

Обзор технологий создания перфторуглеродных эмульсий

Масленников И.А., Пушкин С.Ю., Бондарь О.Г.

ОАО НПФ «Перфторан», Россия

Проблема создания эмульсий на основе перфторуглеродных соединений (ПФОС) для медико-биологических целей разрабатывается учеными уже несколько десятилетий. Актуальным является получение перфторуглеродных эмульсий, которые бы максимально соответствовали следующим требованиям:

- высокая газотранспортная способность;
- стабильность;
- низкая реактогенность;
- отсутствие токсичности.

Известно, что качество перфторуглеродных эмульсий определяется физико-химическими свойствами выбранных ПФОС, физико-химическими свойствами и природой эмульгатора и технологией получения эмульсии [1].

Для получения перфторуглеродных эмульсий используют, как правило, одновременно два типа ПФОС: быстровыводящиеся перфторуглероды и медленно выводящиеся перфторированные соединения. В качестве первых, как правило, используются перфторорганические соединения из группы C₈-C₁₀, перфтордекалин (ПФД) или перфтороктилбромид (ПФОБ), поскольку по сравнению с другими ПФОС они наиболее быстро выводятся из организма. В качестве медленновыводящегося компонента, обеспечивающего стабильность эмульсии, используют ПФОС из группы C₁₁-C₁₂, в частности, перфторированные третичные амины, такие как, перфтортрипропиламин (ПФТПА), перфторметилциклогексилпиперидин (ПФМЦП), перфтортри-бутиламин (ПФТБА) и др. Данные перфторуглероды растворяют около 40 об.% кислорода (при pO₂ = 760 мм.рт.ст.), поэтому их начали использовать в качестве главных газопереносящих компонентов при создании кровезамещающих инфузионных сред. ПФОС нерастворимы в воде и сами являются плохими растворителями для различных водорастворимых биологически активных веществ, поэтому для применения в качестве кислородпереносящих сред их диспергируют в водном растворе эмульгатора до образования тонкодисперсных эмульсий. Задача эмульгатора состоит в формировании адсорбционного слоя вокруг частиц перфторуглеродов, при этом физико-химические свойства и природа эмульгатора определяют стабильность дисперсной системы и её реактогенность. Так, ключевыми параметрами здесь являются прочность связи ПАВ с «ядром» частицы эмульсии, характер и плотность расположения молекул ПАВ на поверхности частицы, выраженность адсорбционных свойств молекул ПАВ к белкам и

другим биологически активным молекулам в кровотоке. В качестве эмульгатора для получения ПФУ-эмульсий используют ПАВ различной природы: это, главным образом, неионогенный блок-сополимер полиоксиэтилена и полиоксипропилена проксанол (близкий аналог Pluronic F 68), и природные фосфолипиды (яичного желтка, сои и др.). Для возможности внутрисосудистого использования ПФУ-эмульсии, в её состав включается водно-солевая композиция, изотоничная плазме крови.

Функциональное действие любого препарата, вводимого в организм, определяется его переносимостью организмом, что характеризует величина ЛД₅₀, и его реактогенностью, которая зависит как от природы эмульгатора, так и, в большой степени, от размера частиц. Средний диаметр частиц эмульсии не должен превышать 0,2 мкм, поскольку при его превышении ЛД₅₀ снижается более, чем в 2 раза.

В разные годы различными авторами создавались перфторуглеродные эмульсии, отличающиеся составом ПФОС, эмульгаторов и способом получения.

До настоящего времени ПФД и ПФОБ являются наиболее приемлемыми соединениями при создании эмульсий медико-биологического назначения в силу того, что они наиболее быстро выводятся из организма по сравнению с другими перфторированными соединениями.

