



УКРАЇНА

(19) UA (11) 14629 (13) A

(51) 6 A 61 K 9/50; A 61 K 31/685

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті
на підставі Постанови Верховної Ради України
№ 3769-XII від 23.XII. 1993 р.Публікується
в редакції заявника

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛИПОСОМАЛЬНОЇ ФОРМИ ПРОТИПУХЛИННОГО ПРЕПАРАТУ

1

(21) 94107197

(22) 10.10.94

(24) 20.01.97

(46) 25.04.97. Бюл. № 2

(47) 20.01.97

(72) Дудниченко Олександр Сергійович, Бутенко Костянтин Анатолійович, Теміров Юрій Павлович, Краснопольський Юрій Михайлович

(73) Харківське підприємство по виробництву імунобіологічних та лікарських препаратів "Біолік" (UA)

2

(57) Способ получения липосомальной формы противоопухолевого препарата, включающий высушивание фосфолипидов в вакууме, эмульгирование фосфолипидов в водной среде, содержащей углевод и препарат платины, получение липосом, отличающийся тем, что эмульгирование проводят в среде, содержащей глюкозу или лактозу в количестве 7-20 мас.%, при соотношении препарат платины: фосфолипиды 1:(22-40), а процесс получения липосом осуществляют гомогенизацией липидной эмульсии при давлении $5,3 \cdot 10^4$ - $6,4 \cdot 10^4$ Па.

Изобретение относится к фармации, а именно к способу получения липосомального препарата, который может быть использован в качестве противоопухолевого средства.

Известен способ получения липосомального препарата путем эмульгирования липидов в водной среде, содержащей углевод и препарат платины, с последующим замораживанием и оттаиванием (Каледин В.И., Попова Н.А., Николин В.П., Стеценко А.И. Влияние условий приготовления липосом и схемы введения платина в липосомах мышам линии A/HeI с опухолью ГА-1 на его противоопухолевые и токсические свойства. - Эксперим. онкология, 1992, т. 14, № 2, с. 60-64). Данный способ имеет ряд существенных недостатков: длительность процес-

са, низкий выход целевого продукта, высокий индекс окисленности продукта, высокая обсемененность микроорганизмами, что затрудняет промышленное внедрение препарата.

Наиболее близким к предлагаемому способу является способ получения препарата путем высушивания смеси липидов: лецитина (фосфатидилхолина) и холестерина в вакууме, эмульгирования липидов в водной среде, содержащей углевод и препарат платины, получения липосом методом 7-кратного замораживания в жидком азоте и размораживания в водяной бане при комнатной температуре (Каледин В.И., Попова Н.А., Стеценко А.И., Яковлев К.И. Противоопухолевая эффективность свободного и заключенного в липосомы плаксанта у мышей

(19) UA (11) 14629 (13) A

Таблица 3

Зависимость физико-химических свойств препарата от давления

Показатели	Давление, Па				
	$5,0 \cdot 10^7$	$5,3 \cdot 10^7$	$5,8 \cdot 10^7$	$6,4 \cdot 10^7$	$6,7 \cdot 10^7$
Оптическая плотность	0,17	0,08	0,10	0,09	0,07
Индекс окисленности	0,32	0,30	0,32	0,34	0,46

Таблица 4

Показатели	Способ	
	Предлагаемый	Прототип
Продолжительность процесса получения 1 л препарата, мин	12-20	70-90
Индекс окисленности	0,30-0,34	0,35-0,46
Включение препарата платины в липосомы, %	85-89	78

Упорядник

Техред М.Моргентал

Коректор Л. Філь

Замовлення 4140

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101



УКРАЇНА

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВО(19) UA (11) 14629 (13) A(51) 6 A 61 K 9/50; A 61 K 31/685ОПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті
на підставі Постанови Верховної Ради України
№ 3769-XII від 23.XII. 1993 р.Публікується
в редакції заявника

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛИПОСОМАЛЬНОЇ ФОРМИ ПРОТИПУХЛИННОГО ПРЕПАРАТУ

1

(21) 94107197

(22) 10.10.94

(24) 20.01.97

(46) 25.04.97. Бюл. № 2

(47) 20.01.97

(72) Дудніченко Олександр Сергійович, Бутенко Костянтин Анатолійович, Теміров Юрій Павлович, Краснопольський Юрій Михайлович

(73) Харківське підприємство по виробництву імунобіологічних та лікарських препаратів "Біолік" (UA)

2

(57) Способ получения липосомальной формы противоопухолевого препарата, включающий высушивание фосфолипидов в вакууме, эмульгирование фосфолипидов в водной среде, содержащей углеводов и препарат платины, получение липосом, отличающийся тем, что эмульгирование проводят в среде, содержащей глюкозу или лактозу в количестве 7-20 мас.%, при соотношении препарата платины: фосфолипиды 1:(22-40), а процесс получения липосом осуществляют гомогенизацией липидной эмульсии при давлении $5,3 \cdot 10^7$ - $6,4 \cdot 10^7$ Па.

