



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК

A61K 8/19 (2006.01)

A61K 8/73 (2006.01)

A61K 8/02 (2006.01)

A61K 8/46 (2006.01)

A61K 8/81 (2006.01)

A61Q 9/04 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2014121821, 30.11.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
30.11.2011Дата регистрации:
15.09.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.11.2011

(43) Дата публикации заявки: 27.01.2016 Бюл. № 3

(45) Опубликовано: 15.09.2017 Бюл. № 26

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 30.06.2014(86) Заявка РСТ:
EP 2011/071386 (30.11.2011)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2013/079105 (06.06.2013)Адрес для переписки:
190000, Санкт-Петербург, ВОХ-1125,
ПАТЕНТИКА

(72) Автор(ы):

КИДАНТ Ромайн Рохер (ES),
ДЕ МИГЕЛЬ КЛАВЕ Игнасио (ES),
КРЕУСЕР Марк (ES)

(73) Патентообладатель(и):

ФУНДАСИО ИНСТИТУТ ДЕ
СИЕНСЬЕС ФОТНИКЕС (ES),
ИНСТИТУСИО КАТАЛАНА ДЕ
РЕСЕРКА И ЭСТУДИС АВАНКАТС (ES)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: US 2005/203495 A1, 15.09.2005. WO
2006/122222 A2, 16.11.2006. WO 01/26635 A2,
19.04.2001. Xiaohua Huang Plasmonic photo-
thermal therapy (PPTT) using gold
nanoparticles, Lasers Med. Sci., 2008, 23(3), 217-
228.

(54) СПОСОБ УЛУЧШЕННОЙ ФОТОЭПИЛЯЦИИ НА ОСНОВЕ НАНОКОМПЛЕКСОВ МЕТАЛЛОВ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к медицине, а именно к фармакологии, и раскрывает композицию для местного применения на коже для фотоэпиляции, способ фотоэпиляции и применение наноконплексов в способе эпиляции. Композиция характеризуется тем, что содержит наноконплексы, которые содержат наночастицы, поддерживающие локализованный поверхностный плазмонный резонанс, покрытые химическим соединением, выбранным из группы,

состоящей из полиионных полимеров или гетеробифункционального соединения, относящегося к типу собирающегося на поверхности монослоя. Способ фотоэпиляции включает этап нанесения композиции для местного применения согласно настоящему изобретению на поверхность кожи и воздействие излучением на указанную поверхность кожи. 3 н. и 7 з.п. ф-лы, 10 ил., 3 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 8/19 (2006.01)*A61K 8/73* (2006.01)*A61K 8/02* (2006.01)*A61K 8/46* (2006.01)*A61K 8/81* (2006.01)*A61Q 9/04* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2014121821, 30.11.2011**(24) Effective date for property rights:
30.11.2011Registration date:
15.09.2017

Priority:

(22) Date of filing: **30.11.2011**(43) Application published: **27.01.2016** Bull. № 3(45) Date of publication: **15.09.2017** Bull. № 26(85) Commencement of national phase: **30.06.2014**(86) PCT application:
EP 2011/071386 (30.11.2011)(87) PCT publication:
WO 2013/079105 (06.06.2013)Mail address:
**190000, Sankt-Peterburg, VOKH-1125,
PATENTIKA**

(72) Inventor(s):

**KIDANT Romajn Rokher (ES),
DE MIGEL KLAWE Ignasio (ES),
KREUSER Mark (ES)**

(73) Proprietor(s):

**FUNDASIO INSTITUT DE SIENSES
FOTONIKES (ES),
INSTITUSIO KATALANA DE RESERKA I
ESTUDIS AVANKATS (ES)**(54) **METHOD FOR IMPROVED PHOTOEPILATION BASED ON METAL NANOCOMPLEXES**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: composition contains nanocomplexes that contain nanoparticles supporting localized surface plasmon resonance coated with a chemical compound selected from the group consisting of polyionic polymers or a heterobifunctional compound belonging to the type of a monolayer collected on the

surface. The photoepilation method comprises the step of topical composition applicatopn according to the present invention to the skin surface and the said skin surface exposure to radiation.

EFFECT: method improvement.

10 cl, 10 dwg, 3 tbl

Настоящее изобретение относится к области косметологии, и в частности к фотозпиляции. Более конкретно, данное изобретение относится к композиции для местного применения при фотозпиляции. Композиция состоит из резонансных нанокмплексов, которые при нанесении на поверхность кожи способны проникать в
 5 волосяной фолликул и облеплять волосяную кутикулу. После прикрепления внутри волосяного фолликула они могут быть локально нагреты путем облучения, для того чтобы повредить корень волоса и/или замедлить процесс регенерации волоса. Настоящее изобретение также относится к способу фотозпиляции, который включает этапы (i) нанесения указанной композиции на поверхность кожи и (ii) применения облучения к
 10 указанной поверхности кожи. Важное преимущество данного способа заключается в одинаковой применимости его ко всем типам волос (темным или светлым) вне зависимости от содержания меланина.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Удаление лишних волос является распространенной косметической задачей.