Известны патенты [2, 3, 4], в которых предложены составы кровезаменителя, фторуглеродной основой которого являются смеси двух ПФОС (ПФД/ПФМЦП или ПФД/ПФТБА или ПФОБ/ПФМЦП); смеси трех ПФОС (ПФОБ/ПФД/ПФМЦП или ПФОБ/ПФД/ПФТБА) и даже смеси четырех ПФОС (ПФОБ/ПФД/ПФМЦП/ПФТБА), взятых в различных соотношениях. Диспергируют указанные смеси с помощью водорастворимого эмульгатора проксанола-268. Использование этого эмульгатора не позволяет хранить эмульсии названных составов при положительной температуре. Кроме того, после размораживания эмульсии данного типа имеют ограниченный срок хранения при +4 °С (не более 1 месяца). Это их главный недостаток.

Запатентованы эмульсии с использованием фторированных ПАВ (ФПАВ). Микроэмульсии ПФОС, содержащие ФПАВ [5], до настоящего времени не нашли практического применения в качестве инфузионной среды, скорее всего, в силу недостаточной стабильности в условиях *in vitro*. Известен другой состав эмульсий ПФОС, полученных с использованием смешанного ФПАВ, содержащего в молекуле фторофильную и липофильную части [6]. Эти эмульсии хотя и сохраняют средний диаметр частиц при положительных температурах хранения, но только в течение 3 месяцев.

Известен патент [7], в котором источником фосфолипидов для получения эмульсий ПФОС служит жировая эмульсия Liposyn 10%. В качестве фторуглеродной основы

эмульсий запатентованы три группы ПФОС. В первую группу входят перфторциклоалканы или перфторалкилциклоалканы (в том числе ПФД, перфторметилдекалин, перфторпергидрофенантрен и др.). Вторая группа включает в себя перфторалкил-насыщенные гетероциклические соединения. Третью группу составляют перфторированные третичные амины — ПФТПА, ПФТБА и др. Включен в число используемых ПФОС и ПФОБ. Однако с помощью названной эмульсии Liposyn 10% не удалось получить стабильную эмульсию ПФД. Максимальный срок ее хранения составил 25 дней.

В патенте [8] использованы фосфолипиды яичного желтка для получения эмульсий ПФОС. Содержание фторуглеродной фазы в этих средах варьируется в широких пределах от 10 до 50 об. %, а содержание фосфолипидов — от 0,5 до 7 вес. %. В качестве масляной фазы в патенте используется какой-либо один ПФОС, выбранный из широкого класса соединений. В частности, группа перфторгидрофенантронов с числом атомов фтора от 1 до 24, а также ПФД; перфторированные амины; ПФОБ; перфторметиладамантан и перфторпергидрофенантрен. Основное внимание в двух вышеназванных патентах уделяется методам сохранения различных органов и систем с использованием полученных эмульсий ПФОС. Перед началом физиологических экспериментов наработанные эмульсии смешивают с кристаллоидными растворами и/или с онкотическими агентами (альбумин, гидроксиэтилкрахмал). Предложенные эмульсии хотя и относятся к эмульсиям второго поколения, но имеют существенный недостаток. В обоих патентах отсутствуют результаты наблюдений за стабильностью предложенных эмульсий, т.е. сохранении размера частиц при длительных сроках хранения (более месяца).

В патенте [9] состав ПФОС содержит быстро выводящееся перфторированное соединение (ПФД или ПФОБ, основной компонент), в количестве от 40 до 50 об.%, перфторированную добавку более высококипящего соединения (ПФМЦП) в количестве от 5 до 10 об.%, эмульгатором служат фосфолипиды яичного желтка или сои. Главным недостатком эмульсии является относительно большой средний диаметр частиц – больше 0,2 мкм. В патенте [10] при несколько другом соотношении тех же компонентов ПФОС в состав внесены специальные стабилизирующие добавки для снижения среднего диаметра частиц эмульсии, увеличения дисперсности и стабильности при длительном хранении – жирные кислоты с C_{10} по C_{22} и/или их соли или триглицериды. В составе, заявленном в [11], в качестве быстровыводящегося компонента использована смесь ПФД и ПФОБ в соотношении от 10:1 до 1:10, перфторорганическая добавка представлена в виде смеси перфтортрипропиламина, ПФМЦП и их копродуктов. Эмульсия стабилизирована дисперсией в водно-солевой среде фосфолипидов яичного желтка и/или сои с добавлением растительного масла в качестве адьюванта, что способствует

