

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **023884**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2016.07.29

(21) Номер заявки
200702496

(22) Дата подачи заявки
2006.05.19

(51) Int. Cl. *A61K 8/73* (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
A61K 31/731 (2006.01)
A61K 31/715 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)
A61K 47/42 (2006.01)

(54) СОДЕРЖАЩАЯ ЖЕЛАТИН КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ И СПОСОБЫ ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

(31) 0510286.8; 0607174.0

(32) 2005.05.19; 2006.04.10

(33) GB

(43) 2008.08.29

(86) PCT/GB2006/001874

(87) WO 2006/123173 2006.11.23

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**АКВА БИО ТЕКНОЛОДЖИ АСА
(NO)**

(72) Изобретатель:
**Драгет Курт Ингар, Хёуг Ингвильд
Йоханне, Смидсрод Олав Аасмунд
(NO)**

(74) Представитель:
Поликарпов А.В., Борисова Е.Н. (RU)

(56) I.J. HAUG ET AL.: "Physical behaviour of fish gelatin-carrageenan mixtures" CARBOHYDRATE POLYMERS, vol. 56, 2004, pages 11-19, XP004504327 the whole document

DE-A1-3333444

WO-A-9933924

WO-A-2005120464

EP-A-1518552

EP-A-0347751

WO-A-0010525

US-A-5051304

DATABASE WPI Week 1989 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1989-112197 XP002393337 "Imparting resistance to gelatin-by adding gellan gum and opt. other starch to gelatin" & JP 01 060335 A (SAN-EI CHEM IND LTD) 7 March 1989 (1989-03-07) abstract

DATABASE WPI Week 2003 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 2003-351568 XP002393338 "Production method of gel phase milk or soy milk" & KR 2003 1004260 A (BANG K R) 14 January 2003 (2003-01-14) abstract

(57) Согласно данному изобретению предложена фармацевтическая или косметическая композиция, содержащая фармацевтически или косметически активный агент и желирующий агент, отличающаяся тем, что указанный желирующий агент содержит рыбий желатин и полисахарид, и где указанная композиция содержит непрерывную водную фазу, имеющую температуру плавления в интервале от 20 до 42°C. Также предложены способы лечения и изготовления указанной композиции и применение рыбьего желатина и полисахарида в изготовлении композиции по изобретению.

B1

023884

023884

B1

Это изобретение относится к местным композициям, содержащим желатин, например к фармацевтическим или косметическим композициям для нанесения на кожу, и к их получению и применению.

Когда фармацевтическую или косметическую композицию готовят для наружного местного применения, она обычно также будет содержать, помимо "активного" компонента, компоненты, которые будут обеспечивать наличие у данной композиции подходящих свойств для хранения, нанесения и удерживания на поверхности кожи. В этом отношении многие такие композиции в настоящее время содержат желатин млекопитающих, например, в качестве желирующего агента.

Желатин представляет собой производное коллагена, который является самым распространенным белком у животных. Коллаген является главным компонентом соединительной ткани, где он присутствует в виде водонерастворимых волокон коллагена. Его обычная аминокислотная последовательность представляет собой Gly-X-Y, где X часто представляет собой пролин, и Y часто представляет собой гидроксипролин. Содержание иминокислот пролина и гидроксипролина будет различаться от вида к виду, и коллаген от теплокровных животных (таких как млекопитающие) имеет более высокое содержание этих иминокислот по сравнению с коллагеном от пойкилотермных животных (таких как рыбы).

Желатин чаще всего производится из коллагена из костей и кожи крупного рогатого скота или свиней методами кислотной или щелочной экстракции. Они дают, соответственно, желатин типа А и типа Б, которые имеют разные изоэлектрические точки. Молекула коллагена представляет собой правовинтовую тройную спираль, составленную из трех альфа-цепей. Данные тройные спирали, представляющие собой упорядоченную конформацию коллагена, стабилизированы пролиновыми и гидроксипролиновыми структурными единицами в альфа-цепях. Термин "коллаген" относится к немодифицированным молекулам, обнаруженным в тройных спиральных. Желатин представляет собой экстрагированный коллаген, у которого потеряны терминальные концы молекул коллагена. Считается, что желирование желатина является результатом регенерации областей структуры тройной спирали (упорядоченная конформация), связанных неупорядоченными аминокислотными сегментами (случайный клубок). Эти гели являются термообратимыми, и содержание пролина и гидроксипролина влияет как на температуру желирования, так и на температуру плавления. Желатины от млекопитающих, содержащие приблизительно 24% этих иминокислот, имеют температуры желирования и плавления около 20-25°C и 35-40°C, соответственно. Виды холодноводных рыб содержат только 16-18%, и рыбий желатин обычно желируется при температуре ниже 8°C и плавится при 12-14°C. Следовательно, гели на основе немодифицированного рыбьего желатина являются механически стабильными только при температурах, соответствующих температурам, создаваемым в холодильниках (0-5°C).

Желатины в течение десятилетий использовали в фармакологии, в пище и в косметике, а также в фотографии, в клеях и в композитных материалах. На протяжении последних десятилетий наблюдался активный поиск альтернатив желатину млекопитающих, особенно из-за вспышки губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (BSE, bovine spongiform encephalopathy), смертельного неврологического расстройства взрослых особей крупного рогатого скота, которое также может инфицировать людей в форме нового варианта болезни Крейтцфельда-Якоба (nvCJD, new variant Creutzfeldt-Jacob disease). Кроме того, использование желатина млекопитающих ограничено религиозными соображениями: ни мусульмане (Halal/Haram), ни иудеи (Kosher), ни индуисты не принимают желатин, происходящий от млекопитающих.

Авторы данного изобретения обнаружили, что желирующие свойства рыбьих желатинов, которые не вызывают опасений на религиозной почве относительно их применения и которые не связаны с риском nvCJD, могут быть модифицированы для получения композиций, подходящих для наружного местного нанесения, например на кожу, посредством их приготовления совместно с полисахаридными желирующими агентами. Так например, такое совместное приготовление может давать композиции, которые имеют желирующие характеристики, эквивалентные или превосходящие характеристики композиций, в которых используется желатин млекопитающих.

Таким образом, согласно одному аспекту данного изобретения предложена местная фармацевтическая или косметическая композиция, содержащая фармацевтически или косметически активный агент и желирующий агент, отличающаяся тем, что указанный желирующий агент содержит рыбий желатин и полисахарид, и где указанная композиция содержит непрерывную водную фазу, имеющую температуру плавления в интервале от 20 до 42°C.

В частности, предложена композиция, содержащая непрерывную водную фазу, имеющую температуру желирования в интервале от 10 до 30°C, предпочтительно в интервале от 15 до 28°C.

В частности, предложена композиция, где температура плавления находится в интервале от 24 до 40°C, предпочтительно в интервале от 28 до 37°C.

В одном воплощении предложенной композиции содержание иминокислот в рыбьем желатине составляет от 5 до 25 мас. %.

В другом воплощении композиции рыбий желатин имеет среднюю молекулярную массу в интервале от 10 до 250 кДа.

В еще одном воплощении композиции рыбий желатин присутствует в данной композиции в концентрации от 2 до 15 мас. %.

В другом воплощении предложена композиция, содержащая заряженный полисахарид.

В частности, предложена композиция, где заряженный полисахарид представляет собой каррагинан.

Более конкретно, предложена композиция, где каррагинан представляет собой каппа-каррагинан.

В одном воплощении композиции полисахарид имеет среднюю молекулярную массу от 10 кДа до 1 МДа.

В другом воплощении композиции полисахарид присутствует в концентрации от 0,1 до 1,5 мас. %.

В еще одном воплощении композиции массовое соотношение рыбьего желатина к полисахариду составляет от 50:1 до 5:1.

Кроме того, в частном случае предложенной композиции рН данной композиции находится в интервале от 5 до 7,5.

В дополнительном воплощении предложена композиция, содержащая фармацевтически активный агент, выбранный из группы, состоящей из антибиотиков, противовоспалительных агентов, противозудных агентов, стероидов, NSAIDs (нестероидные противовоспалительные лекарственные средства), противогрибковых агентов и соединений против акне.

В другом воплощении предложена композиция, содержащая в качестве косметически активного агента агент, гидратирующий кожу.

Согласно еще одному аспекту данного изобретения предложен способ лечения субъекта, являющегося человеком, включающий нанесение на кожу указанного субъекта эффективного количества фармацевтической композиции согласно данному изобретению.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ косметического лечения субъекта, являющегося человеком, включающий нанесение на его кожу косметической композиции, отличающийся тем, что указанная композиция представляет собой композицию согласно данному изобретению.

В одном воплощении предложенного выше способа косметического лечения указанное лечение заключается в повышении упругости кожи человека.

Согласно еще одному аспекту данного изобретения предложено применение рыбьего желатина и полисахарида для изготовления композиции по изобретению.

В одном воплощении применение относится к изготовлению композиции, предназначенной для повышения упругости кожи человека.

Согласно еще одному аспекту данного изобретения предложен способ изготовления композиции по изобретению, включающий смешивание рыбьего желатина, полисахаридного желирующего агента, фармацевтически или косметически активного вещества и, возможно и предпочтительно, воды, возможно включающий эмульгирование данной смеси.

