



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**(21)(22) Заявка: **2011134828/15, 16.08.2011**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
**16.08.2011**

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: **16.08.2011**(45) Опубликовано: **27.09.2012** Бюл. № 27

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **US 7384918, 10.06.2008. RU 2411045 C2, 10.02.2011. US 20050244485 A1, 03.11.2005. US 20110178044 A1, 21.07.2011. EP 804155 B1, 08.11.2000. JOHN.W.GRONWALD et al &#8220; Effect of Ammonium Sulfate on Absorbtion of Imazetahapyr by Quackgrass(Elytrigia repens) and Maize (Zea mays) Cell Suspension Cultures&#8221, Weed Sciens, 1993, v.41:325-334, реферат.**

Адрес для переписки:

**197342, Санкт-Петербург, ул.  
Кантемировская, 2, литер А, офис 311, ОАО  
Научно-производственная компания  
"Высокие технологии"**

(72) Автор(ы):

**Климова Ольга Анатольевна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Открытое акционерное общество Научно-производственная компания "Высокие технологии" (RU)**

**(54) СПОСОБ ТРАНСДЕРМАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ПОЛИПЕПТИДОВ В ОРГАНИЗМ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и, в частности, к дерматологии и косметологии и касается способа трансдермального введения в организм полипептидов с энхансером, в качестве которого используют сульфат

аммония концентрации 1,6 мМ - 4,0 М. Способ обеспечивает повышение эффективности трансдермального введения и за счет этого повышение эффективности действия лекарственного средства на основе полипептида. 3 з.п. ф-лы, 3 табл.

RU 2 462 265 C1

RU 2 462 265 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2011134828/15, 16.08.2011**

(24) Effective date for property rights:  
**16.08.2011**

Priority:

(22) Date of filing: **16.08.2011**

(45) Date of publication: **27.09.2012 Bull. 27**

Mail address:

**197342, Sankt-Peterburg, ul. Kantemirovskaja, 2,  
liter A, ofis 311, OAO Nauchno-proizvodstvennaja  
kompanija "Vysokie tekhnologii"**

(72) Inventor(s):

**Klimova Ol'ga Anatol'evna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Otkrytoe aktsionernoje obshchestvo Nauchno-  
proizvodstvennaja kompanija "Vysokie  
tekhnologii" (RU)**

(54) **METHOD OF TRANSDERMAL INTRODUCTION OF POLYPEPTIDES INTO BODY**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, particularly dermatology and cosmetology and concerns a method of the transdermal introduction into a body of polypeptides with an enhancer

represented by ammonium sulphate of the concentration of 1.6 mM - 4.0 M.

EFFECT: method provides higher effectiveness of the transdermal introduction and thereby higher effectiveness of action of the polypeptide agent.

4 cl, 3 tbl

RU 2 462 265 C1

RU 2 462 265 C1

Изобретение относится к медицине и косметологии и содержит предложение по решению проблемы трансдермального введения белков и пептидов, а также композиций и составов на их основе.

5 Многие пептиды и белки являются биологически активными веществами, влияющими на различные физиологические процессы, протекающие в коже и в других органах человеческого организма и организме в целом, поэтому они потенциально могут быть компонентами многих косметических и лекарственных средств.

10 Для того чтобы оказать воздействие на органы и организм в целом, пептиды и белки должны достигнуть мишени. Однако энтеральное и большинство путей парентерального введения белков и пептидов в организм затруднено, так как они быстро выводятся из кровотока, подвержены протеолизу, в том числе аутолизу, имеют тенденцию к агрегации, адсорбции и денатурации. При нанесении на кожу белки и пептиды практически полностью остаются на ее поверхности, что связано с природой пептидов и белков, а также с барьерными свойствами кожи.

15 Эффективная трансдермальная доставка по градиенту концентрации возможна для молекул, обладающих сродством и к гидрофобному роговому слою, и к гидрофильной дерме, то есть молекулы должны быть нейтральными. Положительный или отрицательный заряд молекулы может затормозить ее продвижение через гидрофобную среду. Например, эффективность проникновения заряженных веществ через роговой слой кожи на два порядка ниже, чем незаряженных [1].