Изобретение относится к фармации, а именно к способу получения липосомального препарата, который может быть использован в качестве противоопухолевого средства.

Известен способ получения липосомального препарата путем эмульгирования липидов в водной среде, содержащей углеводов и препарат платины, с последующим замораживанием и оттаиванием (Каледин В.И., Попова Н.А., Николин В.П., Стеценко А.И. Влияние условий приготовления липосом и схемы введения платина в липосомах мышам линии A/HeI с опухолью ГА-1 на его противоопухолевые и токсические свойства. - Эксперим. онкология, 1992, т. 14, № 2, с. 60-64). Данный способ имеет ряд существенных недостатков: длительность процес-

са, низкий выход целевого продукта, высокий индекс окисленности продукта, высокая обсемененность микроорганизмами, что затрудняет промышленное внедрение препарата.

Наиболее близким к предлагаемому способу является способ получения препарата путем высушивания смеси липидов: лецитина (фосфатидилхолина) и холестерина в вакууме, эмульгирования липидов в водной среде, содержащей углеводов и препарат платины, получения липосом методом 7-кратного замораживания в жидком азоте и размораживания в водяной бане при комнатной температуре (Каледин В.И., Попова Н.А., Стеценко А.И., Яковлев К.И. Противоопухолевая эффективность свободного и заключенного в липосомы плаксанта у мышей

(19) UA (11) 14629 (13) A

линии А/Не с метастазами опухоли ГА-1 в печени. Эксперим. онкология, 1993, т. 15, № 5, с. 75-76). Данный способ имеет ряд недостатков: окисление фосфолипидов в процессе получения липосом, длительность процесса за счет низкой производительности оборудования, низкий процент включения антибиотика в липосомы, нестабильность физико-химических свойств в процессе получения и хранения.

В основу изобретения поставлена задача создать способ получения липосомальной формы противоопухолевого препарата, в котором технологические стадии и параметры процесса позволили бы получить препарат с низким индексом окисленности и стабильными физико-химическими свойствами, повысить процент включения антибиотика в липосомы и сократить длительность технологии.

Поставленная задача решается тем, что в способе получения липосомальной формы противоопухолевого препарата, включающем высушивание фосфолипидов в вакууме, эмульгирование фосфолипидов в водной среде, содержащей углеводов и препарат платины, получение липосом, согласно изобретению, эмульгирование проводят в среде, содержащей глюкозу или лактозу в количестве 7-20 мас. %, при соотношении препарат платины: фосфолипиды 1:(22-40), а процесс получения липосом осуществляют гомогенизацией липидной эмульсии при давлении $5,3 \cdot 10^7$ - $6,4 \cdot 10^7$ Па.

В табл. 1-3 приведены данные, обосновывающие достаточность выбранных соотношений для достижения обеспечиваемого изобретением технического результата.

Как видно из данных, приведенных в табл. 1, оптимальным является содержание глюкозы или лактозы 7-20 мас. %. Использование концентраций ниже указанных приводит к увеличению оптической плотности, а увеличение концентрации приводит к снижению включения препарата платины в липосомы.

Как видно из данных, приведенных в табл. 2, оптимальным является соотношение препарат платины: фосфолипиды 1:(22-40). Использование соотношений ниже указанных приводит к неполному включению препарата платины в липосомы, а увеличение соотношения приводит к увеличению оптической плотности, что затрудняет стерилизующую фильтрацию продукта.

Как видно из данных, приведенных в табл. 3, оптимальным является давление $5,3 \cdot 10^7$ - $6,4 \cdot 10^7$ Па. Использование давле-

ния ниже указанного не дает эмульсии необходимой оптической плотности, а использование более высокого давления приводит к увеличению индекса окисленности, что в свою очередь приводит к нестабильности препарата.

Преимущества предлагаемого способа по сравнению с прототипом приведены в табл. 4.

