposomowej znajduje się w kwasoodpornej kapsułce jej dostarczanie do organizmu osoby następuje w sposób najbardziej skuteczny, ponieważ witamina B12 jest uwalniana w przewodzie pokarmowym dopiero w pobliżu miejsca, w którym następuje jej wchłanianie. Dzięki temu liposomy nie są poddawane niekorzystnemu działaniu, kwaśnemu środowiskowi żołądka, co dodatkowo zapobiega ich agregacji w większe konglomeraty. W korzystnej postaci wykonania twarda kapsułka stanowi kapsułkę żelatynową, celulozową, pullulanową lub gelanową, a najkorzystniej jest kapsułką dojelitową wykonaną z kombinacji hydroksypropylometylocelulozy oraz gumy gellan.

Przedmiotem wynalazku jest również sposób otrzymywania liposomowego preparatu witaminy B12 według wynalazku. Zgodnie z wynalazkiem, sposób otrzymywania liposomowego preparatu witaminy B12 w postaci proszku, obejmuje etap w którym lecytynę i witaminę B12 rozpuszcza się w wodzie w temperaturze w zakresie $5^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ do $90^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ z wytworzeniem wodnych roztworów witaminy B12 i lecytyny, a otrzymane w ten sposób wodne roztwory miesza się razem w temperaturze w zakresie $15^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ do $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ do wytworzenia emulsji zawierającej liposomy z witaminą B12, inulinę rozpuszcza się w wodzie w temperaturze w zakresie $15^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ do $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, po czym otrzymany wodny roztwór inuliny dodaje się do zhomogenizowanej emulsji powstałej przez połączenie wodnych roztworów lecytyny i witaminy B12, a całość intensywnie miesza w temperaturze w zakresie $15^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ do $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, przy czym w powstałej mieszaninie stosunek wagowy lecytyny do inuliny mieści się w zakresie 1:0,1 do 1:5, a stosunek wagowy witaminy B12 do lecytyny mieści się w zakresie 1:1 do 1:100, następnie powstałą zawiesinę poddaje się suszeniu.

Korzystnie, etap rozpuszczania witaminy B12 w wodzie prowadzi się w temperaturze $45^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, etap rozpuszczania lecytyny w wodzie prowadzi się w temperaturze $70^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, etap mieszania wodnych roztworów witaminy B12 i lecytyny prowadzi się w temperaturze $45^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, etap rozpuszczania inuliny w wodzie oraz mieszania inuliny ze zhomogenizowaną emulsją powstałą przez połączenie wodnych roztworów lecytyny i witaminy B12, prowadzi się w temperaturze $45^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.

Również korzystnie etap suszenia prowadzi się metodą suszenia rozpyłowego w temperaturze w zakresie $100^{\circ}\text{C} \pm 50^{\circ}\text{C}$ do $200^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, a korzystniej w temperaturze $170^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Alternatywnie, w korzystnej postaci wykonania, etap suszenia prowadzi się przez liofilizację w temperaturze w zakresie $-200,8^{\circ}\text{C} \pm 50^{\circ}\text{C}$ do $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, a korzystniej w temperaturze $-50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.

Witamina B12 stosowana w sposobie według wynalazku jest, korzystnie, wybrana z grupy składającej się z metylokobalaminy, cyjanokobalaminy, hydroksykobalaminy, 5'-deoksyadenozykobalaminy, ich farmaceutycznie dopuszczalnych soli, oraz ich dowolnej mieszaniny, a najkorzystniej jest metylokobalamina. Lecytyna stosowana w sposobie według wynalazku jest wybrana z grupy składającej się z lecytyny słonecznikowej, lecytyny, sojowej, lecytyny rzepakowej oraz lecytyny z żółtek jaj, a korzystniej jest lecytyną słonecznikową.

Korzystnie w sposobie według wynalazku mieszanina powstała po dodaniu roztworu wodnego inuliny zawiera 0,2% wag. witaminy B12, 10,1% wag. lecytyny, 9,0% wag. inuliny oraz 80,7% wag. wody w przeliczeniu na całkowitą masę mieszaniny.