20 Белки и пептиды являются цвиттерионами, несущими заряд при любых значениях рН. Большинство молекул биологически активных пептидов и белков гидрофильны, то есть хорошо растворимы в воде и не растворимы в неполярных растворителях.

25 Для преодоления барьерных свойств кожи и обеспечения трансдермальной доставки лекарственных/косметических средств применяются различные приемы, которые условно можно разделить на физические, химические и биохимические.

30 При физическом подходе к трансдермальной доставке лекарственных/косметических средств, с целью создания обратимых физических изменений в пределах рогового слоя, используются внешние силы: электрический ток (ионофорез), высоковольтные электрические импульсы (электрофорез/электропорация) и ультразвук (сонофорез). Такая модификация рогового слоя позволяет трансдермально доставлять большие заряженные молекулы, в том числе пептиды и белки, которые не могут пройти через роговой слой в результате пассивной диффузии. Основными достоинствами этого подхода являются: быстрое начало действия препарата благодаря короткому времени, необходимому для достижения лекарственными/косметическими средствами мишени, а также возможность контроля доставки путем варьирования силы и продолжительности воздействия. Недостатки - низкая комплаентность пациентов и противопоказания к применению инструментальных методов введения препаратов при ряде заболеваний.

45 Химический подход к усовершенствованию трансдермальных систем доставки заключается в использовании в составе лекарственного/косметического средства дополнительных химических веществ - усилителей транспорта - для разрушения упорядоченной структуры *stratum corneum* и увеличения его проницаемости для лекарственных/косметических средств. В качестве таких химических «усилителей» используется широкий спектр веществ, включающий многоатомные спирты, жирные кислоты и их эфиры, поверхностно-активные вещества, терпены [2]. Один из приемов - трансдермальная доставка лекарственных/косметических средств в инкапсулированном виде, например внутри липосом, способных проходить сквозь

роговой слой кожи и в нем накапливаться, с последующим освобождением лекарственных/косметических средств. Трансдермальные системы на основе применения усилителей транспорта - «энхансеров» - позволяют осуществлять равномерную доставку лекарственных/косметических средств в течение долгого времени. В то же время, химические усилители могут вызывать локальные раздражения кожи. Кроме того, для регистрации таких препаратов требуется полная информация по лечебному/косметическому эффекту, безопасности, токсичности, для получения которой финансовые и временные затраты оказываются весьма значительными.

Биохимический подход заключается в обратимой модификации структуры лекарственных/косметических средств для эффективного преодоления кожного барьера.

Модифицированные молекулы лекарственных/косметических средств терапевтически, а в идеале и биохимически (что особенно важно в случае протеолитических ферментов), неактивны. После трансдермальной доставки и достижения мишени модифицированные молекулы возвращаются к первоначальной структуре, восстанавливая тем самым терапевтические свойства.

Известна фармацевтическая композиция для трансдермального введения [3], содержащая противобактериальные композиции для наружного нанесения, со следующим составом компонентов:

0,5-10% противобактериального начала,

1-30% водонерастворимого полимера, например этилцеллюлозы или сополимера поливинилпирролдона,

0,5-40% пластификатора, а именно эфирного масла, содержащего терпены, усиливающие эффективность трансдермальной доставки лекарственного средства,

50-95% растворителя, а именно этанола.

Однако в качестве средства трансдермальной доставки полипептидов и белков, особенно протеолитических ферментов, такая композиция абсолютно не эффективна, так как скорость доставки до мишени значительно ниже скорости их деградации.

Описано косметическое средство для кожи [4], в состав которого в качестве активных ингредиентов входят:

панкреатин и гиалуроновая кислота,

жировая основа, состоящая из гидрогенизированного хлопкового масла /ГХМ/, оливкового масла, гидролина и глицерина,

бензоат натрия, окись цинка и альфа-токоферол в качестве консерванта, антисептика и антиоксиданта соответственно.

Однако физико-химические свойства перечисленных веществ не позволяют им проникать через кожу в терапевтически эффективном количестве, что делает применение данного средства неэффективным.

