

- (11) Patento numeris: **6699** (51) Int. Cl. (2020.01): **A61K 9/00**
- (21) Paraiškos numeris: **2019 046**
- (22) Paraiškos padavimo data: **2019-07-15**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **2020-01-27**
- (45) Patento paskelbimo data: **2020-02-10**
- (62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —
- (85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —
- (30) Prioritetas: —
- (72) Išradėjas:
Nataša Poklar Ulrih, SI
Katja Istenič, SI
Žydrūnas Saukevičius, LT
Simona Steponkienė, LT
- (73) Patento savininkas:
UAB „Valentis“, Molėtų pl. 11, 08409 Vilnius, LT
- (74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
Gediminas PRANEVIČIUS, Advokatų profesinė bendrija IP FORMA, Užupio g.30, LT-01203 Vilnius, LT

- (54) Pavadinimas:
Proliposomų gamybos būdas, naudojant ne daugiau kaip 5 % etanolio, ir jų panaudojimas lipofilinių medžiagų kapsuliavimui

- (57) Referatas:

Išradimas skirtas proliposomų gamybos būdai, naudojant ne daugiau kaip 5% etanolio, ir jų naudojimas lipofilinių medžiagų kapsuliavimui. Išradime panaudotos medžiagos apima, bet tuo nepasiribojant, vitaminus, mineralus ir augalinius ekstraktus. Lipidinės įkapsuliuotos maistingosios medžiagos pagamintos iš lecitino, fosfatidilcholino ir pan. Gautasis produktas yra liposomų pavidalo mikrokapsulės, sudarytos iš vienasluoksnio ar daugiasluoksnio fosfolipidų dvisluoksnio. Gautasis produktas turi nedidelį alkoholio kiekį arba visai neturi alkoholio. Produktas pagal šį išradimą vartojamas per burną, įrodyta, kad jis padidina absorbciją ir, tuo pačiu, maistinių medžiagų bioprieinamumą.

TECHNIKOS SRITIS

Išradimas skirtas maisto papildų sričiai, o tiksliau – lipidinėse pūslelėse įkapsuliuotiems geriamiesiems vitaminams, mineralams ir vaistažolių/augalų ekstraktams. Tokie mikrokapsuliuoti preparatai padidina tirpumą, maisto medžiagų pasisavinimą virškinamajame trakte, jų bioprieinamumą ir cirkuliavimą kraujyje.

TECHNIKOS LYGIS

Maisto papildai dažniausiai būna peroraliai vartojamos kietos ar pusiau kietos tabletės, kapsulės ar minkštos gelinės kapsulės. Tokie kieti preparatai yra santykinai pigūs, lengvai pagaminami, patogūs vartoti ir stabilūs. Nepaisant didėjančių įrodymų, kad įprasti maisto papildai neužtikrina reikiamo maisto medžiagų pasisavinimo, jie tebeužima didžiąją dalį farmacijos pramonėje (*Human Nutrition, Thirteenth Edition, Oxford University Press 2017; Blood*, 92 tomas, Nr. 4, 1998-08-15, psl. 1191-1198; *ACG Case Reports Journal: Iron Pill-Induced Gastritis*, 2013-10-01).

Be to kad šie preparatai neužtikrina pakankamo organizmo aprūpinimo maisto medžiagomis, jie yra neatsparūs skrandžio rūgštims ir fermentams, todėl tik nedidelė maistingųjų medžiagų dalis lieka nesuardyta, pasiekia plonąsias žarnas, kur yra pasisavinamos.

Kadangi įprasti preparatai nesuteikia tinkamos apsaugos, maistingosios medžiagos gali kontaktuoti su skrandžio gleivine ir ją sudirginti. Pavyzdžiui, žinoma, kad geležies papildai sukelia virškinamojo trakto dirginimą, kuris neretai pasireiškia pykinimu (*ACG Case Reports Journal: Iron Pill-Induced Gastritis*, 2013-10-01).

Sausieji į standartines kapsules ar tabletes įterpti augalinių ekstraktų preparatai paprastai susiduria su tirpumo problema – augaluose esančios bioaktyviosios medžiagos prastai tirpsta vandenyje, todėl jas sunkiai absorbuoja žarnyno enterocitai. Kepenyse vykstantys organizmo apsauginiai mechanizmai greitai neutralizuoja net ir nedidelį absorbuotų fitocheminių medžiagų kiekį.