П р и м е р 1. Спиртовой раствор природных фосфолипидов, содержащий 88 г фосфатидилхолина яичного желтка, высушивают в вакууме при температуре 35-37°C до получения тонкой липидной пленки. Полученную пленку фосфолипидов эмульгируют в 10 л водного раствора, содержащего 4 г препарата платины и 0,7 кг глюкозы или лактозы. Смесь перемешивают в течение 1 ч и для получения липосом переносят в реактор гомогенизатора типа "α-Laval", где подвергают обработке, которую проводят при температуре 35-40°C и давлении $5,3 \times 10^7$ Па. Время проведения гомогенизации в течение одного цикла - 5 мин. Затем в течение 10 мин проводят охлаждение реакционной смеси до температуры 33-35°C, после чего процесс повторяют при указанном режиме. После проведения 7 циклов и достижения оптической плотности не более 0,08-0,14 при 540 нм процесс прекращают. Полученный раствор подвергают стерилизующей фильтрации и разливу во флаконы. Выход целевого продукта составляет 9,6 л. Продолжительность процесса получения 1 л препарата - 12 мин. Индекс окисленности - 0,30. Включение препарата платины в липосомы 85%.

П р и м е р 2. Спиртовой раствор природных фосфолипидов, содержащий 120 г фосфатидилхолина яичного желтка, высушивают в вакууме при температуре 35-37°C до получения тонкой липидной пленки. Полученную пленку фосфолипидов эмульгируют в 10 л водного раствора, содержащего 4 г препарата платины и 1,5 кг глюкозы или лактозы. Смесь перемешивают в течение 1 ч и для получения липосом переносят в реактор гомогенизатора типа "α-Laval", где подвергают обработке, которую проводят при температуре 35-40°C и давлении $5,8 \times 10^7$ Па. Время проведения гомогенизации в течение одного цикла - 5 мин. Затем в течение 10 мин проводят охлаждение реакционной смеси до температуры 33-35°C, после чего процесс повторяют при указанном режиме. После проведения 7 циклов и достижения оптической плотности не более 0,08-0,14 при 540 нм процесс прекращают. Полученный раствор подвергают стерилизу-

ющей фильтрации и разливу во флаконы. Выход целевого продукта составляет 9,4 л. Продолжительность процесса получения 1 л препарата - 16 мин. Индекс окисленности - 0,32. Включение препарата платины в липосомы - 88%.

П р и м е р 3. Спиртовой раствор природных фосфолипидов, содержащий 160 г фосфатидилхолина яичного желтка, высушивают в вакууме при температуре 35-37°C до получения тонкой липидной пленки. Полученную пленку фосфолипидов эмульгируют в 10 л водного раствора, содержащего 4 г препараты платины и 2,0 кг глюкозы или лактозы. Смесь перемешивают в течение 1 ч и для получения липосом переносят в реактор гомогенизатора типа "α-Laval", где

подвергают обработке, которую проводят при температуре 35-40°C и давлении $6,4 \times 10^7$ Па. Время проведения гомогенизации в течение одного цикла - 5 мин. Затем в течение 10 мин проводят охлаждение реакционной смеси до температуры 33-35°C, после чего процесс повторяют при указанном режиме. После проведения 7 циклов и достижения оптической плотности не более 0,08-0,14 при 540 нм процесс прекращают. Полученный раствор подвергают стерилизующей фильтрации и разливу во флаконы. Выход целевого продукта составляет 9,5 л. Продолжительность процесса получения 1 л препарата - 20 мин. Индекс окисленности - 0,34. Включение препарата платины в липосомы - 89%.

Т а б л и ц а 1

Зависимость физико-химических свойств препарата от содержания глюкозы или лактозы в водной среде

Показатели	Содержание глюкозы или лактозы, мас. %				
	3	7	14	20	25
Включение препарата платины в липосомы, %	89	88	89	88	67
Оптическая плотность	0,18	0,09	0,08	0,11	0,10

Т а б л и ц а 2

Зависимость физико-химических свойств препарата от соотношения препарат платины: фосфолипиды

Показатели	Соотношение препарат платины: фосфолипиды				
	1:18	1:22	1:30	1:40	1:44
Включение препарата платины в липосомы, %	60	85	88	89	88
Оптическая плотность	0,06	0,09	0,12	0,14	0,21

Таблица 3

Зависимость физико-химических свойств препарата от давления

Показатели	Давление, Па				
	$5,0 \cdot 10^7$	$5,3 \cdot 10^7$	$5,8 \cdot 10^7$	$6,4 \cdot 10^7$	$6,7 \cdot 10^7$
Оптическая плотность	0,17	0,08	0,10	0,09	0,07
Индекс окисленности	0,32	0,30	0,32	0,34	0,46

Таблица 4

Показатели	Способ	
	Предлагаемый	Прототип
Продолжительность процесса получения 1 л препарата, мин	12-20	70-90
Индекс окисленности	0,30-0,34	0,35-0,46
Включение препарата платины в липосомы, %	85-89	78

Упорядник

Техред М.Моргентал

Коректор Л. Філь

Замовлення 4140

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101