Хорошо известный энхансер трансдермального переноса диметилсульфоксид [5] из-за физико-химических свойств не может применяться в косметических и многих лекарственных средствах. Кроме того, в приемлемых концентрациях он не позволяет создать стабильные растворы многих белков, в частности протеолитических ферментов.

Известен способ трансдермального введения пептидов для лечения кожных заболеваний и/или улучшения трансдермальной доставки фармакологически активных агентов [6]. Суть изобретения заключается в трансдермальной доставке

лекарственных препаратов, в частности пептидов, белков, гликопротеинов и иных активных субстанций, с доказанным эффектом улучшения трансдермальной доставки. Изобретение также касается композиций на их основе, а также методов, улучшающих трансдермальную доставку терапевтических агентов и лекарств. В состав композиции

- карболовая кислота в концентрации от 0.01 до 30 весовых процентов,
- этиловый спирт в концентрации от 0.01 до 60 весовых процентов,
- неорганические соли в концентрации от 0.01 до 80 весовых процентов,
- желатирующие вещества в концентрации от 0.01 до 20 весовых процентов от состава композиции,
- фрагменты фага в качестве химических усилителей проницаемости кожи для лекарственных средств.

В одном из примеров, приведенных в данном изобретении, описывается применение раствора сульфата аммония, который в данном случае использовался для преципитации инсулина при его выделении и очистке, а не при трансдермальном введении. Преципитация сульфатом аммония белков и пептидов - один из наиболее широко применяемых методов в белковой химии. Использование фрагментов фагов применимо для ограниченного набора вводимых веществ, требует сложных генно-инженерных манипуляций (соответственно, реагентов, оборудования, квалифицированного персонала), а самое главное, каждый такой фьюжн-препарат, полученный с использованием фаговых фрагментов, будет уникален и должен заново проходить процедуру регистрации и получения разрешительной документации.

Известен способ [7] трансдермального введения полипептида - ботулотоксина, применяемого для лечения мышечных контрактур. Для повышения эффективности трансдермальной доставки используется энхансер (улучшитель) проницаемости кожи. В качестве такого улучшителя используется широкий спектр органических растворителей, наиболее эффективным из которых авторы указали этиловый спирт. Однако эффективность указанных энхансеров оказалась недостаточной и для ее повышения предложено применять дополнительное физическое воздействие (ионофорез), что уменьшает комплаентность терапевтического воздействия. Кроме того, этот подход неприменим для улучшения трансдермального введения протеолитических ферментов из-за возможности автолиза.

Известны и другие органические растворители и сурфактанты (например, производные пирролидона), применяющиеся для трансдермального введения белков и полипептидов [8]. Во всех описанных случаях модификации подвергается кожа с ее способностью пропускать биологически активные высокомолекулярные вещества.

Предлагаемый подход к решению задачи заключается в обратимой модификации структуры и свойств администрируемых молекул с их последующей ренатурацией после трансдермального введения.

Наиболее близким решением к предлагаемому способу можно считать способ, предложенный в патенте US №7384918 [9], в котором при трансдермальном введении полипептидов применяется энхансер.

Перед авторами заявляемого изобретения стояла задача повышения эффективности действия лекарственного средства за счет более эффективной системы неинвазивной трансдермальной доставки препарата до мишени.

Сущность предлагаемого способа трансдермального введения полипептидов в организм заключается в повышении эффективности трансдермального введения в организм полипептидов за счет применения в качестве энхансера препарата сульфата

аммония в концентрации 1,6 мМ - 4,0М (молярной объемной концентрации).

"М" - это молярность (молярная объемная концентрация) - количество растворенного вещества, выраженное в молях на единицу объема раствора.

Молекулярный вес сульфата аммония (безводного) - 132 у.е., моль - 132 г, 4М - 528 г на литр раствора. Объемная концентрация 1,6 мМ - 4,0 М соответствует 0,04-100% концентрации насыщения или 0,021-52,8 весовых процентов (г/объем).

В качестве полипептидов использованы терапевтически активные препараты из группы белков и пептидов, а также композиций и составов на их основе.