формированию более плотного мембраноподобного адсорбционного слоя вокруг частиц при меньшем количестве фосфолипидов и предотвращает образование мицеллярных, не содержащих ПФОС структур. ПФМЦП является стабилизатором эмульсии, снижающим скорость процесса молекулярной диффузии основного компонента и используется также при получении эмульсий другого состава, в частности, препарата Перфторан [12]. В данной эмульсии роль основного компонента играет ПФД, а для эмульгирования в водно-солевой фазе используется проксанол-268 [13].

Известна бинарная эмульсия ПФОС, наиболее близкая по соотношению компонентов к Перфторану [14]. Эта эмульсия содержит перфторуглерод в форме цис- и трансизомеров ПФД и перфторированный третичный амин ПФМЦП в более низких концентрациях обоих компонентов: 7 об.% и 3,5 об.% соответственно, и стабилизируется сополимером полиоксиэтилена-полиоксипропилена (проксанол) с молекулярной массой 6-8 кДа при среднем размере частиц эмульсии 0,08-0,1 мкм. Этот состав при сравнительно малой величине абсолютной кислородной емкости (7 об. % кислорода при р02 760 мм. рт ст.) обеспечивает благодаря малой вязкости (3,5 сП) более высокую динамическую кислородную емкость, чем другие известные эмульсии ПФОС, то есть, лучшую доставку кислорода к тканям. Благодаря высокой доле медленно выводящегося ПФМЦП (соотношение ПФМЦП/ПФД = 1:2) в составе ПФОС и высокой степени монодисперсности частиц при малом их размере эта эмульсия не токсична для крупных животных. Однако, этой эмульсии свойственен также ряд недостатков: относительно высокая реактогенность из-за образования перекисных соединений в стабилизирующем агенте в процессе изготовления и при хранении эмульсии, недостаточная стабильность при повторном замораживании-оттаивании, при попадании в кровоток и при контакте с высокомолекулярными декстранами, так как в ее составе используются два ПФОС, резко отличающиеся по физико-химическим свойствам, а также высокая стоимость препарата из-за использования высокоочищенных ПФД и ПФМЦП.

В результате исследований было выявлено, что токсичность ПФОС обусловлена не их видом, а наличием недофторированных примесей [15], которые практически не проявляют каких-либо токсических свойств ни сами по себе (при испытаниях на изолированных культивируемых лимфоидных клетках), ни в составе эмульсии (при испытании на мелких грызунах и кроликах) также, как и индивидуальные высокоочищенные ПФД и ПФМЦП, не содержащие примесей других ПФОС. Если примеси отсутствуют, то следующими факторами, ответственными за токсичность являются концентрация ионов фтора в водной фазе, детергентные свойства стабилизирующего агента, появление в эмульсии перекисей и наличие крупных или легко слипающихся частиц. Причиной гибели крупных животных, например, кроликов, может