Należy również nadmienić, że dzięki wykorzystaniu sposobu według wynalazku możliwe jest bardzo efektywne ładowanie liposomów, tj. stosunek wagowy substancji czynnej, którą stanowi witamina B12 do tworzącej otoczkę lipidową lecytyny odpowiada stosunkowi wagowemu mieszaniny, w której formowane są zawierające witaminę B12 liposomy. Co więcej sposób według wynalazku umożliwia zamknięcie stosunkowo dużej ilości witaminy B12 w liposomach, nawet w stosunku witaminy B12 do lecytyny wynoszącym 1:1.

Przykład 1. Sposób wytwarzania preparatu witaminy B12 w postaci proszku liposomów (suszenie rozpyłowe)

Liposomy zawierające witaminę B12 otrzymuje się w następujący sposób: 100,0 kg lecytyny słonecznikowej SF100 rozpuszcza się w 256,75 kg wody oczyszczonej w temperaturze 70°C +/- 5°C, a 2,0 kg witaminy B12 (metylokobalaminy), rozpuszcza się w 240,05 kg wody oczyszczonej w temperaturze 45°C +/- 5°C. Następnie, przy intensywnym mieszaniu łączy się ze sobą wyżej opisane wodne roztwory lecytyny słonecznikowej i metylokobalaminy, przy czym temperatura jest utrzymywana w trakcie mieszania na poziomie 45°C +/- 5°C, a powstała w ten sposób emulsję homogenizuje się w porcjach po 20 l przez 5 minut. Niezależnie w temperaturze 45°C +/- 5°C rozpuszcza się 88,5 kg inuliny w 298,5 kg wody oczyszczonej, a powstały w ten sposób roztwór wodny dodaje się przy intensywnym mieszaniu do emulsji, powstałej z połączenia się ze sobą roztworów wodnych lecytyny słonecznikowej i metylokobalaminy. Po zakończeniu mieszania, zawiesinę liposomową poddaje się ją suszeniu rozpyłowemu w temperaturze 170°C +/- 5°C z wytworzeniem proszku liposomów.

Przykład 2. Sposób wytwarzania preparatu witaminy B12 w postaci proszku liposomów (liofilizacja)

Preparat witaminy B12 w postaci proszku liposomów otrzymuje się tak jak opisano w przykładzie 1, z tą różnicą, że po zakończeniu mieszania, zawiesinę liposomową poddaje się suszeniu przez liofilizację w liofilizatorze półkowym, w temperaturze -50°C +/- 5°C.

Przykład 3. Sposób wytwarzania preparatu witaminy B12 w postaci liposomów – ocena efektywności enkapsulacji

Różne partie preparatu witaminy B12 (metylokobalaminy) w postaci proszku liposomów otrzymuje się tak jak opisano w przykładzie 1, z tą różnicą, że stosowano ilości reagentów i temperatury prowadzenia procesu przedstawiono w tabeli 1 poniżej. Po utworzeniu liposomów pobrano próbki z każdej partii. Z każdej próbki partii oddzielono liposomy na filtrze poliwęglanowym o średnicy porów 80 nm. W ten sposób otrzymano przesącz bez liposomów, w którym określano ilość witaminy B12 za pomocą ¹H NMR. Pozostałości witaminy B12 w przesączu były śladowe, co oznacza dużą efektywność enkapsulacji witaminy B12 w liposomach.

Tabela 1

preparat	Roztwór lecytyny			Roztwór metylokobalaminy			Roztwór inuliny		
	Ilość wody (kg)	Ilość lecytyny (kg)	Temp. roztworu	Ilość wody (kg)	Ilość metylokobalaminy (kg)	Temp. roztworu	Ilość wody (kg)	Ilość inuliny (kg)	Temp. roztworu
1	256,75	100	70°C +/- 5°C	240,05	2,0	45°C +/- 5°C	298,5	88,5	45°C +/- 5°C
2	300,00	100	5°C +/- 5°C	285,05	1,0	5°C +/- 5°C	288,0	10,0	5°C +/- 5°C
3	256,75	100	90°C +/- 5°C	240,05	3,0	90°C +/- 5°C	290,4	250,0	80°C +/- 5°C
4.	280,00	100	70°C +/- 5°C	12000	100	45°C +/- 5°C	1800	500	45°C +/- 5°C