Такой способ сочетает химический и биохимический подходы. Сульфат аммония в процессе трансдермального введения лекарственных/косметических средств выполняет функции - энхансера и стабилизатора белков, кроме того, препятствует росту бактерий, за счет этого система для трансдермального введения упрощается и побочные эффекты сводятся к минимуму.

Препарат для трансдермального введения должен быть стабилен в течение долгого времени, эффективен при трансдермальной доставке, не должен повреждать кожу, вызывать раздражение, сенсibilизацию, а также не должен быть токсичным.

Система на основе сульфата аммония может быть использована для трансдермального введения практически любых белков и пептидов, влияющих на происходящие в тканях и клетках процессы, как природных, так и полученных биотехнологическим путем, например протеолитические ферменты, супероксиддисмутазы, глюкуронидазы, пептидогликаны, пептидные фрагменты ботулотоксина и инсулина, многие из которых в настоящее время вводятся только посредством инъекций.

При этом на распределение вводимых трансдермально белков и пептидов в тканях и органах влияет их аффинность к мишеням. Например, при правильно подобранном для топического нанесения на поверхность рубца количестве препарата Ферменкол большая часть его останется в ткани рубца, не проникая в кровоток.

Высокая растворимость сульфата аммония (примерно 4.1М), низкая цена и стабилизирующее влияние, которое он оказывает на большинство белков при концентрациях выше 0,5М, делает его применение весьма привлекательным. Кроме того, сульфат аммония в рабочих концентрациях нетоксичен и, более того, зарегистрирован как пищевая добавка E517, что существенно упрощает получение разрешительной документации на такие препараты. 0,5М - это концентрация сульфата аммония в водном растворе, но, если добавить неводные компоненты, например силиконовые гелевые основы, то концентрация сульфата аммония в расчете на общий объем может составить менее 0,025 весовых процентов, при этом эффективность его действия сохранится.

Сульфат аммония взаимодействует с белками по двум механизмам:

- сульфат-ионы делают молекулу белка более компактной (менее растворимой) за счет взаимодействия с положительно заряженными аминокислотами. Это

взаимодействие более эффективно при  $pH < pI$ .

- сульфат-ионы вызывают обезвоживание биополимеров. Каждый ион  $SO_4^{2-}$  связывает 13-15 молекул  $H_2O$  только в первом гидратном слое. Если одна молекула сульфата координирует даже 15 молекул  $H_2O$ , то 3М сульфат аммония связывает 45 из имеющихся в воде 55М молекул  $H_2O$ .

Эти же эффекты проявляются и при взаимодействии сульфата аммония с белками - структурными элементами кожи, в том числе рогового слоя, являющегося главным барьером для трансдермального введения любых веществ. Поэтому вполне вероятно,

что включение сульфата аммония в состав практически любых лекарственных препаратов, предназначенных для трансдермального введения, существенно увеличит их эффективность.

5 Так, при взаимодействии с индивидуальными протеолитическими ферментами из пищеварительных органов гидробионтов, обладающими коллагенолитической активностью, с их природными комплексами, а также композициям на их основе (например, с Ферменколом), сульфат аммония обратимо реагирует со свободными аминокислотными группами аминокислот, входящих в состав протеолитических ферментов, тем самым увеличивая проницаемость *stratum corneum* для трансдермально вводимого препарата. Помимо этого, сульфат аммония в составе лекарственных/косметических средств в концентрациях от 20 до 80% от насыщения обратимо модифицирует (инактивирует) протеолитические ферменты за счет преципитации, предотвращая их автолиз и существенно увеличивая сроки хранения содержащих их лекарственных/косметических средств. При нанесении композиции, содержащей полипептиды и сульфат аммония, на кожу гидрофобные модифицированные полипептиды преодолевают роговой слой и, постепенно растворяясь за счет воды, содержащейся в дерме, достигают мишени.

20 Осаждение сульфатом аммония нужно с осторожностью использовать для введения белков, требующих присутствия  $Ca^{2+}$  из-за низкой растворимости сульфата кальция.