Svarbu ne tik rekomenduojamas maisto papildų ar suvartotų maistingųjų medžiagų kiekis, bet ir jų bioprieinamumas (biologinis įsisavinamumas). Bioprieinamumas – techninis terminas, reiškiantis, kad absorbuojama ne visas 100% suvartotų maistingųjų medžiagų. Bioprieinamumas labai priklauso nuo kelių veiksnių, tokių kaip virškinimas, tirpinimas, soliubilizavimas, absorbcija, organo geba

pasisavinti ir atpalaiduoti, fermentinės transformacijos, sekrecija ir ekskrecija, maistingųjų medžiagų panaudojimas (*Bioavailability of Nutrients*, https://www.researchgate.net/publication/301702721_Bioavailability_of_Nutrients).

Makroelementų, t.y. angliavandenių, riebalų ir baltymų bioprieinamumas dažniausiai yra didelis – daugiau nei 90% suvartotų makroelementų organizmas absorbuoja ir panaudoja. Kita vertus, suvartotų mikroelementų, tokių kaip vitaminai ir mineralai, bioaktyviosios fitocheminės medžiagos, absorbcija ir panaudojimas labai skiriasi.

Didėjantis dėmesys pasisavinimui, stabilumui ir maistingųjų medžiagų apsaugai nuo suirimo lėmė naujų maistinių medžiagų pernašos sistemų paieškas. Vienas iš šių būdų yra mikrokapsuliavimas liposomose.

Liposomos – tai sferinės, uždaros pūslelės, sudarytos iš amfipatinių fosfolipidų. Liposomos yra plačiai ištyrinėtos ir naudojamos įvairių junginių pernešimui. Liposoma turi mažiausiai vieną uždara lipidinę dvisluoksnę membraną, kurios centre yra ertmė skystai terpei. Liposomos yra biologiškai suderinami nešikliai, gaminami taikant skirtingus metodus. Liposomos gali būti vienasluoksnės, tai yra sudarytos iš vienos dvisluoksnės membranos, arba daugiasluoksnės, sudarytos iš dviejų ar daugiau koncentriškai išdėstytų dvisluoksnių membranų.

Liposomos dažniausiai gaminamos iš natūraliai randamų sudedamųjų dalių, todėl jų kaip naujo preparato pritaikymas maisto sistemoms yra lengvai įgyvendinamas. Liposomos dažniausiai sudarytos iš lecitino iš natūralių šaltinių, pavyzdžiui, sojos pupelių, saulėgrąžų, kiaušinių. Šie lecitinai savo struktūra yra artima gyvūninių ląstelių plazminės membranos sandarai, todėl liposomas lengvai atpažįsta plonųjų žarnų ląstelės – liposomos lengvai absorbuojamos žarnyno enterocitų. Manoma, kad galimi trys vienalaikiai pasisavinimo procesai – susiliejimas su ląstelės membrana, aktyvi liposomų endocitozė ir palengvinta difuzija.

Iki kelių kartų pagerintas maistinių medžiagų pasisavinimas yra vienas svarbiausių mikrokapsuliuotų produktų pranašumų. Kadangi fosfolipidai yra amfipatinės medžiagos, liposomos gali įkapsuliuoti ir vandenyje, ir lipiduose tirpias maistingąsias medžiagas. Jos stabilizuoja įkapsuliuotas medžiagas ir yra tinkamos naudoti prastai vandenyje tirpstančių junginių, tokių kaip lipiduose tirpūs vitaminai, pavyzdžiui, vitaminas D3, vitaminas K, ar fitocheminių medžiagų, tokių kaip kurkuminas, resveratrolis, įkapsuliavimui, pernešimui ir atpalaidavimui tikslinėje vietoje.

Dėl prasto tirpumo vandenyje, kuriame lipidai, o konkrečiau – lecitinas, disperguojami, dažniausiai lipidai ištirpinami vandeniniuose alkoholių tirpaluose. Tais atvejais, kai tirpiklis yra alkoholis, rekomenduojama, kad galutinė alkoholio koncentracija būtų ne didesnė nei 5 masės % pagal galutinio produkto svorį.