Композиции по изобретению типично могут находиться в форме гелей, эмульсий, кремов, лосьонов, растворов, дисперсий или тому подобное и типично будут содержать дополнительные традиционные ингредиенты, такие как растворители, красители, ароматизаторы, стабилизаторы, рН модификаторы, модификаторы вязкости, усилители проникновения через кожу (например DMSO (диметилсульфоксид)), антиоксиданты, наполнители и прочее. Они могут содержать дополнительные компоненты, такие как инкапсулирующие элементы, подложки и тому подобное, например когда они подлежат использованию в виде пластырей, например для трансдермального введения, например путем ионтофореза.

Данные композиции предпочтительно содержат непрерывную водную фазу, имеющую температуру желирования в интервале от 10 до 30°C, более предпочтительно от 15 до 28°C, и температуру плавления в интервале от 20 до 42°C, более предпочтительно от 24 до 40°C, конкретно от 28 до 37°C.

В случае фармацевтических композиций по изобретению фармацевтически активный агент может быть любым лекарственным веществом, способным оказывать желательный терапевтический или профилактический эффект в месте нанесения или после поглощения через кожу, например антибиотическое, противовоспалительное или противозудное действие. В композициях по данному изобретению можно использовать многие, если не большинство лекарственных веществ, наносимых местно в традиционных местных композициях, например стероиды, NSAIDs (нестероидные противовоспалительные лекарственные средства, например ибупрофен), противогрибковые препараты (например кетоконазол), литиевые соединения (например для лечения себорейной экземы или контагиозного моллюска), соединения против акне (например азелаиновая кислота), агенты против перхоти (такие как цинка пиритион) и прочее. В случае косметических композиций по данному изобретению косметически активным агентом может быть любое вещество, способное оказывать желательный косметический эффект в месте нанесения или после поглощения в кожу, например, витамины, растительные масла, поглотители УФ, агенты, гидратирующие кожу, очищающие средства, красители, ароматизаторы и прочее. В очередной раз в композициях по данному изобретению можно использовать многие, если не большинство косметических агентов, используемых местно в традиционных местных композициях. Такие активные агенты можно использовать в концентрациях, аналогичных или сравнимых с концентрациями, используемыми в настоящее время.

Термин "полисахарид" в том виде, как он здесь используется, относится к сахаридным полимерам с

углеводным каркасом, которые способны претерпевать превращение золь/гель.

Полисахаридные желирующие агенты в композициях согласно данному изобретению могут происходить из целого ряда источников, например, из наземных или морских животных, растений, водорослей и прочее, и они могут представлять собой синтетические полисахариды или полисахариды природного происхождения либо производные полисахаридов природного происхождения. Примеры подходящих морских полисахаридов включают каррагинаны, альгинаты, агары и хитозаны. Примеры подходящих полисахаридов растительного происхождения включают пектины. Примеры подходящих полисахаридов микробного происхождения включают гелланы и склероглюканы. Предпочтительным является применение заряженных, например электростатически заряженных и/или сульфатированных полисахаридов, как и применение морских полисахаридов, конкретно каррагинанов и альгинатов, особенно каррагинанов. Данное изобретение дополнительно проиллюстрировано ниже с конкретной ссылкой на каррагинаны.

Семейство каррагинанов, которое включает йота- и каппа-каррагинаны, представляет собой семейство линейных сульфатированных полисахаридов, получаемых из красных водорослей. Повторяющейся дисахаридной единицей в каппа-каррагинане является β -D-галактоза-4-сульфат и 3,6-ангидро- α -D-галактоза, тогда как повторяющейся дисахаридной единицей в йота-каррагинане является β -D-галактоза-4-сульфат и 3,6-ангидро- α -D-галактозо-2-сульфат. Каппа- и йота-каррагинаны используются в пищевых препаратах. Данные каррагинаны используются как стабилизаторы, эмульгаторы, желирующие агенты и заменители жиров.

Оба этих каррагинана образуют в водной среде соле- и холодоотверждаемые обратимые гели. Переход клубок-спираль и агрегация спиралей образуют гелевый каркас. Каппа-каррагинан имеет сайты связывания для конкретных одновалентных катионов, что приводит к образованию геля с уменьшающимися модулями сдвига и упругости в порядке $\text{Cs}^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$. Как правило, возрастающая концентрация соли увеличивает модуль упругости и температуры застывания и плавления каппа-каррагинанового геля. Когда используется каппа-каррагинан согласно данному изобретению, предпочтительным является использование водорастворимых калиевых, рубидиевых или цезиевых соединений, в частности калиевых соединений, и особенно соединений природного происхождения (например солей), например в концентрациях вплоть до 100 мМ, более конкретно вплоть до 50 мМ. Для йота-каррагинана также обнаружен солеваязависимый конформационный переход. Также известно, что данные молекулы претерпевают переход клубок-спираль с сильной стабилизацией спирали в присутствии многовалентных катионов, подобных Ca^{2+} . Когда используется йота-каррагинан согласно данному изобретению, предпочтительным является использование водорастворимых кальциевых, стронциевых, бариевых соединений, соединений железа или алюминия, особенно кальциевых соединений, и в частности соединений природного происхождения (например солей), например в концентрациях вплоть до 100 мМ.

Полисахариды, используемые согласно данному изобретению, типично будут иметь средние молекулярные массы от 5 кДа до 4 МДа, предпочтительно от 10 кДа до 1 МДа, наиболее предпочтительно от 100 до 900 кДа, особенно от 400 до 800 кДа. Данные полисахариды типично будут использоваться в концентрациях от 0,01 до 5 мас.%, предпочтительно от 0,1 до 1,5 мас.%, конкретно от 0,2 до 1 мас.%. Когда в данные композиции включены одно- или многовалентные катионы, типично ионы металлов 1-ой группы или 2-ой группы, они типично будут находиться в концентрациях в интервале от 2,5 до 100 мМ, конкретно от 5 до 50 мМ.

Рыбьи желатины, используемые в композиции по данному изобретению, можно получать из коллагена любого водного вида, однако предпочтительным является применение желатина из морской рыбы и конкретно из холодноводной рыбы. Предпочтительными являются рыбы желатины, имеющие содержание аминокислот от 5 до 25 мас.%, особенно желатины, имеющие содержание аминокислот от 10 до 20 мас.%. Рыбий желатин типично будет иметь среднюю молекулярную массу в интервале от 10 до 250 кДа, предпочтительно от 75 до 175 кДа, особенно от 80 до 150 кДа. Рыбий желатин типично будет присутствовать в композициях в концентрации от 1 до 50 мас.%, предпочтительно от 2 до 15 мас.%, особенно от 3 до 7 мас.%. Когда желательным является эффект против старения, используемый рыбий желатин возможно может включать низкомолекулярный компонент, например имеющий среднюю молекулярную массу менее 10 кДа. Массовое отношение рыбьего желатина к полисахариду в композициях по данному изобретению типично будет составлять от 50:1 до 5:1, предпочтительно от 40:1 до 9:1, особенно от 20:1 до 10:1.

pH композиций по данному изобретению предпочтительно находится в интервале от 3 до 9, более предпочтительно от 5 до 7,5.

Комбинация рыбьего желатина и полисахаридов является синергичной, что приводит к получению композиций, которые образуют стабильные гели при температурах окружающей среды (при концентрациях, в которых эти компоненты, используемые индивидуально, не образуют стабильных гелей), которые имеют свойства, релевантные для местного нанесения, которые являются недоступными при использовании этих компонентов индивидуально или при использовании традиционных желатинов млекопитающих.

Как упомянуто выше, рыбий желатин из холодноводных видов имеет значительно более низкие

температуры застывания (менее 8°C) и плавления (ниже 14-15°C), чем желатины млекопитающих. При комнатной температуре (20-22°C) молекулы рыбьего желатина имеют конформацию случайного клубка (в отличие от молекул желатина млекопитающих, которые находятся в упорядоченной конформации). Таким образом, рыбий желатин сам по себе не способен давать композицию в виде геля, которая обладает механической стабильностью при температурах окружающей среды. Тем не менее, присутствие молекул рыбьего желатина в конформации случайного клубка означает, что они демонстрируют улучшенные водосвязывающие свойства по сравнению с молекулами в упорядоченной конформации. Это является главным преимуществом для местных продуктов, так как конформация случайного клубка означает, что рыбий желатин можно оптимально использовать в качестве средства для сохранения влаги в коже. Высокмолекулярный рыбий желатин с конформацией случайного клубка также будет более эффективным в удержании и поглощении воды, когда он присутствует на поверхности кожи в виде биополимерной пленки.

При смешивании рыбьего желатина с полисахаридами можно создать желеобразующие системы, в которых рыбий желатин все еще присутствует в виде молекул в форме случайного клубка, но где данная система как целое способствует механическим свойствам продукта для кожи, все еще удерживая воду внутри гидрогеля. Плавление таких систем можно подгонять к конкретным температурам, контролируя соотношение в смеси рыбьего желатина к полисахариду. Это обеспечивает возможность контролируемого расплавления объединенного геля желатин/полисахарид и способность образовать продукты для кожи с высоким содержанием воды без дополнительного добавления искусственных поверхностно-активных веществ или жиров/липидов.