быть, как следует из данных, приведенных в описании изобретения по патенту [9], использование в составе эмульсии исключительно быстро выводящихся высоколипофильных перфторорганических соединений, тогда как введение липофобного, то есть медленно выводящегося компонента, ПФМЦП, приводит к уменьшению токсичности, в результате чего выживаемость кроликов достигает 100% в течение 60 дней после однократного введения 20 мл эмульсии ПФОС на кг массы тела. Примесные ПФОС, присутствующие в рецептуре эмульсии, должны иметь структуру, близкую к структуре основных ПФОС, и создавать ряд ПФОС с градуально меняющимися липофильно-липофобными свойствами, что будет способствовать формированию более гомогенной некластеризованной фторуглеродной фазы внутри частиц эмульсии, повышать стабильность частиц эмульсии, уменьшать явления внутримолекулярной перегонки, ответственной за укрупнение частиц, тормозить агрегацию частиц как при попадании в кровотоки, так и при повторном замораживании и контакте с высокомолекулярными онкотическими агентами декстрановой природы. Наличие во фторуглеродной фазе эмульсии набора ПФОС с выраженными липофобными свойствами, в частности, перфтортретичных аминов, вытесняемых на поверхность фторуглеродной фазы, способствует лучшему взаимодействию со стабилизирующим агентом - блок-сополимером полиоксиэтилен-полиоксипропилена и удержанию его в адсорбционном слое. В результате поверхность частиц эмульсии становится менее рыхлой, приобретает улучшенные реологические характеристики: пониженную вязкость и, как следствие, более высокую динамическую кислородную емкость при той же величине абсолютной кислородной емкости, а также повышенную стабильность как *in vitro*, так и в кровотоке, проявляющуюся в увеличении времени циркуляции эмульсии. Вышеназванные свойства примесных ПФОС были учтены при создании составов композиций ПФОС в [11, 12].

Известны различные способы получения эмульсий ПФОС. Одна из технологий основана на методе измельчения масляной фазы с помощью воздействия ультразвука. Однако, энергия и мощность ультразвукового воздействия столь велики, что наряду с диспергированием приводят к разрыву связи С-Ф. В результате в водной фазе эмульсии появляются высокотоксичные концентрации ионов F⁻ и от их избыточного содержания эмульсию необходимо очищать посредством пропускания через ионообменную смолу. Кроме того, такая эмульсия имеет чрезвычайно широкую величину дисперсии.

Механическое диспергирование путем встряхивания или перемешивания позволяют получать только грубодисперсные эмульсии ПФОС с неприемлемым для медицинского использования размером – более мм.

Для получения тонкодисперсных эмульсий используют метод выдавливания вещества дисперсной фазы через тонкие отверстия в дисперсионную среду под большим давлением (метод экструзии), что приводит к разрыву движущейся струи жидкости на капли. Диспергирование вызывается градиентом давления и силами гидравлического трения. Обычно производство эмульсий ПФОС осуществляют на гомогенизаторах высокого давления, что позволяет получить достаточно тонкую калиброванную эмульсию.

Гомогенизация достигается пропусканием смеси эмульгатора и перфторуглерода через малые отверстия с сечением $10^{-2} - 10^{-4}$ см² под давлением от 100 до 1000 атм. Для получения эмульсий ранее использовался одноконтурный способ: перфторуглерод из отдельной емкости капельно подавался в емкость с эмульгатором (проксанолом), затем вся смесь подавалась в дезинтегратор и из него обратно в емкость с ПФОС и эмульгатором. Этот цикл повторялся многократно (от 5 до 15 циклов). Однако, данный способ не полностью удовлетворяет требованиям к размеру частиц, так как в составе остаются частицы с размером 0,4 – 0,45 мкм, что увеличивает токсичность конечной эмульсии. Был предложен новый двухконтурный способ получения эмульсии: из емкости ПФОС капельно подается в емкость с проксанолом, полученная смесь подается в дезинтегратор, а из него уже в новую емкость, из которой снова в дезинтегратор, а оттуда обратно в последнюю емкость. Этот цикл также повторяется многократно. Весь процесс изготовления субмикронных эмульсий двухконтурным способом заключается в чередовании прохождения предэмульсии через контуры емкостей, что позволяет избавиться от «застойных зон», так как эмульсия, находящаяся в основной рабочей емкости, при смене контура полностью и равномерно перекачивается в другую рабочую емкость, что позволяет создать более однородный по размеру частиц состав, чем при одноконтурном способе [16].