Išradimo produktas gaminamas pasiremiant proliposomų gamybos būdo pagrindu, kuriame fosfolipidai ištirpinami etanolyje ir pakaitinus virsta proliposomų mišiniu. Į tokį mišinį įpylus vandens, proliposomų mikstūra virsta liposomų mišiniu (*Journal of Pharmacy and Pharmacology: A Simple Method for the Preparation of Liposomes for Pharmaceutical Applications: Characterization of the Liposomes*, 1991-03).

Iškelti tikslai – pagaminti alkoholio neturinčias proliposomas ar proliposomas su kuo mažesniu etanolio kiekiu ir didžiausiu įmanomu įkapsuliuotų hidrofilinių ir lipofilinių junginių kiekiu bei gauti proliposomas su didžiausiu įkapsuliuotų junginių atpalaidavimu, skirtas panaudoti maisto ir kosmetikos produktuose.

IŠRADIMO ESMĖ

Šiame išradime pateiktas įkapsuliuotas maisto papildų preparatas. Išradime panaudotos medžiagos apima, bet tuo neapsiribojant, vitaminus, mineralus ir augalinius ekstraktus. Lipidinės įkapsuliavimui reikalingos medžiagos pagamintos iš lecitino, fosfatidilcholino ir pan. Gautasis produktas yra liposomų pavidalo mikrokapsulės, sudarytos iš vienasluoksnio ar daugiasluoksnio fosfolipidų dvisluoksnio. Gautasis produktas turi nedidelį alkoholio kiekį arba visai neturi alkoholio. Produktas pagal šį išradimą vartojamas per burną, įrodyta, kad jis padidina maistinių medžiagų pasisavinimą ir bioprieinamumą.

PAVEIKSLŲ APRAŠYMAS

1 pav. pavaizduota bendra kurkumino koncentracija mikrokapsulės suspensijoje, esant 25°C ir 40°C temperatūrai, 1 ir 90 dieną;

2 pav. pavaizduotas vitamino D3 atpalaidavimas iš mikrokapsulės, esant 25°C ir 40°C temperatūrai;

3 pav. pavaizduota bendra vitamino D3 koncentracija mikrokapsulės suspensijoje, esant 25°C ir 40°C temperatūrai, 1 ir 90 dieną;

4 pav. pavaizduota vitamino D3 koncentracija žiurkių kraujo serume per 24

eksperimento dienas.

IŠSAMUS IŠRADIMO APRAŠYMAS

Liposomų paruošimas

Dauguma žinomų farmacinių liposomų paruošimo procesų nėra tinkami maisto papildų liposomoms, kurios standartiškai skirtos vartoti per burną, didžiąja dalimi dėl to, kad farmacinių liposomų kompozicijoje naudojamos ne maistinės sudedamosios dalys.

Be to, daugelyje žinomų ruošimo procesų naudojamas šildymas, pvz., lipidai soliubilizuojami kaitinant, todėl pakeliama lipidų tirpalo temperatūra. Tokie procesai gali paveikti medžiagos, junginio ar kompozicijos veikimą ar efektyvumą, ypač tų, kurios yra jautrios karščiui ir (ar) oksidacijai. Ruošiant liposomas, būtina ištirpinti lipidus organiniuose tirpikliuose, tokiuose kaip metanolis, chloroformas ar etanolis. Šiuo metu rinkoje keliama reikalavimai pašalinti iš liposomų organinių tirpiklių likučius arba nenaudoti etanolio liposomų gamyboje. Todėl reikalingi papildomi procesai, gaminant liposomas maisto papildams ir farmaciniams produktams. Įvairūs liposomų paruošimo ir terapinių medžiagų kapsuliavimo būdai yra aprašyti, pavyzdžiui, JAV patentuose Nr. 3932657, 4311712, 5891465 ir 5013556. Žinomi būdai apima atvirkštinio garinimo būdą, aprašytą JAV patente Nr. 4235871.