15 Традиционные способы удаления волос, которые включают бритье, удаление воском, выщипывание, применение кремов для удаления волос и электролиз, позволяют, тем не менее, удалить волосы только на некоторое время, могут быть болезненными и, в зависимости от конкретного способа, требовать многократного применения.

Фотозпиляция (также известная как удаление волос, основанное на облучении светом)
 20 является безоперационным косметическим способом удаления лишних волос и снижения или предотвращения их регенерации, основанным на технологии облучения светом. Термические эффекты в ходе облучения источником света, которым может быть как лазер, так и интенсивный импульсный свет (ИИС), являются основной причиной изменения или повреждения волосяного фолликула. Термическое повреждение
 25 волосяного фолликула является следствием поглощения света эндогенным меланином. Поэтому результаты зависят от пигментации волос, количества меланина, присутствующего в волосе, и соотношения между концентрацией меланина в волосяной луковице и эпидермисе.

Поскольку в основе данных подходов лежит природное различие между цветом
 30 (поглощением) волос и кожи, они не подходят для светлых волос (белых, светлых и рыжеватых), и даже в идеальном случае - при темных волосах на бледной коже - требуемые значения интенсивности света являются причиной локальных повреждений кожи, которые могут оставаться продолжительное время или даже постоянно. Были разработаны способы для устранения этих недостатков, включая применение экзогенных
 35 хромофоров для повышения эффективности поглощения света волосяным фолликулом по сравнению с поглощением эндогенным меланином и, таким образом, повышения безопасности процедуры путем уменьшения требующейся энергии лазера.

В связи с этим в патенте США 6287549 описан один из новых подходов к удалению волос. Фотосенсибилизаторы инкапсулированы в микросферы размером от 3 до 10
 40 микрон в диаметре для обеспечения направленного нацеливания на фолликулы до облучения лазером. В целом эти фотосенсибилизаторы являются экзогенными хромофорами, и их применение в сочетании со светом активирует их. Однако этот подход имеет, в сравнении с другими, важный недостаток, заключающийся в том, что доставка микросфер является неспецифичной, поскольку они нацелены не только на
 45 волосяные фолликулы, а могут быть также найдены и в других участках кожи, таких как каналы потовых желез, где они могут вызвать повреждение и/или обесцвечивание кожи под воздействием облучения.

В патенте США 2003/0059386 предложены композиции для местного применения,

способные нацеливаться на волосяные фолликулы после первоначального удаления волос из фолликул. Указанные композиции способны селективно вводить фотосенсибилизирующие или соносенсибилизирующие соединения, инкапсулированные в микрочастицы размером от 1 до 70 микрон. Композицию местно наносят на кожу, после чего соединения высвобождаются из микрочастиц в волосяной фолликул и окружающие ткани, а затем на кожу воздействуют электромагнитным или ультразвуковым излучением. Таким образом, соединения оказываются активированными, изменяя и/или убивая клетки, ответственные за рост волос. Этот метод удаления волос, тем не менее, не является полностью приемлемым, поскольку микрочастицы достигают окружающих тканей, что при облучении приводит к значительным нежелательным повреждениям. Кроме того, чтобы активировать соединения, необходимы высокие энергии излучения, что приводит к раздражению и эритеме.

Таким образом, ввиду приведенных выше примеров, в данной области остается необходимость в создании альтернативных и эффективных способов фотоэпиляции и композиций, которые позволяют преодолеть все или по меньшей мере часть вышеуказанных недостатков.

Решение, предложенное в настоящем изобретении, основано на обнаруженном авторами настоящего изобретения факте, что резонансные наночастицы (НЧ), покрытые по меньшей мере химическим соединением, наносимым на кожу, могут быть выполнены с обеспечением нацеливания на волосяной фолликул и прикрепляться к волосяной кутикуле посредством электростатических взаимодействий или с обеспечением специфичного связывания с целевой молекулой, присутствующей в базальных клетках около корня волоса. После того как покрытые резонансные НЧ оказались присоединенными к волосу, их можно местно и эффективно нагреть при освещении благодаря их резонансным свойствам (со сниженной интенсивностью/энергией излучения) и разрушить волос без повреждения окружающих тканей и/или желез. Данный подход имеет важное преимущество, заключающееся в том, что излучение, необходимое для данного способа фотоэпиляции, может таким образом иметь пониженную интенсивность по сравнению со стандартными способами фотоэпиляции.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фигура 1: Схематическая иллюстрация электростатического взаимодействия анионных и катионных наноконплексов с волосяной кутикулой.