Известен способ получения эмульсий ПФОС для медицинских целей, в котором для уменьшения реактогенности предлагается уменьшить средний размер и повысить монодисперсность частиц эмульсии [14]. Эти свойства достигаются за счет капельного введения смеси двух видов жидких ПФОС в водный раствор стабилизирующего агента, что предотвращает появление макроскопической границы раздела фаз, увеличивает время и поверхности контакта ПФОС и стабилизирующего агента на стадии получения предэмульсии. Субмикронная эмульсия получается в двухконтурной системе гомогенизации в процессе 12-кратной рециркуляции в контурах гомогенизатора при попеременном давлении. Согласно описанию изобретения первый и второй контуры гомогенизатора используются попеременно, что замедляет процесс гомогенизации, так

как возврат из второго контура в первый приводит к попаданию в уже измельченную тонкодисперсную эмульсию крупных частиц предэмульсии и даже капель ПФОС, неизбежно образующихся и задерживающихся на стенках камеры и трубок в первом контуре. Кроме того, этот способ не предотвращает образование перекисных соединений.

В патенте [2] предлагается способ получения эмульсии путем струйного пропускания многокомпонентной смеси ПФОС и раствора проксанола через гомогенизатор под давлением 700 – 1000 атм и охлаждении при температуре +24+34⁰С с дальнейшей циклической гомогенизацией под постоянным давлением 400-490 атм и при постоянном охлаждении. В предлагаемом способе получения эмульсии за счет струйного пропускания смеси ПФОС вдвое сокращается время первого цикла гомогенизации, а регуляция и отслеживание режима давления в гомогенизаторе предотвращают процесс вторичного укрупнения частиц и обеспечивают мягкую «доводку» эмульсии до заданного размера частиц 0,03 – 0,05 мкм.

Известен способ получения перфторуглеродной эмульсии, стабилизированной фосфолипидами, по [11], включающий гомогенизацию под высоким давлением, заключающийся в том, что процесс проводят в несколько этапов: получение дисперсии фосфолипидов в водно-солевой среде, гомогенизирование ПФОС в дисперсии фосфолипидов и тепловая стерилизация готовой эмульсии. Смесь фосфолипидов, растительного масла и водно-солевого раствора гомогенизируется под давлением не менее 100 атм с последующей тепловой стерилизацией при 100⁰С; приготовленная смесь ПФОС гомогенизируется в дисперсии фосфолипидов под давлением от 300 до 650 атм, также с последующей тепловой стерилизацией при 100⁰С. Предложенный способ позволяет получить тонкодисперсную, калиброванную эмульсию со средним размером частиц в диапазоне от 0,06 до 0,195 мкм, и, что весьма немаловажно, стабильную при хранении по крайней мере 6 месяцев в незамороженном состоянии с сохранением высокой биосовместимости и низкой реактогенности.

Для снижения реактогенности эмульсий, связанной с образованием перекисных радикалов в стабилизирующем агенте, предложен способ получения эмульсии по [12]. Согласно изобретению перед смешиванием компонентов смесь жидких ПФОС и водный раствор стабилизирующего агента насыщают углекислым газом, после чего прогревают водный раствор стабилизирующего агента при температуре не выше 75⁰С. Затем смесь жидких ПФОС вводят несколькими струями в охлажденный водный раствор стабилизирующего агента при интенсивном перемешивании и поддуве углекислого газа, одновременно пропуская получаемую крупнодисперсную предэмульсию несколько раз через первый контур гомогенизатора, после чего измельченную предэмульсию

подвергают гомогенизации во втором контуре гомогенизатора до получения требуемой дисперсности при поддуве углекислого газа, и добавляют водно-солевой состав.