Lipidai, naudojami liposomų kompozicijų formavimui, apima pūsleles formuojančius lipidus, turinčius angliavandenilių grandines, įprastai – riebalų rūgščių uodegėles ir polinės galvutės grupę. Tai yra fosfolipidai, tokie kaip fosfatidicholinas, sfingolipidai, tokie kaip ceramidas. Riebalų rūgščių grandinės gali būti sočiosios arba nesočiosios, turinčios vieną, dvi ar daugiau dvigubų jungčių angliavandenilių grandinėje. Fosfatidilcholinas yra fosfolipidas, turintis choliną galvutės grupėje. Liposomų gamybai galima naudoti daugiau nei vieno tipo lipidus. Kompozicijas galima keisti, kad būtų pasiektas pageidaujamo lygio takumas ar standumas.

Šiame išradime apibūdinti patobulinti proliposominiai būdai, skirti didelių ir mažų vienasluoksnių ir (ar) daugiasluoksnių liposomų, kurias sudaro fosfolipidų mišinys su įkapsuliuotais funkcinio maisto elementais, tokiais kaip kurkuminas, vitaminas D3 ir t.t., gamybai, taip pat pateikti įkapsuliavimo šiais būdais efektyvumo rodikliai. Pagerintas maistingųjų medžiagų pasisavinimas iš mikrokapsuliuotų produktų buvo patvirtintas ikiklinikiniais *in vivo* tyrimais.

Žemiau pateiktas mikrokapsulių suspensijos paruošimas, taikant proliposomų būdą.

Šio išradimo preparato komponentus apima išgrynintas sojų, saulėgrąžų ar kiaušinių lecitinas, kurio koncentracija yra nuo 0,10 iki 20,0 masės %; α -tokoferolis ir (ar) kitas antioksidantas, kurio koncentracija yra nuo 0,01 iki 0,25 masės %; pasirinktinai naudojamas etanolis iki 5 masės %; vitaminai, maisto papildai, augaliniai ekstraktai ir kiti biologiškai aktyvūs ingredientai, kurių koncentracija gali būti nuo 0,007 iki 20,0 masės %; išgrynintas vanduo nuo 50,0 iki 99,9 masės %.

Be to, kad fosfolipidų dvisluoksnyje turi įkapsuliuotas medžiagas, šio išradimo kompozicijos taip pat gali apimti vieną ar daugiau maisto priedų, įskaitant, bet tuo neapsiribojant, kvapniąsias medžiagas, tokias kaip saldikliai, aromatiniai maisto priedai; stabilizatorius, pvz., ksilitolis; konservantus, pvz., kalio sorbatas, natrio benzoatas; buferius ir rūgštingumo reguliatorius.

Komponentai – lecitinas, etanolis, tokoferolio acetatas – sumaišomi didelės talpos kolboje, naudojant magnetinę maišyklę. Ištirpus lipidams, sudedamos ir išmaišomos lipiduose arba vandenyje tirpios maistingosios medžiagos. Maišant pridedama citrinų rūgšties vandens tirpalo. Mišinys pašildomas iki ne daugiau 70°C, išmaišomas ir nuolat maišant paliekamas atvėsti. Komponentai – konservantai, saldikliai ir citrinų rūgštis – pridedami į mišinį ir išmaišomi. Tirpalas homogenizuojamas, siekiant gauti mažesnes ir vienodesnes mikrokapsules.

Vadovaujantis aukščiau nurodytomis ribomis, žemiau kaip vienas iš šio išradimo realizavimo pavyzdžių pateikiama liposominio kurkumino paruošimo procedūra:

1) Tokiame 96% etanolio kiekyje, kad galutiniame produkte neviršytų 5% etanolio, ištirpinama kurkumino žaliava ir lipidai, kur fosfatidilcholinai sudaro >50%, ir α -tokoferolis. Įjungiamas maišymas, nustatomas didžiausias greitis.

2) Silpna srovele supilama 0,01 % citrinų rūgšties tirpalo.