Proporcje wagowe składników w preparacie według wynalazku odzwierciedlają skład ilościowy mieszaniny, w których są formowane liposomy. Składy procentowy (% wagowe) dla poszczególnych preparatów oraz mieszanin, w których były wytwarzane liposomy, jak również proporcje wagowe witaminy B12 i inuliny względem lecytyny przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2

preparat	1		2		3		4	
	mieszanina	preparat	mieszanina	preparat	mieszanina	preparat	mieszanina	preparat
Zawartość (%) wit. B12	0,2%	1,0%	0,1%	0,9%	0,26%	0,85%	0,68%	14,3%
Zawartość (%) lecycyny	10,1%	52,5%	10,1%	90,1%	8,8%	28,3%	0,68%	14,3%
Zawartość (%) inuliny	9,0%	46,5%	1,0%	9,0%	15,2%	70,85%	3,4%	71,4%
Zawartość (%) wody	80,7%	-	88,6%	-	79,9%	-	95,3%	-
Stosunek wag. wit. B12:lecytyna	1:50	1:50	1:100	1:100	1:33	1:33	1:1	1:1
Stosunek wag. lecycyna:inulina	1:0,89	1:0,89	1:0,1	1:0,1	1:2,5	1:2,5	1:5	1:5

Przykład 4. Analiza wielkości liposomów w preparatach według wynalazku

Pomiar wielkości liposomów otrzymanych w przykładzie 1 i 2 wykonano z wykorzystaniem urządzenia NanoSizerZS (Malvern Instruments, Wielka Brytania) w funkcji „volume”. 10 µl próbki liposomów (po dokładnym wymieszaniu preparatów z przykładu 1 i 2) rozcieńczano wodą dejonizowaną do objętości 1000 µl i umieszczano w kuwecie przyrządu. Następnie rejestrowano co najmniej trzy niezależnych pomiary rozkładu wielkości. Otrzymano mieszaninę liposomów 140,1 nm dla objętości wynoszącej 62% oraz 742,3 nm dla objętości wynoszącej 38%.

W celu określenia stabilności liposomów w preparacie według wynalazku, w szczególności ich odporności na agregację w warunkach silnego kwasu, wykonano pomiar wielkości liposomów otrzymanych w przykładzie 1 i 2 w sposób analogiczny do tego opisanego powyżej, jednakże po uprzedniej inkubacji liposomów przez dwie godziny w kwasie 0,1 M HCl. W wyniku pomiaru otrzymano wielkości, takie jak dla liposomów nie poddanych inkubacji w 0,1 HCl, co potwierdza stabilność liposomów.

Przykład 5. Badanie stabilności liposomowego preparatu witaminy B12 w postaci proszku według wynalazku

Badanie stabilności liposomowego preparatu witaminy B12 otrzymanego w przykładzie 1 prowadzono przez 3 miesiące, kontrolując stan zachowanych próbek preparatu co miesiąc. Próbki przechowywano w temperaturze 25°C, a ich stabilność oceniano na podstawie wyglądu, zapachu i pomiaru pH.

Po upływie trzech miesięcy wygląd, zapach i pH próbek nie uległ zmianie. Zatem wyniki badania wskazują na pełną stabilność próbek w badanym zakresie.

Zastrzeżenia patentowe

1. Liposomowy preparat witaminy B12, w którym dwuwarstwa lipidowa liposomów zawiera lecytynę, **znamienny tym**, że jest preparatem w postaci proszku, zawiera inulinę jako stabilizator preparatu, przy czym stosunek wagowy witaminy B12 do lecytyny mieści się w zakresie od 1:1 do 1:100, natomiast stosunek wagowy lecytyny do inuliny mieści się w zakresie od 1:0,1 do 1:5.
2. Liposomowy preparat witaminy B12 według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosunek wagowy witaminy B12 do lecytyny wynosi 1:50, natomiast stosunek lecytyny do inuliny wynosi 1:0,89.
3. Liposomowy preparat witaminy B12 według zastrz. 1 albo 2, **znamienny tym**, że witamina B12 jest wybrana z grupy składającej się z metylokobalaminy, cyjanokobalaminy, hydroksykobalaminy, 5'-deoksyadenozylkobalaminy, ich farmaceutycznie dopuszczalnych soli, oraz ich dowolnej mieszaniny.
4. Liposomowy preparat witaminy B12 według zastrz. 3, **znamienny tym**, że witaminę B12 stanowi metylokobalamina.
5. Liposomowy preparat witaminy B12 według dowolnego z zastrz. 1–4, **znamienny tym**, że lecytyna jest wybrana z grupy składającej się z lecytyny słonecznikowej, lecytyny, sojowej, lecytyny rzepakowej oraz lecytyny z żółtek jaj.