Насыщение смешиваемых компонентов углекислым газом позволяет создать условия, при которых в процессе изготовления эмульсии минимизируется образование перекисных соединений, наличие которых, как и наличие крупных частиц, обуславливает появление реактогенности эмульсий. Прогрев водного раствора стабилизирующего агента (проксанола) позволяет депирогенизировать раствор без пропускания через сорбенты, ухудшающие качество стабилизирующего агента и изменяющие его молекулярно-массовое распределение, а также поверхностно-активные свойства. Отклонения от указанных значений температуры ухудшают поверхностно-активные свойства стабилизирующего агента или повышают содержание гидроперекисей в нем. Струйное введение жидких ПФОС в водный раствор стабилизирующего агента при интенсивном перемешивании и одновременном пропускании получаемой смеси через гомогенизатор высокого давления способствует ускорению процесса получения предэмульсии. Регулирование скорости подачи ПФОС, перемешивания и протока смеси через гомогенизатор осуществляется так, чтобы предотвратить образование макроскопической границы раздела фаз ПФОС/вода, что является необходимым условием для получения монодисперсной эмульсии. Кроме того, предложенный способ получения эмульсии позволяет говорить о стабильности эмульсии не только при хранении, но и при введении ее в кровоток [13, 17].

В настоящее время опытным путем получена эмульсия, являющаяся, на наш взгляд, оптимальной по физико-химическим и медико-биологическим свойствам и близкая по составу к реализованной в [12]. В качестве быстрыводящегося компонента предлагается использовать смесь копродуктов ПФД, а в качестве медленновыводящейся перфторорганической добавки – смесь копродуктов ПФМЦП, ПФТПА и перфтордецилового эфира, очищенных от водородсодержащих и непредельных примесей, в соотношении от 5:1 до 1:5. Критическая температура растворения в гексане выбранных смесей ПФОС занимает сплошной без разрывов диапазон, без дополнительного выделения отдельных компонентов и изомеров и при полном удалении примесей всех недофторированных соединений, что способствует формированию более гомогенной некластеризованной фторуглеродной фазы внутри частиц эмульсии, повышает стабильность частиц эмульсии и уменьшает явления внутримолекулярной перегонки, ответственной за укрупнение частиц. В качестве стабилизирующего агента в данной эмульсии используется смесь отобранных методом аффинной сепарации сополимеров полиоксиэтилена-полиоксипропилена с молекулярной массой от 5 до 13 кДа (проксанола 168 и проксанола 268, взятых в соотношении от 10:1 до 1:10) в водно-солевом растворе.

Известно, что при соединении водного раствора проксанола со смесью ПФОС, часть молекул ПАВ образует адсорбционный слой на частицах ПФОС, а часть молекул остается в эмульсии в свободной, мицеллярной форме [18]. Молекулы ПАВ, связавшиеся с перфторуглеродными частицами, обладают большей гидрофобностью, по сравнению со свободными молекулами. Поскольку именно гидрофобность молекул ПАВ определяет их токсичность в отношении биологических систем [19], снижение количества свободных высокогидрофобных форм ПАВ в растворе обусловит меньшую реактогенность конечной эмульсии. Для достижения этой цели предлагается включить в процесс приготовления эмульсии процедуру «очистки», отбора молекул ПАВ по степени гидрофобности, степени их сродства к ПФОС - метод аффинной сепарации.

При получении эмульсии все компоненты обрабатывают в атмосфере, лишенной кислорода. Приготовленный раствор ПАВ очищается путем пропускания через угольный сорбент, последующей фильтрации через стерилизующий фильтр под давлением газа, не содержащего кислород, прогреванием в течение 8-24 часов и охлаждением до температуры 16-20°C для полного восстановления прозрачности раствора. Смесью ПФОС заливается в емкость, содержащую раствор ПАВ, в соотношении 10-25 объемных частей ПФОС к 90-75 объемам раствора ПАВ. Полученная неоднородная смесь подвергается процедуре аффинной сепарации, которая проводится в несколько последовательных этапов: получение грубой дисперсии ПФОС в растворе ПАВ путем перемешивания на высокоскоростной мешалке при скорости вращения ротора не менее 3 тысяч об./мин. с погружением вращающейся лопасти или турбины мешалки в плотную фазу ПФОС; последующая экстракция полученной грубой дисперсии на гомогенизаторе под давлением 100-300 кг/см² при поддуве в гомогенизатор газа, не содержащего кислорода; отделение грубой эмульсии ПФОС от водного раствора ПАВ на делительной воронке и/или центрифугированием; полученный осадок грубой эмульсии смешивается со свежей порцией раствора ПАВ из такого расчета, чтобы объемная доля ПФОС составляла 10-25 %. Процедура получения тонкодисперсной эмульсии включает от 2 до 4 сеансов аффинной сепарации, после чего эмульсию пропускают многократно через гомогенизатор при давлении 300-700 кг/см² и добавляют водно-солевой раствор так, чтобы конечная концентрация ПФОС составляла 4 -12 объемных %.