3) Liposomų mišinio temperatūra pašildoma iki ne daugiau nei 70°C temperatūros; kai pasiekama ši temperatūra (matuojama, termometrą įstatant į mišinį), mišinys šildomas ir maišomas iki 30 minučių;

4) Nenutraukiant maišymo, mišinys atvėsinaamas iki kambario temperatūros

(~25°C);

5) 0,01% citrinų rūgšties tirpale ištirpinamas kalio sorbatas (iki 0,2 masės %) ir ksilitolis (iki 10 masės %). Gautasis tirpalas sulašinamas į liposomų mišinį 3 dalimis. Po kiekvieno etapo atliekamas 10 min. maksimalus sukurinis maišymas. Tokiu būdu užtikrinamas liposomų homogeniškumas;

6) Sulašinama 0,01% citrinų rūgšties tirpalo tiek, kad būtų pasiektas galutinis preparato tūris. Maišoma maksimaliu greičiu 10 min.;

7) Tirpalas homogenizuojamas, gaunant homogeniškas liposomines mikrokapsules;

8) Gautas tirpalas sumaišomas su glicerolio (iki 3 masės %) ir ksantano dervos (iki 0,5 masės %) mišiniu.

Liposomų dydis buvo matuojamas, taikant dinaminį šviesos sklaidos metodą, suspensijų užteršimas metalais analizuojamas pilno atspindžio rentgeno spindulių fluorescencijos (TXRF) spektrometru, fosfatidilcholino kiekis analizuojamas plonasluoksnės chromatografijos (TLC) būdu.

Toliau pateikti pavyzdžiai su nuoroda į 1-4 pav. 1 pav. parodo mikrokapsuliuoto kurkumino ir vitamino D3 stabilumą skirtingose laikymo temperatūrose per 90 dienų. Šie pavyzdžiai skirti tik iliustruoti išradimą, jais neapsiribojant, ir gali būti taikomi kitoms fitocheminėms medžiagoms, vitaminams ir mineralams.

Liposominio kurkumino ir vitamino D3 mėginiai buvo laikomi 25°C ir 40°C temperatūrose 90 dienų; stebėtas kapsuliuotų junginių atsipalaidavimas iš mikrokapsulių. Bendras bioaktyviųjų junginių kiekis nustatytas 1 ir 90 dieną.

1 pavyzdys. Mikrokapsuliuoto kurkumino išsiskyrimas

Kaip matyti 1 pav., per 90 dienų saugojimo 25°C ir 40°C temperatūrose kurkumino išsiskyrimas nenustatytas.

2 pavyzdys. Mikrokapsuliuoto vitamino D3 išsiskyrimas

2 pav. pavaizduotas vitamino D3 išsiskyrimas 25°C ir 40°C temperatūrose. Iš mikrokapsulių išsiskyrė iki 22 % vitamino D3. Vitamino D3 išsiskyrimas pradėjo mažėti nuo 22 dienos ir stebimas išsiskyrusio vitamino D3 irimas.

3 pav. pavaizduota bendra vitamino D3 koncentracija mikrokapsulės suspensijoje, esant 25°C ir 40°C temperatūroms, 1 ir 90 laikymo dienomis.

1 ir 2 pavyzdžių santrauka

Mikrokapsuliuoto kurkumino mėginys buvo stabiliausias, nes per 90 laikymo dienų 25°C ir 40°C temperatūrose išskyrimas iš mikrokapsulės nenustatytas. Mikrokapsuliuoto vitamino D3 atvejis buvo kitoks, nes 11 laikymo 25°C ir 40°C temperatūrose dieną buvo atitinkamai nustatytas 15 % ir 22 % vitamino D3 išskyrimas. Išskiriamo vitamino D3 koncentracija pradėjo mažėti po 22 dienų, o po 90 dienų jo buvo nebeaptinkama, greičiausiai dėl to, kad išsiskyręs vitaminas D3 suiro. Mikrokapsuliuotas vitaminas D3 išliko stabilus, o tai reiškia, kad šis išradimas apsaugo įkapsuliuotas maistingąsias medžiagas nuo suirimo.

3 pavyzdys. Vitamino D3 bioprieinamumas

3 pavyzdys, atvaizduotas 4 pav., parodo mikrokapsuliuoto vitamino D3 bioprieinamumą žiurkėse. Šis pavyzdys skirtas tik iliustruoti išradimą ir jo privalumus ir gali būti pritaikytas kitoms fitocheminėms medžiagoms, vitaminams ir mineralams.