6. Liposomowy preparat witaminy B12 według zastrz. 5, **znamienny tym**, że lecytynę stanowi lecytyna słonecznikowa.
7. Twarda dojelitowa kapsułka żelowa z zawierającą liposomowy preparat witaminy B12 określony w zastrz. 1–6.
8. Sposób otrzymywania liposomowego preparatu witaminy B12 w postaci proszku, w którym lecytynę i witaminę B12 rozpuszcza się w wodzie z wytworzeniem wodnych roztworów witaminy B12 i lecytyny, a otrzymane w ten sposób wodne roztwory miesza się razem do wytworzenia emulsji zawierającej liposomy z witaminą B12, **znamienny tym**, że witaminę B12 i lecytynę rozpuszcza się w wodzie w temperaturze w zakresie $5^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ do $90^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, po czym powstałe wodne roztwory łączy się razem intensywnie mieszając w temperaturze w zakresie $15^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ do $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, inulinę rozpuszcza się w wodzie w temperaturze w zakresie $15^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ do $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, po czym otrzymany wodny roztwór inuliny dodaje się do zhomogenizowanej emulsji powstałej przez połączenie wodnych roztworów lecytyny i witaminy B12, a całość intensywnie miesza w temperaturze w zakresie $15^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ do $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, przy czym w powstałej mieszaninie stosunek wagowy lecytyny do inuliny mieści się w zakresie 1:0,1 do 1: 5, a stosunek wagowy witaminy B12 do lecytyny mieści się w zakresie 1:1 do 1:100, następnie powstałą zawiesinę poddaje się suszeniu.
9. Sposób według zastrz. 8, **znamienny tym**, że etap rozpuszczania witaminy B12 w wodzie prowadzi się w temperaturze $45^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, etap rozpuszczania lecytyny w wodzie prowadzi się w temperaturze $70^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, etap mieszania wodnych roztworów witaminy B12 i lecytyny prowadzi się w temperaturze $45^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, etap rozpuszczania inuliny w wodzie oraz mieszania inuliny ze zhomogenizowanej emulsją powstałą przez połączenie wodnych roztworów lecytyny i witaminy B12, prowadzi się w temperaturze $45^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
10. Sposób według zastrz. 8 albo 9, **znamienny tym**, że etap suszenia prowadzi się metodą suszenia rozpyłowego w temperaturze w zakresie $100^{\circ}\text{C} \pm 50^{\circ}\text{C}$ do $200^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
11. Sposób według zastrz. 10, **znamienny tym**, że suszenie rozpyłowe prowadzi się w temperaturze $170^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
12. Sposób według zastrz. 8 albo 9, **znamienny tym**, że etap suszenia prowadzi się przez liofilizację w temperaturze w zakresie $-200,8^{\circ}\text{C} \pm 50^{\circ}\text{C}$ do $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
13. Sposób według zastrz. 12, **znamienny tym**, że liofilizację prowadzi się w temperaturze $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
14. Sposób według dowolnego z zastrz. 8–13, **znamienny tym**, że witamina B12 jest wybrana z grupy składającej się z metylokobalaminy, cyjanokobalaminy, hydroksykobalaminy, 5'-deoksyadenozylkobalaminy, ich farmaceutycznie dopuszczalnych soli, oraz ich dowolnej mieszaniny.
15. Sposób według zastrz. 14, **znamienny tym**, że witaminę B12 stanowi metylokobalamina.
16. Sposób według dowolnego z zastrz. 8–15, **znamienny tym**, że lecytyna jest wybrana z grupy składającej się z lecytyny słonecznikowej, lecytyny, sojowej, lecytyny rzepakowej oraz lecytyny z żółtek jaj.
17. Sposób według zastrz. 16, **znamienny tym**, że lecytynę stanowi lecytyna słonecznikowa.
18. Sposób według dowolnego z zastrz. 8–17, **znamienny tym**, że mieszanina powstała po dodaniu roztworu wodnego inuliny zawiera 0,2% wag. witaminy B12, 10,1% wag. lecytyny, 9,0% wag. inuliny oraz 80,7% wag. wody w przeliczeniu na całkowitą masę mieszaniny.