Предложенный способ получения эмульсии позволяет за счет обновления раствора ПАВ отобрать из смеси ПАВ, имеющих широкое молекулярно-массовое распределение и вариации в соотношении полиоксиэтиленового и полиоксипропиленового блоков, а также различную степень гидрофобности, молекулы ПАВ, которые имеют наибольшее сродство к используемой композиции ПФОС, независимо от вариаций состава смеси ПФОС и ПАВ. Отбор молекул ПАВ по сродству к ПФОС значительно повышает стабильность,

химическую однородность и калиброванность получаемых эмульсий ПФОС, а также уменьшает вероятность появления перекисей ПАВ и тем самым повышает безопасность эмульсий. Полученная предложенным способом эмульсия ПФОС является более стабильной при хранении и при попадании в кровоток, а также имеет вязкость, близкую к вязкости крови, что обеспечивает поддержание сдвиговых напряжений в пристеночном кровотоке и способствует поддержанию нормального тонуса кровеносных сосудов, что необходимо для улучшения массообмена между внутрисосудистой жидкостью и тканями как по кислороду и углекислому газу, так и по субстратам и метаболитам.

Список литературы

1. Иваницкий Г.Р. Биофизические основы создания перфторуглеродных сред и газотранспортных кровезаменителей (обзор): Перфторорганические соединения в биологии и медицине. Сборник научных трудов. Пушино, 2001, С.4-48.
2. Патент РФ 2122404, 1997 г.
3. Патент РФ 2162692, 1999 г.
4. Патент РФ 2199311, 2001 г.
5. Патент US № 3,778,381, 1973 г.
6. Патент US № 6Д 13,919, 2000 г.
7. Патент US 4,866,096, А61К 31/025, 1989 г.
8. Патент US № 5,374,624, А 61К 31/025, 1994 г.
9. Патент РФ 2088217, 1997 г.
10. Патент РФ 2240108, 2003 г.
11. Заявка на изобретение RU 2004106722, 2005 г.
12. Патент РФ 2206319, 2000 г.
13. Капцов В.В., Шипунова Н.А. Исследование стабильности перфторуглеродных эмульсий на основе ПФД и ПМЦП: Физиологическая активность фторсодержащих соединений (эксперимент и клиника). Сборник научных трудов. Пушино, 1995, С.54-65.
14. Патент РФ 2070033, 1997 г.
15. Архипов В.В., Симоненко В.С. Клеточный тест на токсичность эмульсий ПФОС и их компонентов: корреляция между химическим и биологическим тестированием: Фторуглеродные газопереносящие среды. Сборник научных трудов. Пушино, 1984, С.51-61.

16. Воробьев С.И., Старовойтова Л.Н. и др. К вопросу технологии получения субмикронных эмульсий: Физико-химические и клинические исследования перфторорганических соединений. Сборник научных трудов. Пущино, 1994, С.24-33.
17. Терешина Е.В. Адсорбционные свойства эмульсий перфтор-органических соединений и их использование для снижения инфекционности некоторых вирусов: Вестник службы крови России № 1, М., 2002, С. 24-27.
18. Образцов В.В., Пономарчук В.В. О состоянии проксанола во фторуглеродной эмульсии. // Биофизика, 1986, С.23 – 27.
19. Илларионов Э.Ф., Маевский Е.И. и др. Физико-химическая и биологическая оценка свойств проксанолов – стабилизаторов эмульсии перфторорганических соединений. // Фторуглеродные газопереносящие среды. Сборник научных трудов. Пущино, 1984, С.73-78.