Фигура 2: Представляет сравнение спектра наностержней золота в присутствии поверхностно-активного гексадецилцетилтриметиламмония бромид (ЦТАБ) (НС_ЦТАБ) и после реакции обмена ЦТАБ на хитозан (НС-Хит).

Фигура 3: Спектры поглощения наностержней золота в различных пропорциях, проводящих к ЛПП резонансным максимумам в диапазоне от 700-900 нм (подробности см. в Примере 1). На изображении просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) представлены наностержни (НС), имеющие максимум резонанса ЛПП около 820 нм.

Фигура 4: Сравнение стабильности НС-Хит золота и исходных НС золота в поверхностно-активном ЦТАБ как функции от времени при 30°C.

Фигура 5: Изображения двухфотонной люминесцентной микроскопии, демонстрирующие взаимодействие наноконплексов с различными покрытиями (наностержни золота, НСЗ) с волосяными кутикулами человека: НК-ПЭГ (наноконплекс с полиэтиленгликолем), НК-ПСС (наноконплекс с полистирол сульфонатом) и НК-Хит (наноконплекс с хитозаном).

Фигура 6: а) и б) Изображения двухфотонной люминесцентной микроскопии волос

где, как было показано, наноконплексы проникли в волосяной фолликул (приблизительно на 1 мм вглубь), демонстрирующие присоединение наноконплексов хитозана с волосяной кутикулой, в) Изображение необработанной волосяного фолликула как стандарта аутофлюоресценции.

5 Фигура 7: Схематическое изображение взаимодействия наноконплексов с волосяной кутикулой, наблюдавшегося на Фигуре 6.

Фигура 8: а) Схематическое изображение неповрежденного корня волоса

б) Изображения светлорольной микроскопии корня волоса без повреждения, наблюдаемые после обработки интенсивным импульсным светом (ИИС).

10 Фигура 9: а) Схематическое изображение обычно наблюдаемой степени повреждения корня волоса

б) Изображения светлорольной микроскопии степени повреждения, обычно наблюдаемой после обработки интенсивным импульсным светом (ИИС).

Фигура 10: а) Схематическое изображение обычно наблюдаемой тяжелой степени

15 повреждения корня волоса
б) Изображения светлорольной микроскопии тяжелой степени повреждения, обычно наблюдаемой после обработки интенсивным импульсным светом (ИИС).

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к новой композиции для
20 местного применения в фотоэпиляции, содержащей наноконплексы, которые могут быть нацелены на и проникать в волосяной фолликул после нанесения на кожу и прикрепляться к волосяной кутикуле и/или к базальным клеткам около корня волоса, где они накапливаются. Такая композиция будет в дальнейшем также называться композицией согласно настоящему изобретению.

25 Наноконплекс, присутствующий в композиции согласно настоящему изобретению, содержит наночастицу (НЧ), поддерживающую локализованный поверхностный плазмонный (ЛПП) резонанс, которая покрыта по меньшей мере одним химическим соединением, которое способно связываться с волосом.

В соответствии с настоящим изобретением, указанное химическое соединение выбрано
30 из группы, состоящей из полиионных полимеров, гетеробифункциональных соединений, относящихся к типу собирающегося на поверхности монослоя, антител и их смесей.

Материал поверхности НЧ в соответствии с настоящим изобретением, как известно, является универсальной поверхностью, которая может быть функционализирована различными видами химических соединений, которые хорошо известны в данной
35 области. Поэтому в соответствии с данным изобретением наноконплексы композиции согласно настоящему изобретению могут быть легко получены согласно хорошо известным способам, которые включают реакцию НЧ с по меньшей мере одним химическим соединением, как описано далее. Указанные выше химические соединения способны образовывать покрытие НЧ путем образования по меньшей мере химической
40 связи (координационной или ковалентной) и, к тому же, они дают возможность получившемуся наноконплексу прочно связываться с волосом.

В соответствии с конкретным вариантом реализации настоящего изобретения указанное химическое соединение имеет электростатическое сродство с ороговевающими структурами волосяной кутикулы. В конкретном варианте реализации это химическое
45 соединение выбрано из группы, состоящей из полиионных полимеров (как анионных, так и катионных) и их смесей. В другом конкретном варианте реализации указанное соединение выбрано из группы гетеробифункциональных соединений, относящихся к типу собирающегося на поверхности монослоя. Полиионные полимеры и собирающиеся

на поверхности монослои гетеробифункциональных соединений способны прочно прикрепляться к волосяной кутикуле представленной отрицательно заряженной ороговевшей частью при помощи электростатических взаимодействий. Фигура 1 схематически иллюстрирует случай взаимодействия двух по-разному покрытых наноконплексов с волосяной кутикулой, полианионного и поликатионного наноконплексов.