Комбинация полисахарида и рыбьего желатина, таким образом, образует превосходную сохраняющую влагу пленку на поверхности кожи, которая поддерживает гидратацию кожи. Некоторые из молекул желатина в конформации случайного клубка также могут проникать через кожу и замещать в дерме некоторое количество деградировавшего коллагена типа I. Когда доходит до проникновения молекул, очень важно, чтобы молекулы присутствовали в виде гибких случайных клубков, а не жестких и вытянутых упорядоченных молекул, подобных коллагену и желатину в упорядоченной конформации. Желатины или коллагены млекопитающих никогда не будут плавиться на поверхности кожи (28-32°C) с получением оптимальной конформации случайного клубка, так как эти температуры значительно ниже внутренней температуры тела и, следовательно, также ниже температуры плавления таких желатинов и коллагенов.

Дополнительным преимуществом композиций по изобретению является то, что рыбий желатин, который в отличие от желатина млекопитающих находится при температурах кожи в конформации случайного клубка, может проникать в кожу для повышения эластичности кожи либо путем увеличения содержания коллагена в коже, либо путем предоставления альтернативного субстрата по отношению к собственному коллагену кожи для эндогенных матриксных металлопротеиназ, которые вызывают старение кожи.

Применения, способы и процессы по данному изобретению можно осуществлять, используя методики, которые являются традиционными при получении и нанесении местных косметических и фармацевтических средств, конкретно местных композиций, содержащих желатин млекопитающих.

Настоящее изобретение делает возможным изготовление оптимизированных препаратов для кожи с высоким содержанием воды, содержащих высокомолекулярные или смеси высоко- и низкомолекулярных рыбьих желатинов в конформации случайного клубка в смеси с одним или с несколькими полисахаридами. Это достигается подгонкой температуры плавления объединенной системы рыбий желатин/полисахарид к температуре поверхности кожи. Используя данное изобретение, впервые стало возможным контролировать характеристики плавления эмульгированных препаратов для кожи за счет водной фазы, а не липидной фазы. Данные продукты дают на поверхности кожи превосходные слои пленки, сохраняющей влагу, и, таким образом, поддерживают гидратацию кожи. Проникновение желатина в конформации случайного клубка в нижние слои кожи будет повышать эластичность кожи. Эти эмульгированные продукты будут стабильными в виде кремов при комнатной температуре из-за содержания в них полисахаридов. Эти оптимизированные физические свойства имеют место как в состоянии чистого водного геля, так и в эмульгированных системах в присутствии липидов, жиров и масел. Такие продукты нельзя получить с желатинами млекопитающих.

При использовании настоящего изобретения конкретно можно получить следующие преимущества: можно получить гели на основе рыбьего желатина и эмульсии таких гелей в присутствии липидов, которые являются механически стабильными при комнатной температуре;

можно получить эмульгированные препараты кремов для кожи, которые являются стабильными при комнатной температуре и имеют высокое содержание воды;

можно специфически подгонять температуры плавления таких гелей к биологическим поверхностям;

можно оптимизировать реологические характеристики и текстуру таких гелей в отношении нанесения на кожу;

косметические и фармацевтические препараты для кожи могут быть изготовлены из биосовмести-

мых полимеров, получаемых из экологически рациональных ресурсов;

можно повысить безвредность препаратов для кожи для пользователя, например, в отношении риска заболевания и/или ограничений, связанных с религией;

могут быть получены препараты для кожи на основе смесей рыбьего коллагена и полисахаридов, которые являются легко растворимыми на биологических поверхностях;

могут быть получены препараты для кожи на основе смесей рыбьего коллагена и полисахаридов, которые являются оптимизированными в отношении поглощения кожей и клейкости; и

можно добиться улучшенного эффекта увлажнения кожи (благодаря нанесению желатина в разупорядоченном состоянии (состоянии случайного клубка)).

Рыбьи желатины проникают в кожу и, таким образом, могут использоваться для увеличения проникновения через кожу других фармацевтически или косметически активных веществ.

Таким образом, согласно другому аспекту данного изобретения предложена местная фармацевтическая или косметическая композиция, содержащая фармацевтически или косметически активный агент и агент, усиливающий проникновение через кожу, отличающаяся тем, что указанный агент, усиливающий проникновение через кожу, содержит рыбий желатин.

Согласно еще одному аспекту данного изобретения предложено применение рыбьего желатина для изготовления местной косметической или фармацевтической композиции, содержащей косметически или фармацевтически активный агент для использования в способе лечения, включающем нанесение указанного лекарственного средства на кожу субъекта, представляющего собой человека или млекопитающее, не являющееся человеком.

Композиции, содержащие рыбий желатин в качестве усилителя проницаемости кожи, предпочтительно также будут содержать полисахарид, так что достигается желирующий эффект. Однако рыбий желатин можно использовать иначе, чем в качестве компонента желирующего агента и, таким образом, данные композиции могут принимать любой формат, подходящий для местного нанесения, например форму крема, пасты, мази, геля, эмульсии, дисперсии, суспензии, раствора, спрея и т.п. Особенно предпочтительным является применение растворов, кремов, паст и гелей. Активным ингредиентом в данных композициях может быть любой активный агент, который желателно наносить местно, например как описано ранее. Данный активный ингредиент, однако, особенно предпочтительно представляет собой анальгетик, вещество, подходящее для борьбы с дерматологическими состояниями (например с акне), вещество, способное к борьбе с радиационным (например солнечным) поражением (например глутатион), стимулятор кровотока (например вазодилататор) и т.д.

Проникновение рыбьего желатина в кожу также делает его доступным в коже в качестве альтернативного субстрата по отношению к собственному коллагену кожи для эндогенных матриксных металлопротеиназ, которые вызывают старение кожи.

Таким образом, в другом аспекте согласно данному изобретению предложено применение рыбьего желатина для изготовления местной композиции для нанесения на кожу человека для повышения ее эластичности, например путем увеличения в ней содержания коллагена.

В другом аспекте согласно данному изобретению предложен способ лечения субъекта, являющегося человеком, для увеличения эластичности его кожи, который включает нанесение на кожу указанного субъекта эффективного количества стерильной композиции, содержащей рыбий желатин, например, в виде крема, пасты, жидкой мази, воска, геля, эмульсии, дисперсии, суспензии, раствора или спрея.

Данные композиции желателно наносят на кожу по меньшей мере одного из следующего: лицо, шея, плечи, кисти рук, верхняя часть груди и нижняя часть бедра, в частности, на лицо, шею, и верхнюю часть груди и особенно вокруг глаз.

Используемый рыбий желатин и любой используемый полисахарид при получении таких композиций может быть таким, как описано выше.

Композиции, используемые согласно данному изобретению, предпочтительно снабжены инструкциями по их местному нанесению, например на листках-вкладышах в упаковке, на этикетках контейнера или на упаковке контейнера. Данные композиции желателно являются стерильными и не содержащими тканей рыбы и, кроме того, они предпочтительно содержат по меньшей мере один фармацевтический или косметический носитель или эксципиент.

Композиции по данному изобретению теперь будут дополнительно проиллюстрированы ссылкой на следующие неограничивающие примеры и на сопровождающие графические материалы.

Фиг. 1а (характеристики плавления и застывания основного крема для кожи); 1б (характеристики плавления и застывания основы и воды в соотношении 1:1); 1в (характеристики плавления и застывания основы и 10%-ного (мас./об.) FG в соотношении 1:1); 1г (характеристики плавления и застывания основы в смеси с 0,75%-ным (мас./об.) CG + 15%-ным FG (мас./об.) в соотношении 1:1) и 1д (характеристики плавления и застывания основы и 0,75%-ный CG + 15%-ный FG + 20 мМ KCl, смешанных в соотношении 1:1) представляют собой графики зависимости температуры (Т), модуля упругости (G'), вязкости (η^*) и фазового угла (δ) от времени для пяти композиций, которые нагревают от 20 до 40°C и обратно охлаждают до 20°C;

фиг. 2а (плавление чистого основного крема для кожи); 2б (плавление смеси основы и воды в соот-

ношении 1:1); 2в (плавление смеси основы и 10%-ного FG в соотношении 1:1); 2г (плавление смеси основы и 0,75%-ного CG+ 15%-ного FG в соотношении 1:1) и 2д (плавление смеси основы и 0,75%-ного (мас./об.) CG + 15%-ного (мас./об.) FG + 20 мМ KCl в соотношении 1:1) представляют собой графики зависимости температуры (Т) и модуля упругости (G') от времени для пяти композиций по мере того, как их нагревают от 20 до 40°C;