Для эффективного трансдермального введения важны конечная концентрация целевого пептида/белка в растворе и соотношение гидрофильных и гидрофобных аминокислотных остатков на поверхности глобулы. Кроме того, для трансдермального введения белков/пептидов с молекулярным весом меньше 5-10 кДа могут быть применены дополнительные приемы, например добавление балластных белков.

30 Зависимость удельной активности препаратов, вводимых с помощью сульфата аммония, а также увеличение стабильности препаратов от концентрации в растворе сульфата аммония исследовалась на примере препарата Ферменкол *in vitro* (таблицы 1 и 2, соответственно).

35 В частности, авторами была решена задача неинвазивной трансдермальной доставки препарата Ферменкол, широко используемого для профилактики появления и устранения дефектов кожи (в т.ч. гипертрофических и келоидных рубцов) после хирургических операций, ожогов, ран, отморожений и угревой сыпи. Основными способами введения Ферменкола в настоящее время являются ионо- и сонофорез, а также электропорация, что сужает возможности самостоятельного применения Ферменкола в простых случаях.

Таблица 1.

Зависимость удельной активности препарата Ферменкол по гидролизу коллагенов I и III типов от концентрации в растворе сульфата аммония.

№	Концентрация сульфата аммония в растворе препарата Ферменкол, мМ	Концентрация сульфата аммония в растворе препарата Ферменкол, % от насыщения	Конечная концентрация сульфата аммония в реакционной смеси, мМ	Удельная активность препарата Ферменкол по гидролизу коллагена I (Collagen Type I, Sigma-Aldrich, №C9879), ед. Мэндл	Удельная активность препарата Ферменкол по гидролизу коллагена III, (Collagen Type III, Sigma-Aldrich, №C3511), ед. Мэндл
1	0	0	0,00	125,4	188,10
2	50	1,25	0,50	131,8	205,61
3	200	5,00	1,98	667,7	951,55
4	1000	25,00	9,90	672,4	1008,60
5	2000	50,00	19,80	678,2	1003,74

4	3000	75,00	29,70	671,3	997,98
5	4000	100,00	39,60	679,0	1001,64

Исследования проводились следующим образом. Были приготовлены растворы препарата Ферменкол, концентрация 1 мг/мл, содержащие 0,1М и 2М сульфат аммония. В каждую пробирку типа Эппендорф поместили по 10 мг коллагена I и III типов, по 1 мл 50 мМ трис-НСl, рН 7,5, и добавили по 10 мкл раствора препарата Ферменкол. Реакцию и измерение удельной активности растворов препарата Ферменкол, а также построение калибровочной кривой проводили по стандартной методике [10].

Результаты измерений активности препарата Ферменкол по гидролизу коллагенов I и III типов (Sigma) показывают, что присутствие сульфата аммония в реакционной смеси в концентрации от 2 мМ (выделено в таблице красным цветом) увеличивает активность Ферменкола более чем в 5 раз (см. примеры 1 и 5 последнего столбца). По-видимому, это связано с увеличением доступности коллагенов для гидролиза. Дальнейшее увеличение концентрации сульфата аммония в реакционной смеси на активность Ферменкола не влияет.

Таблица 2.

Зависимость стабильности препарата Ферменкол при хранении от концентрации в растворе сульфата аммония.

№	Концентрация сульфата аммония в растворе препарата Ферменкол, М	Время хранения препарата Ферменкол в засторе при температуре +25°C, сут							
		0		7		21		45	
		Удельная активность фракции по азоказеину, опт. ед.	Удельная активность фракции по азоказеину, % от исходной	Удельная активность фракции по азоказеину, опт. ед.	Удельная активность фракции по азоказеину, % от исходной	Удельная активность фракции по азоказеину, опт. ед.	Удельная активность фракции по азоказеину, % от исходной	Удельная активность фракции по азоказеину, опт. ед.	Удельная активность фракции по азоказеину, % от исходной
1	0	11,00	100	10,52	95,64	9,23	83,91	7,65	69,55
3	0,2	10,78	100	10,54	97,77	10,31	95,64	10,02	92,95
4	1,0	10,89	100	10,79	99,10	10,65	97,82	10,65	97,82
5	2,0	10,67	100	10,70	100,28	10,54	98,78	10,71	100,37
5	4,0	10,56	100	10,64	100,73	10,70	101,29	10,62	100,54