В соответствии с другим вариантом реализации настоящего изобретения указанное химическое соединение специфически связывается через рецептор-опосредованные процессы с молекулой-мишенью, присутствующей на базальных клетках волос, отвечающих за их рост, чтобы привести к максимальному и необратимому повреждению волос. В этом случае примерами вышеупомянутых соединений являются антитела, которые могут быть легко получены и впоследствии химически модифицированы, чтобы их было возможно привить к поверхности НЧ в соответствии с хорошо известными методами.

Как было описано, многие полиионные полимеры реагируют с поверхностью НЧ и способны эффективно покрывать их, перенося внутренние свойства полимера на НЧ. Подходящими полимерами являются полианионные и поликатионные полимеры и их смеси.

В принципе наноконплексы, присутствующие в композиции согласно настоящему изобретению, могут быть представлены любым полианионным полимером в качестве покрытия, предпочтительно косметически или фармацевтически приемлемыми полимерами. Наиболее предпочтительные полианионные полимеры выбраны из группы, образованной биосовместимыми поликарбоксилатами, такими как карбоксиметилцеллюлоза и полиакрилаты, и полимерами, которые обычно используются в продуктах для ухода за волосами и кондиционирующих продуктах, такими как полистиролсульфонаты, полимеры полиакриловых кислот (Carbopol®) и сополимеры винилацетата и кротоновой кислоты. Также могут быть использованы полианионные полимеры с различной молекулярной массой.

Также, в принципе, наноконплексы, присутствующие в составе композиции согласно настоящему изобретению могут быть покрыты любым поликатионным полимером, преимущественно косметически или фармацевтически приемлемыми полимерами. Поликатионные полимеры в целом демонстрируют сродство к НЧ и вызывают образование многочисленных слабых ковалентных и/или координационных связей. Предпочтительные поликатионные полимеры являются биосовместимыми полимерами, такими как хитозаны и часто используемыми в продуктах для ухода за волосами и кондиционирования, включая четвертичные аммониевые полимеры, такие как серии полимеров поликватерний-п, полиаллиламмониевые полимеры и их сополимеры с полиаминами и полиглюкозаминами. Специфические взаимодействия первичных аминов с поверхностью НЧ хорошо описаны и могут быть приравнены к слабым ковалентным связям. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что полиаминсодержащие полимеры из очень стабильных слоев покрытия на поверхности НЧ ответственны за мультисвязывающее взаимодействие, которое делает возможным получение очень стабильных поликатионных наноконплексов, дающих умеренный катионный заряд (что характерно для аминогрупп). На Фигуре 4, например, показана повышенная стабильность НС золота покрытых хитозаном в сравнении с исходными НС в ЦТАБ. Эти поликатионные наноконплексы особенно подходят для настоящей заявки, благодаря тому факту, что этот умеренный катионный заряд гарантирует эффективное взаимодействие с высоко заряженными волосяными кутикулами, в то же время

демонстрирует более слабое взаимодействие с другими тканями.

В частности было показано, что хитозан, который является биodeградируемым и биосовместимым полимером, дает сильное взаимодействие через его аминогруппы с поверхностью НЧ с одной стороны, и с отрицательно заряженной ороговевшей
5 волосяной кутикулой с другой стороны, гарантируя хорошее связывание наноконплексов с волосом (см. Фигуру 5).

Таким образом, согласно с предпочтительным вариантом реализации настоящего изобретения композиция согласно настоящему изобретению содержит наноконплексы, где химическое соединение представляет собой поликатионный полимер, более
10 предпочтительно полимер, содержащий полиамин и даже более предпочтительно хитозан.

Несмотря на то, что авторы настоящего изобретения показали, что адгезия волос проявляется более эффективно с поликатионными наноконплексами, благодаря общему отрицательному заряду волосяной кутикулы, полианионные наноконплексы также
15 показывают эффективное взаимодействие с волосами, существенным образом благодаря наличию некоторых положительно заряженных точек в сложных протеиновых биологических структурах волоса. Таким образом, в соответствии с конкретным вариантом применения композиция исследования содержит поликатионные наноконплексы.

Выбор использования композиций, содержащих поликатионные и полианионные наноконплексы или их смеси, может быть подвержен влиянию таких аспектов, как потребности состава и экономические вопросы.