фиг. 3а (механический ответ чистого основного крема для кожи при возрастающем напряжении сдвига; несколько повторов), 3в (механический ответ смеси основа:вода 1:1 с возрастающим напряжением сдвига; несколько повторов), 3д (механический ответ в смешанной системе основа: 10%-ный FG (1:1) с возрастающим напряжением сдвига; несколько повторов), 3ж (механический ответ в смешанных системах основа : FG/CG/вода (1:1) с возрастающим напряжением сдвига; несколько повторов. 2 = 0,5%-ный CG + 10%-ный FG, 14-16 = 0,75%-ный CG + 15%-ный FG) и 3и (механический ответ в смешанных системах основа : FG/CG/20 мМ KCl/вода (1:1) с возрастающим напряжением сдвига; несколько повторов) представляют собой графики модуля упругости (G') в зависимости от напряжения сдвига и фиг. 3б (изменение фазового угла для чистой основы с возрастающим напряжением сдвига), 3г (изменение фазового угла для смешанной системы основа:вода (1:1) с возрастающим напряжением сдвига), 3е (изменение фазового угла для смешанной системы основа : 10%-ный FG (1:1) с возрастающим напряжением сдвига), 3з (изменение фазового угла для систем основа : FG/CG/вода (1:1) с возрастающим напряжением сдвига. Течение отсутствует при высоких напряжениях сдвига: 2 = 0,5%-ный CG + 10%-ный FG, 14-16 = 0,75%-ный CG + 15%-ный FG) и 3к (изменение фазового угла для систем основа : FG/CG/20 мМ KCl/вода (1:1) с возрастающим напряжением сдвига. Течение отсутствует при высоких напряжениях сдвига) представляют собой графики фазового угла (δ) в зависимости от напряжения сдвига для пяти композиций, каждая из которых подвергается возрастающему напряжению сдвига несколько раз (количество испытаний указано под графиками);

фиг. 4а (изменения фазового угла с ростом температуры для смешанной водной системы 0,5%-ный (мас./об.) к-CG и 10%-ный (мас./об.) FG. Желирование происходит при 27°C, а плавление - при 40°C), 4б (осцилляторные измерения с малым нагружением для 0,5%-ного (мас./об.) к-CG. Изменения фазового угла в зависимости от температуры. Желирование происходит при 13°C, а плавление - при 29°C), 4в (осцилляторные измерения с малым нагружением 10%-ного (мас./об.) FG. Изменения фазового угла в зависимости от температуры. Желирование происходит при 4°C, а плавление - при 13°C) представляют собой графики фазового угла (δ) в зависимости от температуры для трех композиций, которые плавят и затем охлаждают с образованием гелей;

фиг. 5а (осцилляторные измерения с малым нагружением для 0,5%-ного (мас./об.) каппа-CG и 10%-ного (мас./об.) FG, охлажденных до 4°C. Экстраполяция к $G'_{infinite}$ дает $G' = 3620$ Па), 5б (результаты осцилляторных измерений с малым нагружением для 0,5%-ного (мас./об.) к-CG, охлажденного до 4°C); 5в (результаты осцилляторных измерений с малым нагружением 10%-ного (мас./об.) FG, охлажденного до 4°C. Экстраполяция к $G'_{infinite}$ дает $G' = 1100$ Па) представляют собой графики температуры (Т), модуля упругости (G') и фазового угла (δ) для трех композиций, которые охлаждают от 20 до 4°C и затем нагревают вплоть до 40°C;

фиг. 6 представляет собой диаграмму, показывающую модуль Юнга (E) для смешанных систем 0,5%-ный (мас./об.) к-CG и 10 или 15%-ный (мас./об.) FG при комнатной температуре (среднее \pm S.D. (среднеквадратическое отклонение), $n > 4$);

фиг. 7 представляет собой график концентрации рыбьего желатина по отношению к поглощению при 280 нм; и

фиг. 8 представляет собой график концентрации рыбьего желатина в зависимости от времени.

Во всех примерах использовали следующие материалы и методы. Каррагинаны Каппа-каррагинан (FMC Biopolymer A/S, Drammen, Norway) со средней молекулярной массой в интервале 400-800 кДа.

Йота-каррагинан (FMC Biopolymer A/S, Drammen, Norway) со средней молекулярной массой в интервале 400-800 кДа. Рыбий желатин - Образцы рыбьего желатина (FG) со средней молекулярной массой в интервале 90-140 кДа получали из кожи видов холодноводных рыб (Norland Inc., USA). Модельная система эмульгирования - Модельная основа представляла собой дневной крем "Biodermica" (BIOLink AS, Sandefjord, Norway и Fitzone - KMB GmbH, Hamburg, Germany). Липидные и водные смеси получали эмульгированием с помощью Ultra Thurrax.

Соотношения и процентные содержания выражены по массе, если не указано иначе.

Пример 1. Общие характеристики плавления и застывания основного крема для кожи, эмульгированного со смесями (1:1) рыбьего желатина и каппа-каррагинана, с водой и с раствором чистого рыбьего желатина.

Фиг. 1а показывает плавление и реструктуризацию чистого основного крема для кожи по мере того, как температура повышается от 20 до 40°C и снижается обратно до 20°C. Модуль упругости (G'), который отражает свойства крема как твердого вещества, показывает слабую зависимость от температуры с монотонным слабым снижением по мере того, как температура возрастает, с последующим более резким возрастанием по мере того, как температура снижается. Этот гистерезис вероятнее всего обусловлен

плавлением и перекристаллизацией липидных компонентов.

Фиг. 1б показывает эти характеристики в случае, когда основной крем смешан с водой в соотношении 1:1. Эта смесь приводит к образованию неомогенного продукта типа лосьона, а не крема, демонстрируя поэтому нежелательные характеристики. Это обусловлено субоптимальным эффектом воды в данной системе, приводящим к потере стабильности. У этого продукта также наблюдали зернистую консистенцию из-за больших водных доменов (говорящую о полном разделении фаз со временем).

Фиг. 1в показывает эти характеристики в случае, когда основной крем смешан с 10%-ным водным раствором рыбьего желатина в соотношении 1:1. В этом примере также видны гистерезисные характеристики чистого крема (см. фиг. 1а). G' , однако, является очень низким, что подразумевает плохие механические свойства.

Фиг. 1г показывает эти характеристики в случае, когда основной крем смешан в соотношении 1:1 с водным раствором, содержащим 0,75%-ный каппа-каррагинан и 15%-ный рыбий желатин. Этот гель специально разработан для того, чтобы он плавился на коже человека. Очень значительный эффект наблюдается при увеличении температуры, и вновь виден гистерезис, наблюдаемый на фиг. 1а при снижении температуры. Получили однородный успокаивающий продукт.

Фиг. 1д показывает эти характеристики в случае, когда основной крем смешан в соотношении 1:1 с раствором 0,75%-ного каппа-каррагинана и 15%-ного рыбьего желатина с 20 мМ КСl. Эта смесь разработана так, чтобы она сохраняла свою механическую структуру также и на поверхности кожи. Теперь имеет место картина, схожая с картиной для чистого основного крема (фиг. 1а), за исключением гистерезиса после охлаждения системы. Этот результат говорит о том, что механические свойства у этого неплавкого продукта в значительно большей степени обуславливаются содержанием полисахарида.

Пример 2. Исходные характеристики плавления основного крема для кожи, эмульгированного со смесями (1:1) рыбьего желатина и каппа-каррагинана, с водой и с раствором чистого рыбьего желатина. Характеристики контакта с кожей.

Фиг. 2а-2д соответствуют исходной фазе фиг. 1а-1г. Ясно видно, что образец, специально разработанный для плавления на коже человека (фиг. 2г), является единственным образцом, показывающей отчетливый разрыв в развитии G' примерно при температуре кожи (30°C), указывая на то, что гель из рыбьего желатина/каррагинана плавится и, таким образом, облегчает распределение желатина, имеющего конформацию случайного клубка, на коже. Все другие образцы показывают более или менее монотонное уменьшение G' при понижении температуры, указывая на то, что ослабление крема обусловлено изменениями в липидной фазе.

Пример 3. Устойчивость к напряжению основного крема для кожи, эмульгированного со смесями (1:1) рыбьего желатина и каппа-каррагинана, с водой и с раствором чистого рыбьего желатина. Стабильность при 20°C

Фиг. 3а и 3б показывают механический ответ (развитие G' и фазового угла δ) чистого основного крема для кожи. Видно, что данный крем начинает течь (G' снижается, а δ возрастает) при напряжении около 20 Па. Также имеет место точная обратимость системы в том смысле, что в линейной области или в начале течения не наблюдается изменения, когда данный крем тестируют несколько раз.

Фиг. 3в и 3г показывают тот же самый ответ в смеси 1:1 основы и воды. Ясно видно, что данная система начинает течь при значительно более низком напряжении, и что напряжение, необходимое для индукции течения, становится меньшим при повторяющихся циклах воздействия напряжения, указывая на то, что это неравновесная система и субоптимальный продукт.

Фиг. 3д и 3е показывают характеристики напряжения смеси 1:1 основы и 10%-ного водного раствора рыбьего желатина. Как и в случае водной смеси, эта система также демонстрирует текучесть при значительно более низких напряжениях и зависимость напряжения, индуцирующей текучесть, по отношению к числу циклов деформации. Это свидетельствует о том, что один рыбий желатин не является достаточным для получения стабильного крема для кожи.