Vitamino D3 koncentracija žiurkių kraujo serume per 24 tyrimo dienas: žiurkės buvo padalintos į 3 grupes; nuo 1 iki 7 dienos žiurkėms buvo sumaitinta 2000 IU/kg vitamino D3 skirtingomis formomis: mikrokapsuliuoto, aliejaus pagrindu ir micelinio.

Vartojant mikrokapsuliuotą vitaminą D3, pastovi vitamino D3 koncentracija kraujo serume išsilaikė ilgiausiai net ir nutraukus vitamino D3 vartojimą. Mikrokapsuliuotas vitaminas D3 buvo labiau bioprieinamas negu vitaminas D3 aliejaus pagrindu ir beveik dvigubai biotinkamesnis nei micelinis vitaminas D3.

Šis tyrimas parodo geresnį vitaminų, mineralų ir fitocheminių medžiagų bioprieinamumą taikant mikrokapsuliuavimo technologiją. Išradimas pasižymi didesniu aktyviųjų medžiagų pasisavinimu, taip pat prailgintu poveikiu dėl medžiagų pasisavinimo per limfinę sistemą, priešingai įprastai maisto medžiagų absorbcijai tiesiai į kraują. Šio išradimo būdas yra pranašesnis už standartinių peroralinių preparatų, micelizuotų peroralinių preparatų ir preparatų aliejaus pagrindu vartojimą, nes pastarieji yra pasisavinami žymiau prasčiau ir perneša maistines medžiagas tiesiogiai į kepenis presisteminiam metabolizmui. Kepenys dėl P450 citochromų poveikio turi įgimtą tam tikrų maistingųjų medžiagų, ypač fitocheminių medžiagų,

neutralizavimo mechanizmus. Tokio presisteminio metabolizmo mikrokapsuliuotos medžiagos išvengia.

IŠRADIMO APIBRÉŽTIS

1. Proliposomų gamybos būdas, apimantis liposomą formuojančio amfipatinio lipido ir lipide ar vandenyje tirpaus bioaktyvaus junginio ištirpinimą, gaunant liposomų pavidalo mikrokapsules, besiskiriantis tuo, kad apima šias stadijas:

a) komponentai – lecitinas, tokoferolio acetatas ir pasirinktinai etanolis – sumaišomi didelės talpos kolboje, naudojant magnetinę maišyklę;

b) ištirpus lipidams, sudedamos ir išmaišomos lipiduose arba vandenyje tirpios maistingosios medžiagos, tokios kaip vitaminas D3, vitaminas K, kurkuminas, resveratrolis ir kitos;

c) maišant pridedama citrinų rūgšties vandens tirpalo;

d) gautasis mišinys pašildomas iki ne daugiau 70°C, išmaišomas ir paliekamas atvėsti;

e) komponentai – konservantai, saldikliai ir citrinų rūgštis – pridedami į atvėsintą mišinį ir išmaišomi;

f) tirpalas homogenizuojamas, gaunant mažas vienodo dydžio liposominės mikrokapsules.

2. Būdas pagal 1 punktą, besiskiriantis tuo, kad prideda išgryninto sojų, saulėgrąžų ar kiaušinių lecitino nuo 0,10 iki 20,0 masės %; α -tokoferolio ir (ar) kito antioksidanto nuo 0,01 iki 0,25 masės %; pasirinktinai etanolio iki 5 masės %; vitaminų, maisto papildų, augalinių ekstraktų ir kitų biologiškai aktyvių ingredientų nuo 0,007 iki 20,0 masės %; išgryninto vandens nuo 50,0 iki 99,9 masės %.