В соответствии с конкретным вариантом реализации НЧ, образующие наноконплекс образованы любым материалом, способным поддерживать локализованный
25 поверхностный плазмонный (ЛПП) резонанс. ЛПП резонансы связаны с усилением, как рассеяния, так и поглощения света, падающего на частицу. Усиленное поглощение ответственно за эффективный разогрев НЧ. Локализованное тепло, созданное наноконплексом, при контакте с волосом, оказывается, таким образом, непосредственно передано ему, повреждая его и/или приводя к временному или постоянному
30 повреждению базальных клеток, ответственных за процесс регенерации. В принципе любой материал, способный поддерживать ЛПП резонанс может быть применен для ввода настоящего изобретения в практику. Примерами материалов, способных поддерживать ЛПП резонанс и тем самым пригодных для настоящего изобретения, являются металлы и полупроводники. В соответствии с конкретным вариантом
35 реализации НЧ является металлической. Примерами металлов являются золото, серебро, медь, алюминий и т.д. и любая их смесь. В предпочтительном варианте реализации НЧ является золотой.

В соответствии с другим вариантом реализации НЧ, образующие наноконплекс, являются наноболочками, способными поддерживать ЛПП резонанс. Вышеупомянутые
40 наноболочки являются широко известными структурами состоящими из ядра из диэлектрического материала и тонкого металлического слоя, покрывающего ядро. Типичным диэлектрическим материалом, например, является кремний, но им также может быть и любой другой диэлектрический материал, а тонкий металлический слой состоит из любого из металлов упомянутых выше, предпочтительно золота.

Наноконплексы в данном изобретении разработаны так, чтобы максимум ЛПП резонанса был заключен в диапазоне 650-1200 нм, который является интервалом, в котором поглощение и, таким образом, фотонагревание биологических тканей минимально. Таким образом, различие поглощения между наноконплексами и

окружающими тканями является максимальным и возможного фототермического повреждения, оказанного на окружающие ткани и/или железы, удастся избежать. В соответствии с предпочтительным вариантом реализации, наноконплексы обладают максимумом ЛПП резонанса в диапазоне между 700 и 900 нм.

5 Такие наноконплексы могут быть легко получены специалистом в данной области техники, чтобы они обладали ЛПП резонансом, который требуется в данном изобретении. Специалист в данной области техники может с одной стороны легко получить, в соответствии с хорошо известными способами в данной области техники, НЧ демонстрирующие определенный максимум резонанса, например, в пределах
10 интервала между примерно 650-1200 нм. С другой стороны, что также является хорошо известным фактом, который учитывает специалист, когда разрабатывает наноконплексы, которые подходят для использования в данном изобретении, заключается в том, что получение наноконплексов путем покрытия наночастиц химическими соединениями, в общем может приводить к изменению максимумов ЛПП
15 резонанса обычно на величину от 10 нм до 20 нм. Это небольшое изменение проявляет минимальное влияние на резонанс в конечных наноконплексах, так как 10-20 нм - это значительно более малый диапазон, чем ширина полосы резонанса ЛПП, которая обычно составляет порядка 100 нм. Это небольшое изменение проиллюстрировано на Фигуре 2, где приведен конкретный случай спектра наностержней золота перед
20 покрытием (как суспензии в присутствии его первоначального поверхностно-активного вещества ЦТАБ) и после замены двойного слоя ЦТАБ на хитозан.

НЧ резонансного наноконплекса в принципе может иметь любую форму и размер, поскольку ее ЛПП резонанс таков, что после ее покрытия выбранным химическим соединением полученный наноконплекс обладает максимумом ЛПП резонанса между
25 650-1200 нм и более предпочтительно между 700 и 900 нм.

В этом отношении также хорошо известно, что геометрия НЧ влияет на ее резонанс и способность к нагреванию. В соответствии с предпочтительным вариантом реализации НЧ являются наностержнями золота, так как вытянутые золотые НЧ подобного типа создают больше тепла, чем, например, наносферы золота в том же объеме (G. Baffou,
30 R. Quidant, C. Girard. Heat generation in plasmonic nanostructures: Influence of morphology Appl. Phys. Lett. 2009, 94, 153109). Это свойство интересно в рамках настоящего изобретения, так как целью является повреждение волос путем нагревания и большее количество тепла очевидно вызывает большее повреждение волос. Наностержни золота (НСЗ), подходящие для применения настоящего изобретения на практике, могут быть
35 легко получены в соответствии со способами хорошо известными в данной области техники.