Стабильность препарата Ферменкол определяли по гидролизу азоказеина в соответствии с модифицированной методикой [11]. Азоказеин - это белковый субстрат для тестирования протеолитической активности, представляет собой казеин с «навешанными» на него азидными группами, окрашивающими белок в оранжевый цвет. При гидролизе азоказеина оранжевый краситель выходит в раствор, и по интенсивности окраски раствора можно судить об активности протеолитического фермента. Поскольку протеазы - компоненты Ферменкола - сравнительно небольшие белки, содержат по 1 активному центру, то их активность по гидролизу азоказеина прямо пропорциональна их коллагенолитической активности, а времени и усилий этот метод требует гораздо меньше, чем метод Мэндр.

Исследования осуществлялись следующим образом.

Были приготовлены растворы препарата Ферменкол, концентрация 1 мг/мл, содержащие 0М, 0,2М, 1М, 2М и 4М сульфат аммония. Результаты измерений активности растворов препарата Ферменкол показали, что при концентрации сульфата аммония 1М (25% от насыщения) раствор Ферменкола практически стабилен.

Повышение эффективности переноса белков путем использования в трансдермальной системе сульфата аммония было подтверждено экспериментами in

in vitro с использованием диффузионной ячейки Франца [12].

Эксперименты проводили на коже самцов крыс линии Спрэг-Доули, вес 200-250 г, взятой с передней брюшной стенки. С кожи удаляли шерсть и жировой слой, вымачивали в физиологическом растворе и помещали в диффузионную ячейку. В донорскую камеру ячейки вносили растворы  $^{14}\text{C}$ -меченного препарата Ферменкол [13]

Для сохранения интактности рогового слоя в донорскую камеру помещали 0,05 М трис-НСI буферный раствор, рН 7,5, толщина слоя один миллиметр, нижняя часть кожи в рецепторной камере находилась в той же среде.

Донорские фазы изготавливали из раствора Ферменкола, 0,95 мг/мл и  $^{14}\text{C}$ -меченного препарата Ферменкол с концентрацией 0,05 мг/мл [13], с удельной концентрацией метки 25 mCi/mg, содержащие сульфат аммония в различных концентрациях (Табл.3).

Через соответствующие интервалы времени образцы рецепторной фазы отбирали и замещали свежим рецепторным раствором. Количество вышедшей в рецепторный раствор радиоактивной метки измеряли и использовали для оценки проникающей способности Ферменкола.

Зависимость эффективности трансдермального переноса протеаз-компонентов Ферменкола от концентрации в растворе сульфата аммония.					
Концентрация сульфата аммония в растворе Ферменкола, М	Время инкубации, мин				
	10	0.1	30	60	120
$^{14}\text{C}$ метка в рецепторном растворе, % от исходной					
0	0,02	0,05	0,06	0,13	0,33
0,2	6,33	12,67	16,00	28,80	41,10
0,5	7,67	16,87	23,00	48,30	50,23
1,0	9,00	17,10	27,00	54,00	54,30
2,0	8,67	17,33	26,00	47,00	53,00

Результаты, приведенные в таблице 3, свидетельствуют о том, что при отсутствии во вводимом трансдермально препарате Ферменкол сульфата аммония проницаемость кожи для препарата очень невелика, в то время как введение в состав препарата даже небольших количеств сульфата аммония увеличивает эффективность трансдермальной терапевтической системы в 150 раз. Увеличение концентрации сульфата аммония в составе трансдермальной системы до 1М увеличивает эффективность системы незначительно, однако, насыщение кожи вводимым трансдермально препаратом наступает быстрее. Дальнейшее увеличение концентрации сульфата аммония в препарате на эффективность системы не влияет и имеет смысл для создания градиента концентрации при трансдермальном введении белков/пептидов в глубокие слои кожи. Кроме того, при использовании сульфата аммония наблюдается равномерное увеличение концентрации препарата во времени, то есть временная зависимость нулевого порядка, что позволяет более точно рассчитывать дозировки препарата.