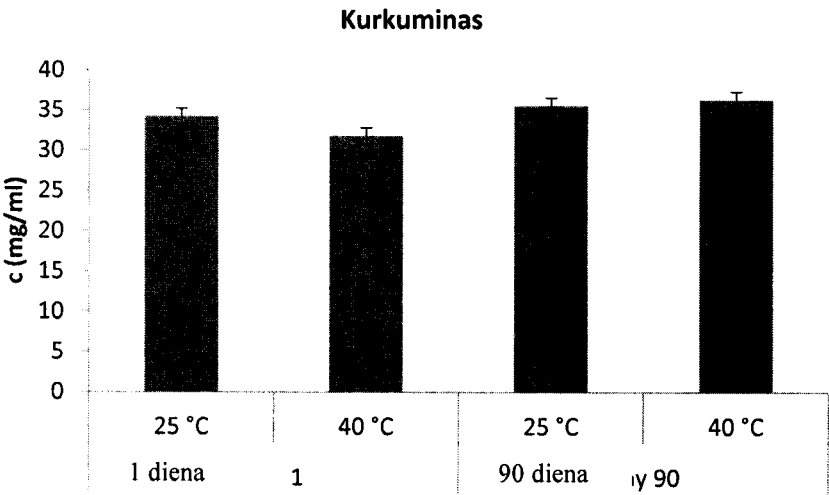
3. Būdas pagal bet kurį ankstesnį punktą, skirtas liposominio kurkumino paruošimui, besiskiriantis tuo, kad apima stadijas:

a) tokiame 96% etanolio kiekyje, kad galutiniame produkte neviršytų 5% etanolio, ištirpinama kurkumino žaliava ir lipidai, kur fosfatidilcholiną sudaro >50%, ir α -tokoferolis;

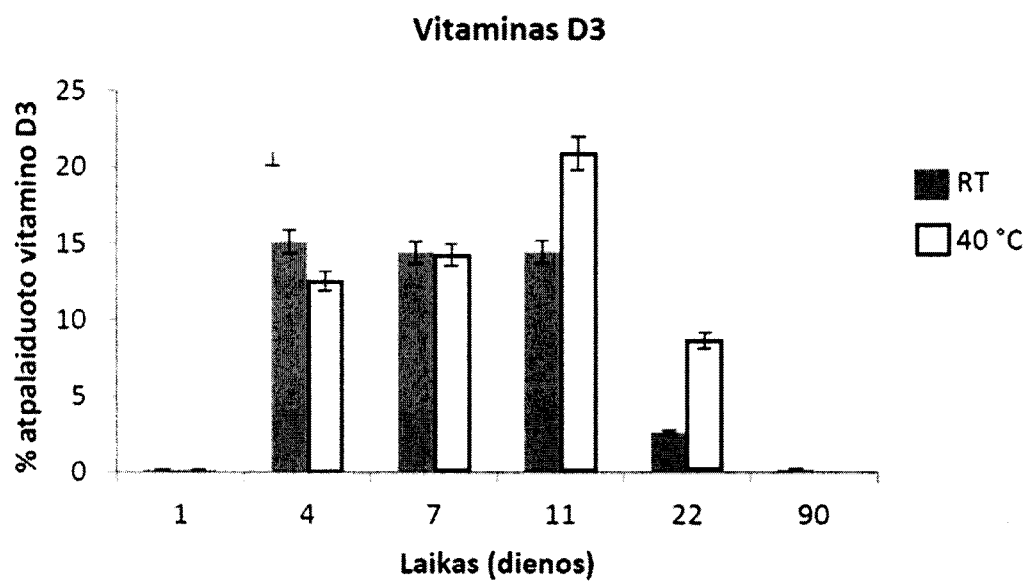
b) įjungiamas maišymas, nustatomas didžiausias greitis, išvengiant tirpalo putų formavimosi;

c) silpna srovele supilamas 0,01 % citrinų rūgšties tirpalas;