Фиг. 3ж и 3з показывают механический ответ, индуцированный напряжением, смеси 1:1 основного крема для кожи и двух водных смесей рыбьего желатина и каппа-каррагинана (15% / 0,75% и 10% / 0,50%). Эти системы сильно отличались от систем с добавлением чистой воды и 10%-ного рыбьего желатина из-за того, что они не текут до тех пор, пока не достигаются напряжения, которые являются сравнимыми с напряжениями, необходимыми для чистого основного крема, а также из-за того, что они являются полностью обратимыми системами (т.е. механический ответ не зависит от числа циклов деформации). Кроме того, анализ фазового угла показывает, что эти гели совсем не приобретают свойств, характерных для жидкостей, в пределах тестируемого режима напряжения (фазовый угол, δ , всегда менее 45°). Это отражает существенность желирующего полисахарида для стабилизации данного крема. Следовательно, эта смесь 1:1 с повышенным содержанием воды является более стабильным продуктом, чем чистый основной крем, при 20°C.

Фиг. 3и и 3к показывают механический ответ смеси 1:1 основы и смеси рыбий желатин/каппа-каррагинан с добавлением 20 мМ иона K^+ , стимулирующего образование геля. Эти фигуры показывают, что путем добавления таких ионов возможно создание еще более стабильной системы благодаря допол-

нительной стабилизации каррагинанового каркаса. В этой системе фазовые углы все еще ниже при самом сильном протестированном напряжении по сравнению с нетекучей смешанной системой без какого-либо количества дополнительных ионов калия.

Пример 4. Температуры желирования и плавления водной смеси рыбьего желатина и каппа-каррагинана

Фиг. 4а показывает температуры желирования (T_g) и плавления (T_m) смеси 0,5%-ного каппа-каррагинана и 10%-ного рыбьего желатина, а фиг. 4б и 4в представляют те же самые значения для двух отдельных компонентов (0,5%-ный каппа-каррагинан (1б) и 10%-ный рыбий желатин (1в), соответственно). Эти результаты представлены как изменение фазового угла при малых осцилляторных измерениях (=арктангенс G''/G'), что отражает изменение от преимущественно твердой до преимущественно жидкой ($\delta=45^\circ$) системы и наоборот.

Четко видно, что эта система представляет собой истинную синергичную систему в том смысле, что ни один из двух компонентов сам по себе не дает геля при комнатной температуре, тогда как смешанная система неожиданно демонстрирует температуры желирования (приблизит. 27°C) и плавления (приблизит. 40°C), близкие к температурам желирования и плавления гелей из желатина млекопитающих.

Пример 5. Развитие прочности геля из смеси рыбьего желатина и каппа-каррагинана.

Фиг. 5 представляет развитие прочности геля (приведенной как динамический модуль упругости (G') из осцилляторных измерений с малым нагружением) из смеси 0,5%-ного каппа-каррагинана и 10%-ного рыбьего желатина. Соответствующее развитие для двух компонентов по отдельности (0,5%-ный каппа-каррагинан и 10%-ный рыбий желатин) приведено на фиг. 5б и 5в, соответственно. Все результаты получены при 4°C , так как ни один из двух данных компонентов в отдельности не дает гель при комнатной температуре (см. также пример 1). Из представленного набора данных вновь очевидно, что получена истинная синергичная система, так как G' смешанной системы существенно выше, чем значения G' , измеренные для двух данных компонентов по отдельности.

Пример 6. Прочность смешанных гелей из рыбьего желатина/каппа-каррагинана при высокой концентрации FG.

Фиг. 6 показывает прочность геля (приведенную как модуль Юнга (E) из анализа сжатия) 0,50%-ного каппа-каррагинана, смешанного с 10 и 15%-ным рыбьим желатином, без добавления какой-либо соли. Пример 4 показывает, что ни один из двух компонентов по отдельности не дает стабильных гелей при комнатной температуре, но что смесь 0,50%-ного каппа-каррагинана и 10%-ного рыбьего желатина дает стабильный гель. Фиг. 6 показывает, что этот результат также имеет место при включении 15%-ного рыбьего желатина. На самом деле, в этой смешанной системе отсутствует значимое влияние на прочность геля, при изменении соотношения между каппа-каррагинаном и рыбьим желатином от 1:20 до 1:30, таким образом, данный результат доказывает надежность этой смешанной системы.

Пример 7. Рыбий желатин со средней молекулярной массой 55000 Да растворяют в PBS (забуференный фосфатом физиологический раствор) до содержания 5 мас.%, и 500 мкл добавляют к 8 тканевым вставкам. Мембрана в этих тканевых вставках покрыта моделью эпидермиса 17-суточного возраста от SkinEthic, Франция. 1 мл PBS добавляют в лунки в 24-луночном планшете. Одну тканевую вставку с раствором рыбьего желатина помещают в 8 лунок в многолуночном планшете. Данную систему инкубируют при 30°C и одну тканевую вставку удаляют каждые 30 мин в течение 3 ч и каждый час до достижения 5 ч. Растворы в лунках собирают и измеряют поглощение при 280 нм для того, чтобы показать, что молекулы рыбьего желатина проникли через модели эпидермиса. Увеличение значений поглощения со временем показывает, что молекулы рыбьего желатина проникают через модель эпидермиса при инкубации при 30°C .

Пример 8. Рыбий желатин со средней молекулярной массой 120000 Да растворяют в PBS до содержания 5% масс. Добавляют фракцию низкомолекулярного рыбьего желатина со средней молекулярной массой 30000 Да до концентрации 2,5% масс. 500 мкл раствора рыбьего желатина добавляют к 8 тканевым вставкам. Мембрану в тканевых вставках покрывают моделью эпидермиса 17-суточного возраста от SkinEthic, Франция. Добавляют в лунки в 24-луночном планшете 1 мл PBS. Одну тканевую вставку с раствором рыбьего желатина помещают в 8 лунок в многолуночном планшете. Данную систему инкубируют при 30°C и одну тканевую вставку удаляют каждые 30 мин в течение 3 ч и каждый час до достижения 5 ч. Растворы в лунках собирают и измеряют поглощение при 280 нм для того, чтобы показать, что молекулы рыбьего желатина проникли через модели эпидермиса. Увеличение значений поглощения со временем показывает, что молекулы рыбьего желатина проникают через модель эпидермиса при инкубации при 30°C .

Пример 9. Рыбий желатин со средней молекулярной массой 30000 Да растворяли в PBS до концентрации 5% масс. и 500 мкл добавляли к 16 тканевым вставкам. Мембрану в тканевых вставках покрывали моделью эпидермиса 20-суточного возраста от SkinEthic, Nice, Франция (lot no.: 06022A0304). 700 мкл PBS добавляли в лунки в 24-луночном планшете. Одну тканевую вставку с раствором рыбьего желатина помещали в 16 лунок в многолуночном планшете. Данную систему инкубировали при 30°C с мягким помешиванием и одну тканевую вставку удаляли каждые 20 мин в течение 3 ч и каждые 30 мин до достижения 6,5 ч. Растворы в лунках и вставки собирали и измеряли поглощение при 280 нм как под, так и над

моделью эпидермиса для того, чтобы показать, что молекулы рыбьего желатина преодолели данный барьер. Увеличение со временем значений поглощения в растворе под барьером показывает, что молекулы рыбьего желатина проникли через модель эпидермиса при инкубации при 30°C.

Фиг. 7 показывает стандартную кривую зависимости между концентрацией рыбьего желатина (средняя молекулярная масса = 30000 Да) в PBS и значениями поглощения при 280 нм.

Табл. 4, приведенная ниже, показывает значения поглощения при 280 нм и рассчитанные концентрации рыбьего желатина в PBS (700 мкл) под вставками модели эпидермиса. PBS использовали в качестве холостой пробы. Стандартную кривую, показывающую зависимость между концентрацией рыбьего желатина и значением поглощения при 280 нм, использовали для расчета концентраций рыбьего желатина как функции времени.

Таблица 1

Время (мин)	Поглощение при 280 нм	Концентрация FG в PBS под барьером (%)
0	0,000	0,00
20	0,0316	0,05
40	0,0366	0,06
60	0,0391	0,07
80	0,0507	0,09
100	0,0583	0,10
120	0,0626	0,11
140	0,0859	0,15
160	0,1064	0,19
180	0,0849	0,15
210	0,1022	0,18
240	0,1077	0,19
270	0,1174	0,20
300	0,1379	0,24
330	0,1599	0,28
360	0,1837	0,32
390	0,2166	0,38

Данные табл. 1 представлены на фиг. 8 в виде концентрации FG в PBS под барьером как функции времени.

Рассчитано, что максимальная возможная концентрация FG в данной системе в состоянии равновесия составляет примерно 2,08%. Это означает, что 19% FG прошло через эпидермальный барьер за 6,5 часов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Местная фармацевтическая или косметическая композиция, предназначенная для нанесения на кожу млекопитающего и содержащая фармацевтически или косметически активный агент и желирующий агент, отличающаяся тем, что указанный желирующий агент содержит рыбий желатин и полисахарид, и где указанная композиция содержит непрерывную водную фазу, имеющую температуру плавления в интервале от 20 до 42°C.

2. Композиция по п.1, содержащая непрерывную водную фазу, имеющую температуру желирования в интервале от 10 до 30°C.

3. Композиция по п.2, где температура желирования находится в интервале от 15 до 28°C.

4. Композиция по п.1, где температура плавления находится в интервале от 24 до 40°C.

5. Композиция по п.4, где температура плавления находится в интервале от 28 до 37°C.

6. Композиция по любому из пп.1-5, где содержание аминокислот в рыбьем желатине составляет от 5 до 25 мас. %.