Таким образом, авторам удалось добиться эффективности трансдермального введения в организм полипептидов за счет использования в качестве энхансера сульфата аммония. Удалось также определить наиболее рациональную концентрацию сульфата аммония во вводимом растворе.

Исследования авторов доказали, что предлагаемый способ с использованием сульфата аммония может быть применен для трансдермального введения практически

для любых терапевтически активных препаратов из группы белков и пептидов, а также композиций и составов на их основе, многие из которых в настоящее время вводятся только посредством инъекций. При трансдермальном введении терапевтически активных препаратов из белков и пептидов с молекулярным весом менее 5-10 кДа добавляют балластные белки.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Swarbrick J, Lee G, Brom J, Gensmantel NP. (1984) Drug permeation through human skin II: Permeability of ionizable compounds. *J Pharm Sci* 73(10):1352-1355.

2. Патент США №6444234, 3.09.2002г. Compositions for rapid and non-irritating transdermal delivery of pharmaceutically active agents and methods for formulating such compositions and delivery thereof. Kirby; Kenneth B, Pettersson, Jr.; Berno I. R.

3. EP0817621, 12.26.2007г. PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TRANSDERMIC DELIVERY Saunal, Henry, Illel, Brigitte.

4.RU2078561 КОСМЕТИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО, ПРЕДОТВРАЩАЮЩЕЕ СТАРЕНИЕ КОЖИ Стекольников Леонид Ильич; Ракитская Галина Александровна; Самойленко Игорь Иннокентьевич; Талызина Тамара Александровна, 1997.

5. Heather A.E. Benson. Transdermal Drug Delivery: Penetration Enhancement Techniques. *Current Drug Delivery*, 2005г., 2, 23-33.

6. Заявка на изобретение US № 20100040702 02.18.2010ш. Chemical composition for skin care formulations Grascha; Pierre Bruno ; Battut; Mylene.

7. Патент США №7659252, 9.02.2010г. Transdermal delivery peptides and method of use thereof Wen; Long-Ping; et al.

8. Sasaki, H. et al., Effect of pyrrolidone derivatives on lipid membrane and protein conformation as transdermal penetration enhancer, *J. Pharmacobio-Dyn.*, 13; 468-474: 1990.

9. Патент США № 7384918, 10.06.2008г. Botulinum toxin for treating muscle contracture. Graham; Herbert Kerr.

10. Mandl, I., MacLennan, J. D., and Howes, E. L. (1953) Isolation and characterization of proteinase and collagenase from *Cl. histolyticum*. *J. Clin. Invest.*, 32, 1323.

11. Honda, T., Lertpocasombat, K., Hata, A., Miwatani, T. and Finkelstein, R.A. (1989) Purification and characterization of a protease produced by *Vibrio cholerae* non-O1 and comparison with a protease of *V. cholerae* O1. *Infect. Immun.* 57, 2799-2803.

12. Franz, T.J. (1978). The finite dose technique as a valid in vitro model for the restudy of percutaneous absorption in man. *Curr. Probl. Dermatol.*, 7, pp. 58-68.

13.Klimova O.A., Zolotarev Yu.A., Chebotarev V.Yu. (1993) The preparation of soft-tritium-labelled proteins and their application for the collagenolytic activity investigations. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* V. 195. pp. 758-761.

#### Формула изобретения

1. Способ трансдермального введения в организм полипептидов, включающий

приготовление раствора из вводимого полипептида и энхансера, отличающийся тем, что в качестве энхансера использован сульфат аммония в концентрации 1,6 мМ-4,0 М.

5 2. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве полипептидов использованы терапевтически активные препараты из группы белков и пептидов, а также композиций и составов на их основе.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что при трансдермальном введении терапевтически активных препаратов из белков и пептидов с молекулярным весом менее 5-10 кДа добавляют балластные белки.

10 4. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве терапевтически активного препарата использован препарат Ферменкол.

15

20

25

30

35

40

45

50