В соответствии с конкретным вариантом реализации, НСЗ получены через зародыши весьма известным способом мокрой химии (Nikoobakht, B., El-Sayed, M.A. Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods Using Seed-Mediated Growth Method. Chem. Mater.
40 2003, 15, 1957-1962), который дает максимально однородный размер частиц. Соотношение сторон НСЗ полученное по этому способу может быть легко и тщательно настроено специалистом, так что полученные НСЗ демонстрируют желаемый максимум резонанса ЛПП между примерно 650-1200 нм и более предпочтительно между примерно 700-900 нм. Пример 1 иллюстрирует зародышевый способ мокрой химии, НСЗ в водной
45 суспензии в присутствии поверхностно-активного вещества, гексадецилтриметиламмония бромид (ЦТАБ). Фигура 3 демонстрирует различные спектры НСЗ, настроенных на диапазон между 700-900 нм путем варьирования соотношения сторон НСЗ. Для справки, приведено изображение проникающей

электронной микроскопии (ПЭМ), изображающее сторону НСЗ обладающего максимумом резонанса ЛПП около 820 нм.

В соответствии с другим вариантом реализации настоящего изобретения, НСЗ и любые НЧ в целом с максимумом резонанса ЛПП на длинах волн выше 800 нм, могут быть выбраны, если темную кожу (благодаря высокой концентрации меланина) нужно обработать композицией согласно настоящему изобретению, чтобы избежать поглощения света меланином в коже (поглощение света меланином сильно снижается при длинах волн выше чем 800 нм).

В конкретном варианте реализации настоящего изобретения сначала синтезируют водную суспензию НСЗ в присутствии поверхностно-активного ЦТАБ. Затем получают наноконплексы путем обмена двойного слоя лабильного поверхностно-активного вещества с НСЗ на полиионные полимеры, либо поликатионные, либо полианионные.

Этого достигают путем понижения концентрации поверхностно-активного вещества ниже критической концентрации мицеллообразования, равной 10 мМ, путем многократного центрифугирования и циклов повторного диспергирования и выдерживания полученной суспензии в растворе выбранного полимера, как продемонстрировано в Примере 2 для хитозана.

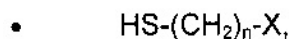
Стабильность полученных наноконплексов определяли в средах различного состава и контролировали по их характеристичному спектру резонанса ЛПП через некоторое время (периодические проверки плазмона). Пример этого можно увидеть в Примере 3 и на Фигуре 4. Общие размеры наноконплексов определены при помощи измерений ПЭМ. Например, наноконплекс, демонстрирующий основной резонанс 820 нм, имеет размеры приблизительно 12×50 нм.

Наноконплексы, присутствующие в композиции согласно настоящему изобретению, могут иметь собирающийся на поверхности монослой (СПМ) в качестве покрытия, предпочтительно косметически или фармацевтически приемлемого покрытия.

Вышеупомянутые наноконплексы могут быть с легкостью получены при помощи хорошо известных процессов, включая обмен лигандов поверхностно-активного вещества на НЧ на гетеробифункциональное соединение, относящееся к типу собирающегося на поверхности монослоя, для получения покрытой НЧ СПМ.

Использованное в настоящем изобретении гетеробифункциональное соединение, относящееся к типу собирающегося на поверхности монослоя, представляет собой молекулу, которая содержит по меньшей мере тиольную группу на одном конце молекулы и по меньшей мере одну отличающуюся отрицательно или положительно заряженную группу, способную закрепиться на внешней поверхности покрытия наноконплекса так, чтобы он мог прочно связываться с волосом. В принципе остальная часть структуры гетеробифункционального соединения, относящегося к типу собирающегося на поверхности монослоя, не имеет ограничений и может представлять любую возможную структуру. Примерами отрицательно или положительно заряженных функциональных групп являются карбоксилаты, сульфонаты, вторичные или третичные аминогруппы и четвертичные аммониевые соли. Методика получения вышеупомянутых наноконплексов представлена в Примере 4.

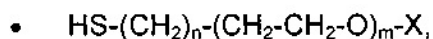
Примеры этих гетеробифункциональных соединений, относящихся к типу собирающегося на поверхности монослоя, представляют собой следующую общую формулу:



где X представляет собой -COOH, -SO₃H, -N(CH₃)₂, или -N(CH₃)₃⁺Cl и n составляет

от 2 до 22, предпочтительно от 10 до 18.

Другими примерами, которые похожи на приведенный выше пример, но включают и повторяющийся фрагмент этиленгликоля, являются соединения, представляющие собой следующую общую формулу:



где X представляет собой $-\text{COOH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, или $-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{Cl}$ и n составляет от 2 до 22, предпочтительно от 10 до 18 и m от 3 до 200.