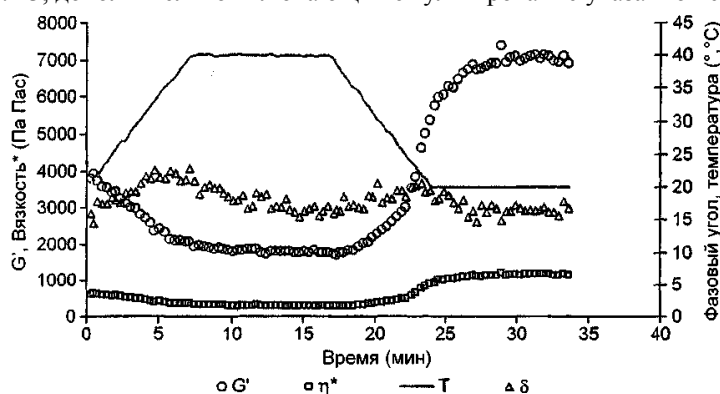
7. Композиция по любому из пп.1-6, где рыбий желатин имеет среднюю молекулярную массу в интервале от 10 до 250 кДа.

8. Композиция по любому из пп.1-7, содержащая рыбий желатин в концентрации от 2 до 15 мас. %.

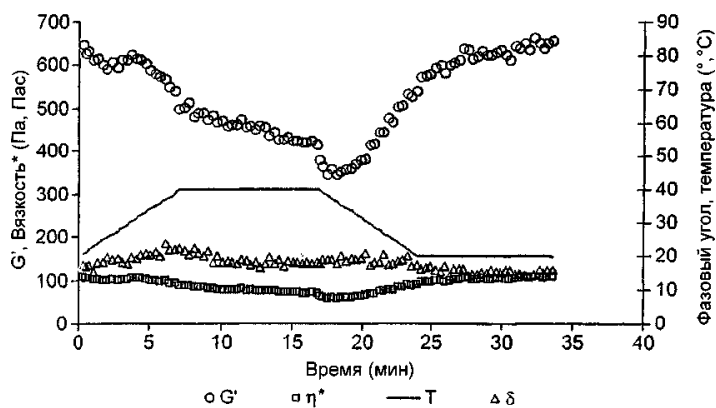
9. Композиция по любому из пп.1-8, содержащая заряженный полисахарид.

10. Композиция по п.9, где заряженный полисахарид представляет собой каррагинан.

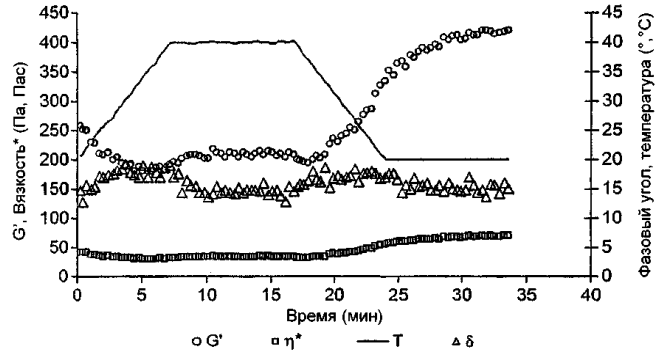
11. Композиция по п.10, где каррагинан представляет собой каппа-каррагинан.
12. Композиция по любому из пп.9-11, где полисахарид имеет среднюю молекулярную массу от 10 кДа до 1 МДа.
13. Композиция по любому из пп.9-12, содержащая полисахарид в концентрации от 0,1 до 1,5 мас.%.
14. Композиция по любому из пп.9-13, где массовое соотношение рыбьего желатина к полисахариду составляет от 50:1 до 5:1.
15. Композиция по любому из пп.1-14, где pH данной композиции находится в интервале от 5 до 7,5.
16. Композиция по любому из пп.9-15, в которой фармацевтически активный агент выбран из группы, состоящей из антибиотиков, противовоспалительных агентов, противовоздушных агентов, стероидов, NSAIDs (нестероидных противовоспалительных лекарственных средств), противогрибковых агентов и соединений против акне.
17. Композиция по любому из пп.9-15, в которой косметически активный агент является увлажняющим агентом.
18. Способ лечения человека, включающий нанесение на его кожу эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп.1-16.
19. Способ косметического лечения человека, включающий нанесение на его кожу косметической композиции по любому из пп.1-15 и 17.
20. Способ по п.19, где лечение заключается в повышении упругости кожи человека.
21. Применение рыбьего желатина и полисахарида для изготовления композиции по любому из пп.1-17.
22. Применение по п.21, где композиция предназначена для повышения упругости кожи человека.
23. Способ изготовления композиции по любому из пп.1-17, включающий смешивание рыбьего желатина, полисахарида, фармацевтически или косметически активного агента и воды.
24. Способ по п. 23, дополнительно включающий эмульгирование указанной смеси.