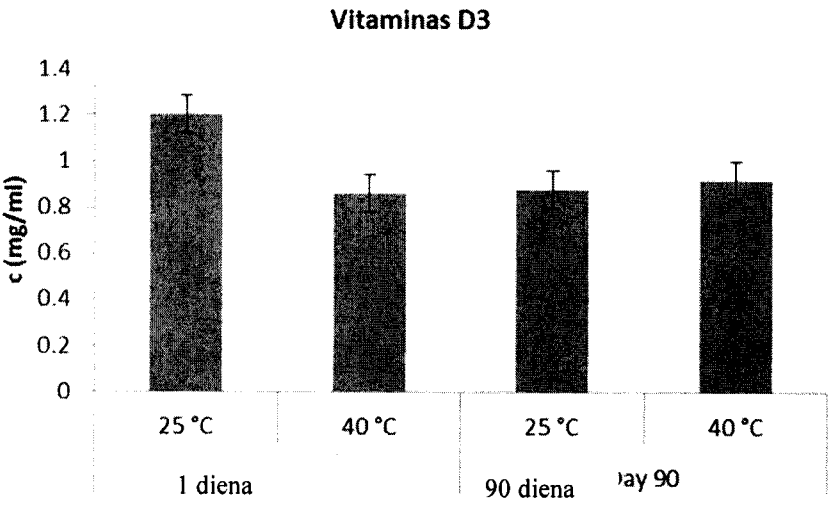
- d) mišinys pašildomas iki ne daugiau 70°C temperatūros;
 - e) kai pasiekama ši temperatūra, mišinys šildomas ir maišomas iki 30 minučių;
 - f) nenutraukiant maišymo, mišinys atvėsinaamas iki kambario temperatūros;
 - g) 0,01% citrinų rūgšties tirpale ištirpinamas kalio sorbatas (iki 0,2 masės %) ir ksilitolis (iki 10 masės %);
 - h) gautasis tirpalas sulašinamas į liposomų mišinį 3 dalimis, po kiekvieno etapo atliekant 10 min. maksimalų sukūrinį maišymą, tokiu būdu užtikrinant liposomų homogeniškumą;
 - i) sulašinama 0,01% citrinų rūgšties tirpalo tiek, kad būtų pasiektas galutinis preparato tūris, ir mišinys maišomas 10 min.;
 - j) gautasis tirpalas homogenizuojamas, gaunant homogeniškas liposomines mikrokapsules;
 - k) tirpalas sumaišomas su su glicerolio (iki 3 masės %) ir ksantano dervos (iki 0,5 masės %) mišiniu.
4. Būdo pagal bet kurį ankstesnį punktą panaudojimas lipofilinių medžiagų įkapsuliavimui.



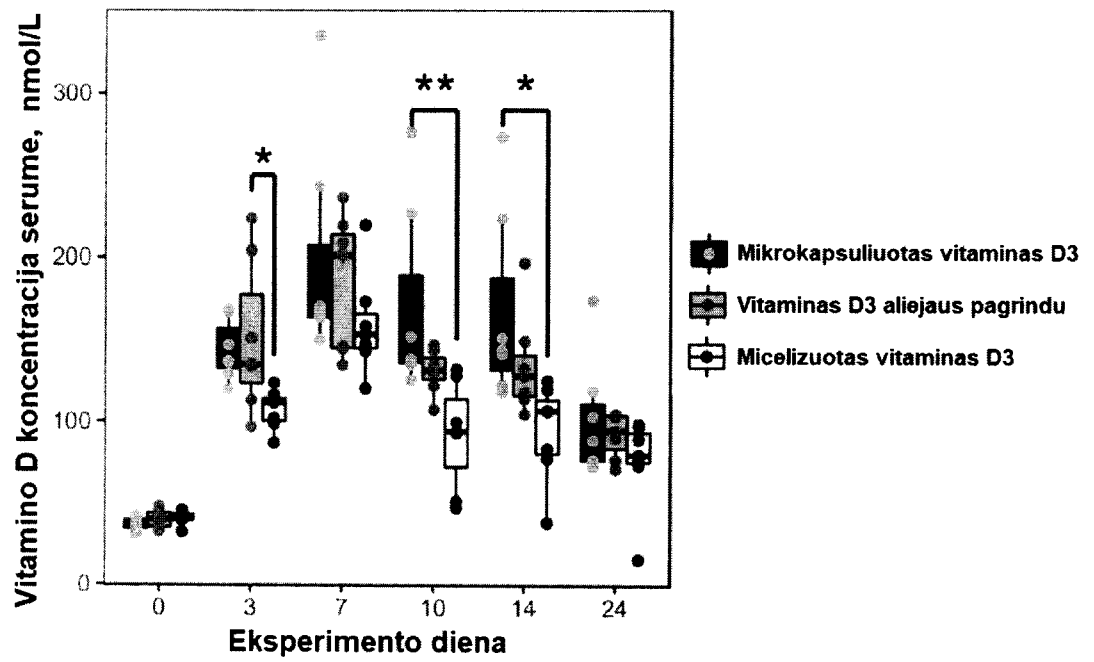
1 pav.



2 pav.



3 pav.



4 pav.