Вкратце, в конкретном варианте реализации гетеробифункциональное соединение, относящееся к типу собирающегося на поверхности монослоя, добавляют к водной дисперсии наностержней золота в соответствующих условиях облучения ультразвуком и повышенных температур. После определенного промежутка времени при данных условиях смесь выдерживали в термостате при 30°C до окончания реакции (см. Пример 4). Предпочтительно концентрация поверхностно-активного соединения,

присутствующего в растворе, ниже критической концентрации мицеллообразования поверхностно-активного вещества, равной 10 мМ.

Композиция согласно настоящему изобретению для местного применения для фотоэпиляции содержит один или более наноконплекс, как оговорено выше. Композиция является косметически или фармацевтически приемлемой. В соответствии с конкретным вариантом реализации композиция является водной суспензией. Однако композиция может также быть в форме геля, молочка, лосьона, мази или крема. Концентрация наноконплексов может варьироваться в широком диапазоне, в основном завися от области применения и числа волос в этой области. В соответствии с конкретным вариантом реализации наноконплексы присутствуют в косметически эффективных количествах. Под косметически эффективным количеством следует понимать минимальное количество, необходимое для достижения эффекта фотоэпиляции в методе фотоэпиляции. Композиция может дополнительно содержать другие косметически или фармацевтически приемлемые ингредиенты, такие как растворители или косметические добавки или транспортные вещества.

С другой стороны настоящее изобретение относится к новому способу фотоэпиляции, который включает этапы (i) нанесения на поверхность кожи композиции согласно настоящему изобретению для местного использования и (ii) облучения вышеупомянутой поверхности кожи.

Применение данной композиции, описанное в этапе (i), может быть осуществлено путем простого нанесения на поверхность кожи, которая должна быть обработана, с последующим массажем. Необходимое количество в каждом случае может быть легко определено специалистом.

Облучение, использованное в этапе (ii), может быть образовано любым источником света чья эмиссия обладает перекрыванием спектров с резонансом ЛПП наноконплекса, содержащегося в вышеупомянутой композиции. Примерами источников света являются те, что обычно используются в способах фотоэпиляции, такие как интенсивный импульсный свет (ИИС) или лазер непрерывного и импульсного излучений.

В соответствии с конкретным вариантом реализации источником света является ИИС, свет которого пропускается через головную насадку, определяющую область настроек испускаемого света (испускание в диапазоне 600-900 нм). В этом случае, в соответствии с другим конкретным вариантом реализации, более высокое соотношение значений поглощения достигают путем фильтрации испускаемого света, который не перекрывается с плазмонным резонансом, минимизируя поглощение меланина и, тем

самым, нагревание тканей, не способствующее повреждению волос.

Способ фотоэпиляции, представленный в настоящем изобретении, обладает несколькими преимуществами: увеличивает соотношения значений поглощения волос и кожи и, следовательно, достигает улучшенной эффективности в сравнении с обычными способами даже при пониженной интенсивности излучения. К тому же данный способ обладает улучшенной универсальной применимостью, например, он подходит для применения как для темных волос, так и для светлых (белых, русых и рыжеватых), что является важным преимуществом настоящего способа. Кроме того, данный способ позволяет уменьшить локальные повреждения и побочные эффекты на окружающие ткани и железы кожи в основном при помощи сокращения интенсивности света, требуемой для достижения желаемого результата.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к применению наноконплексов, описанных выше, в способе фотоэпиляции.

Все предшествующее является пояснением к настоящему изобретению. Однако настоящее изобретение не ограничивается последующими определенными вариантами реализации, описанными в настоящей заявке, но охватывает все эквивалентные модификации в пределах объема последующей формулы изобретения.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Синтез наностержней золота

Наностержни, обладающие максимумом резонанса ЛПП в диапазоне 700-900 нм, могут быть получены двухэтапным процессом через зародыши, путем варьирования соотношения нитрат серебра (AgNO_3) / аскорбиновая кислота/зародыши (см. Фигуру 3).

Получение зародышей:

Коллоидные золотые зародыши сначала получали путем смешивания водных растворов гексадецилтриметиламмония бромиды (ЦТАБ, 0,2 М, 5 мл) и гидрата тетрахлораурата(III) водорода (0,5 мМ, 5 мл), где оба раствора выдерживали при 27°C. Затем при интенсивном перемешивании в течение 2 минут добавляли свежеприготовленный раствор боргидрида натрия (NaBH_4 , 0,01 М, 0,6 мл), предварительно охлажденный до 4°C. На этой стадии зародышам позволили осесть за 2 часа при 30°C, чтобы дать возможность провзаимодействовать оставшемуся NaBH_4 . В результате этого получали суспензию наночастиц золота размером 1-2 нм, которые были использованы в качестве зародышей для получения наностержней. Этот раствор в дальнейшем будет называться зародышевой суспензией.