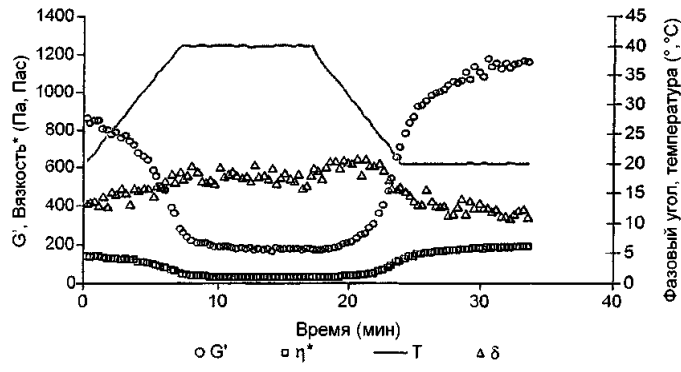
Фиг. 1а



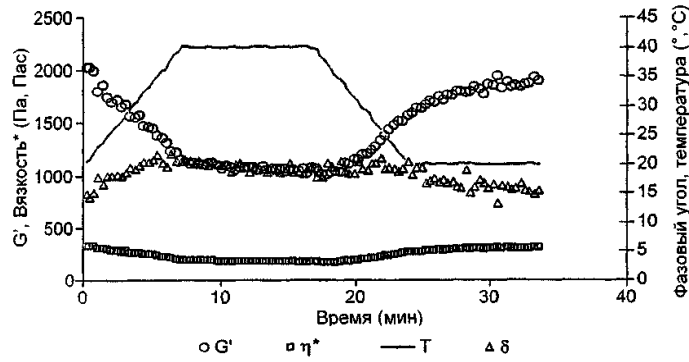
Фиг. 1б



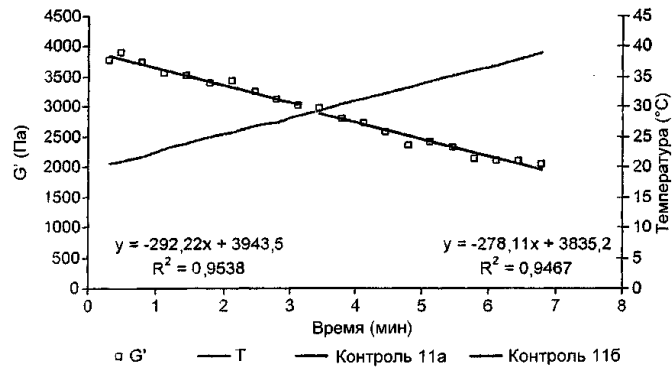
Фиг. 1в



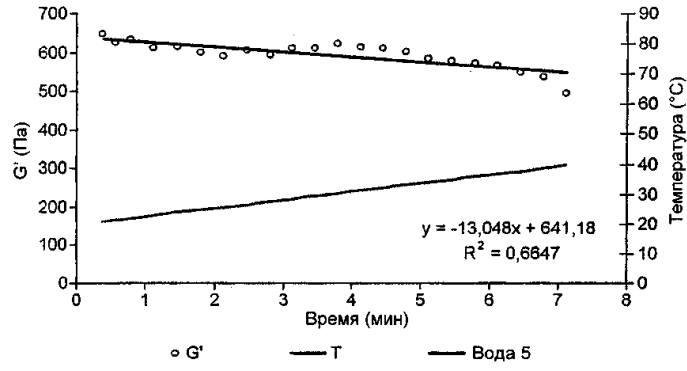
Фиг. 1г



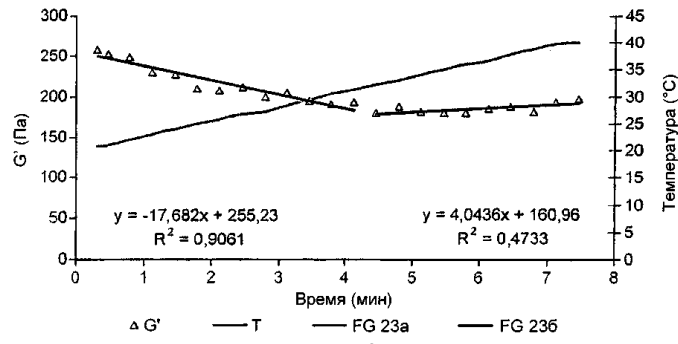
Фиг. 1д



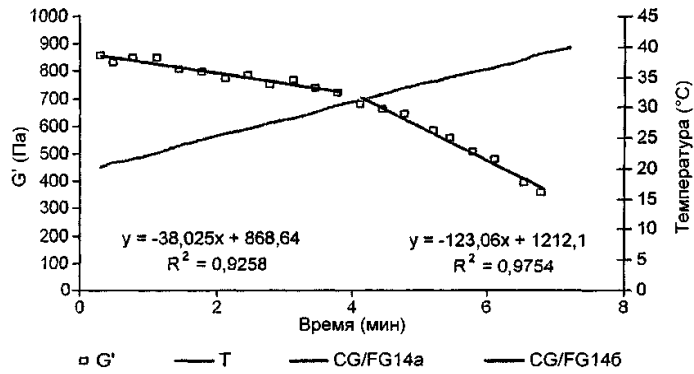
Фиг. 2а



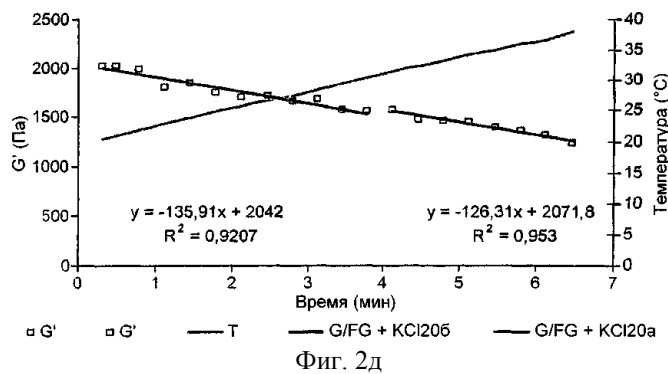
Фиг. 2б



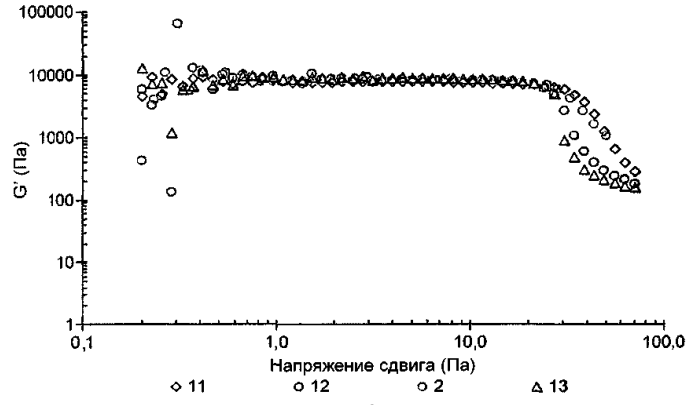
Фиг. 2в



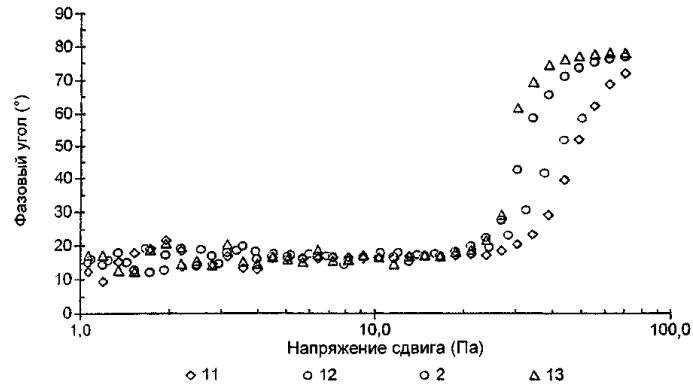
Фиг. 2г



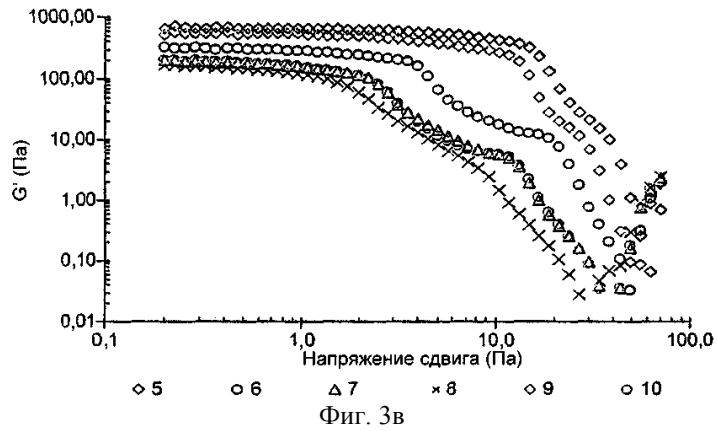
Фиг. 2д



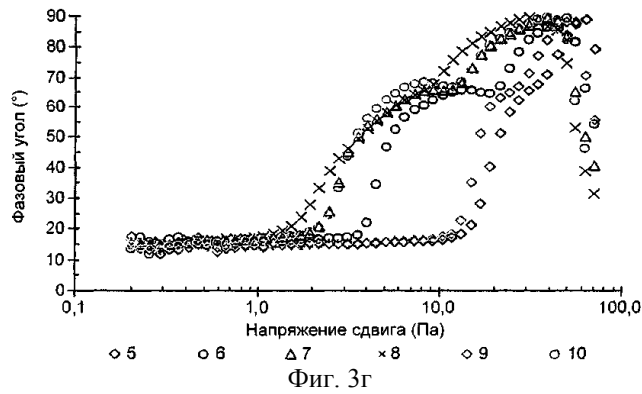
Фиг. 3а



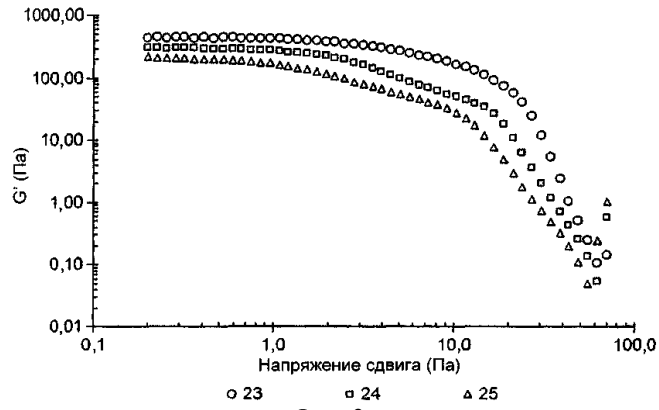
Фиг. 3б



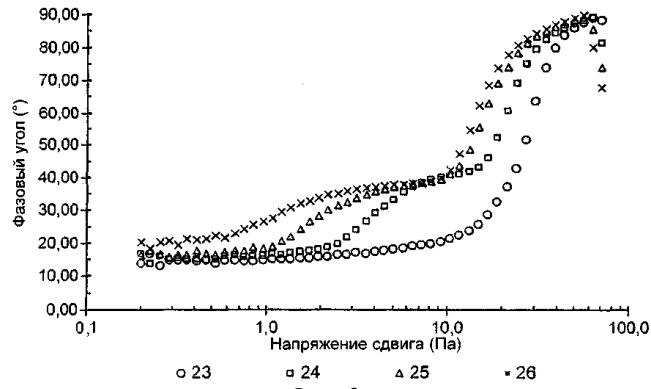
Фиг. 3в



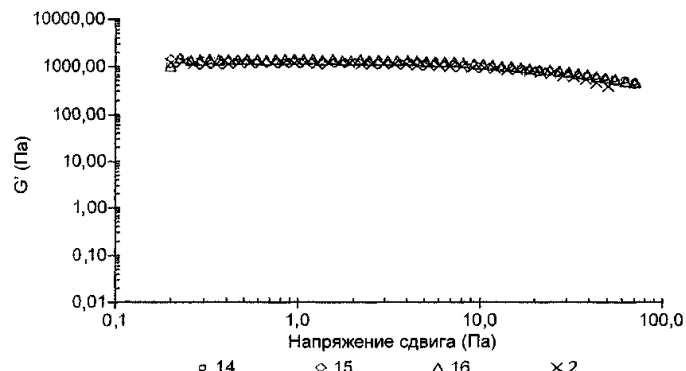
Фиг. 3г



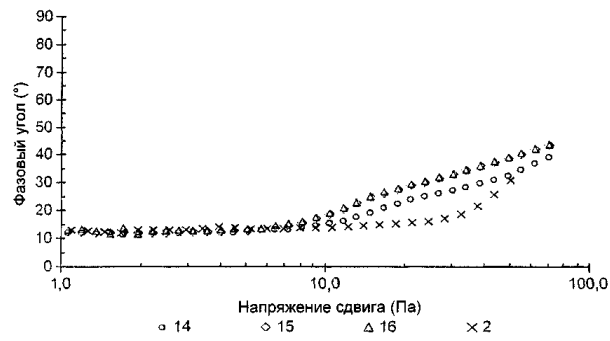
Фиг. 3д



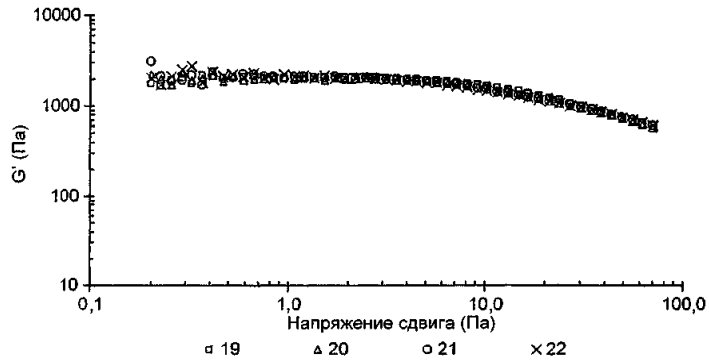
Фиг. 3е



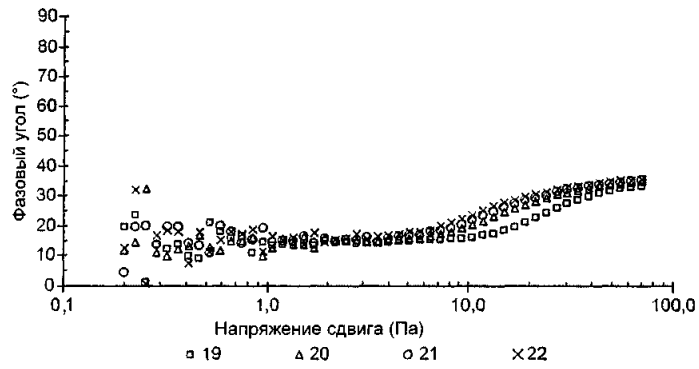
Фиг. 3ж



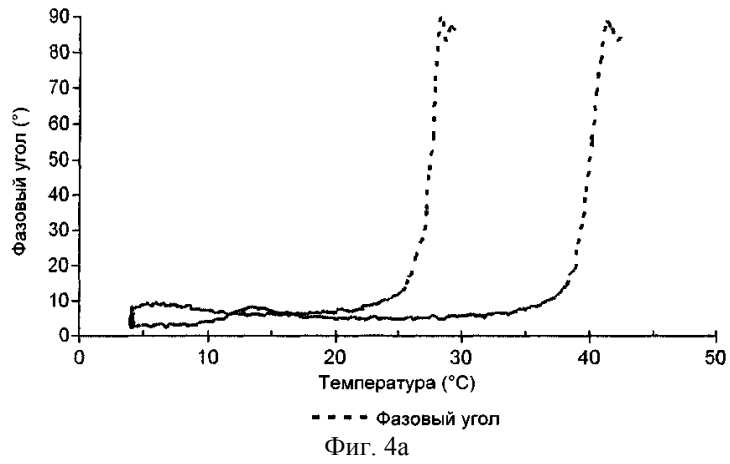
Фиг. 3з



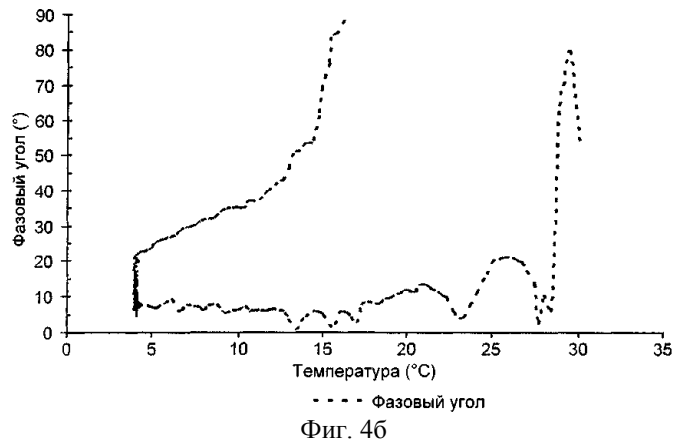
Фиг. 3и



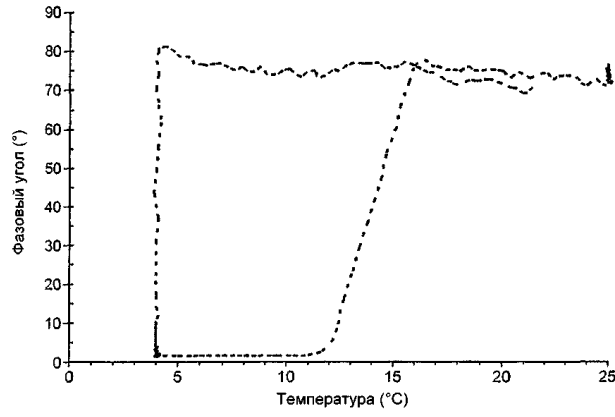
Фиг. 3к



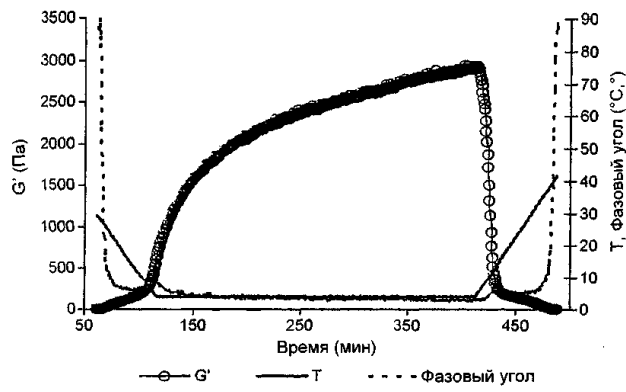
Фиг. 4а



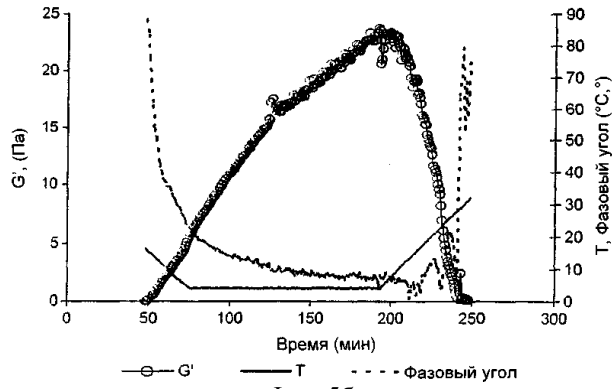
Фиг. 4б



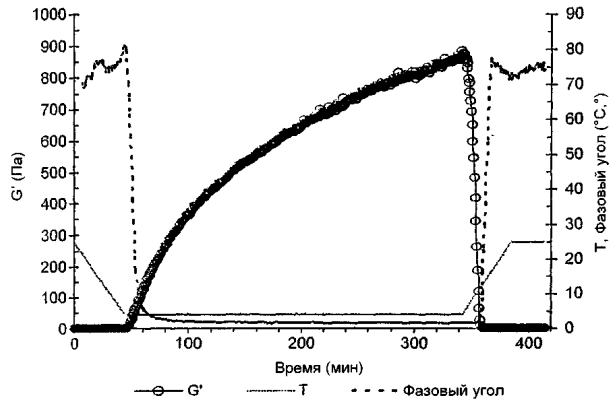
Фиг. 4в



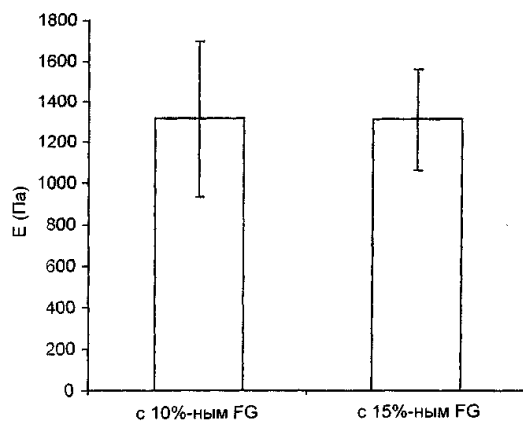
Фиг. 5а



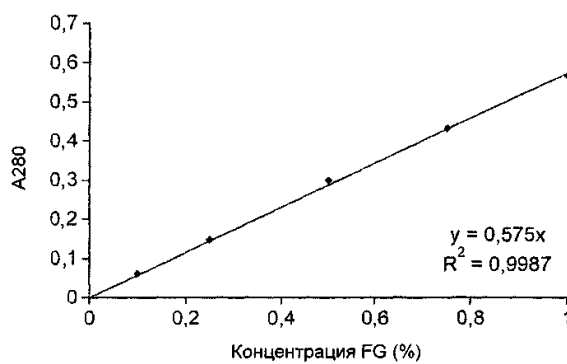
Фиг. 5б



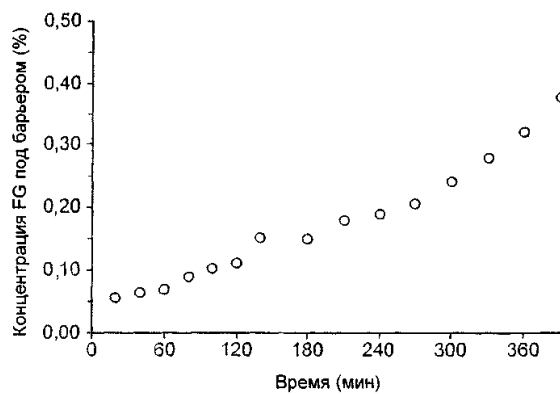
Фиг. 5в



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8