Выращивание наностержней:

Теперь приготовлен «раствор для выращивания», и он состоит из ЦТАБ (0,2 М, 20 мл), к которому добавляли различные количества нитрата серебра (4 мМ) в зависимости от желаемого аспектного соотношения для наностержня, и оставляли при слабом перемешивании. Добавляли гидрат тетрахлораурата (III) водорода (1 мМ, 20 мл), что приводило к желтому/коричневому окрашиванию раствора. После добавления аскорбиновой кислоты (79 мМ, 0,29 мл) к желто/коричневому раствору смесь должна стать бесцветной. После этого к раствору для выращивания добавляли 72 мл выдержанного раствора зародышевой суспензии, быстро перемешивали и оставляли без перемешивания на 8 часов при 30°C для предотвращения кристаллизации ЦТАБ. Первоначальное изменение цвета раствора будет заметно приблизительно через 10 минут. Эта процедура позволила получить в качестве продукта суспензию наностержней, имеющую максимум ЛПП резонанса 820 нм (± 20 нм) и максимум поглощения 1,6 AU.

Пример 2: Получение наноконплексов хитозана и наностержней золота 20 мл суспензии НСЗ, полученных в Примере 1, центрифугировали дважды при 14000 оборотах в минуту, 30 минут. Каждый раз супернатант удаляли и заменяли на 4 мМ ЦТАБ в водном растворе. К получившейся суспензии НСЗ (20 мл), добавляли 4 мл раствора хитозана (10 мг/мл, молекулярная масса 5000) и помещали в ультразвуковую ванну при 45°C. На полученную смесь воздействовали ультразвуком в течение 2 минут и оставляли на ночь при 30°C. Затем полученный наноконплекс хитозана центрифугировали (14000 оборотов в минуту, 30 минут), супернатант отделяли и повторно диспергировали в чистой воде, в результате для него было получено значение поглощения около 2,5 AU в максимуме ЛПП резонанса. Полученную водную суспензию непосредственно использовали для нанесения на кожу, как описано далее.

Пример 3: Стабильность наноконплексов хитозана в сравнении с наностержнями в ЦТАБ

Водную суспензию НСЗ в 100 мМ ЦТАБ (синтезированную ранее) из Примера 1 сравнивали с водной суспензией соответствующего наноконплекса хитозана, получение которого описано в Примере 2. Обе суспензии корректировали с обеспечением поглощения при максимуме ЛПП резонанса при 1,5 AU и помещали в термостат при 30°C. Образцы периодически доставали и проводили измерения при помощи спектроскопии в УФ и видимой области спектра, а стабильность определяли по положению максимума ЛППР. Изменения в положении максимума указывали на морфологические изменения НСЗ и стабильность суспензии. Полученный результат (Фигура 4) ясно указывает на повышенную стабильность наноконплекса с хитозаном.

Пример 4: Получение наноконплекса катионного СПМ с наностержнями золота 20 мл полученной ранее суспензии НСЗ дважды центрифугировали при 14000 оборотах в минуту 30 минут. Каждый раз супернатант удаляли и заменяли на 4 мМ ЦТАБ в водном растворе. К полученной суспензии НСЗ (20 мл) добавляли 4 мл раствора 11-меркаптоундецилтриметиламмония бромид (10 мг/мл) и помещали в ультразвуковую ванну при 45°C. На полученную смесь воздействовали ультразвуком в течение 2 минут и оставляли на ночь при 30°C. По прошествии этого времени наноконплекс СПМ центрифугировали (14000 оборотов в минуту, 30 минут), супернатант, который выделяли и повторно диспергировали в чистой воде, в результате показал поглощение около 2,5 AU в максимуме ЛПП резонанса.

Пример 5: Сравнительное исследование связывания наноконплекса с волосами
Для данного исследования готовили три различных наноконплекса, варьируя конечный суммарный заряд поверхности:

1) НСЗ, покрытые полиэтиленгликолем (НК-ПЭГ), потенциал на их поверхности был нейтральным. Их получали путем прививки НК-ПЭГ-ОСН₃ (молекулярная масса 5000) к поверхности наностержня.

2) НСЗ, покрытые полистирол сульфонатом (НК-ПСС, молекулярная масса 48000), потенциал на их поверхности был отрицательным (получены тем же методом, что описан в Примере 2)

3) НСЗ, покрытые хитозаном (НК-Хит, молекулярная масса 5000), потенциал их поверхности был положительным (получены так же, как в Примере 2).

Предварительные эксперименты проводили с отдельными человеческими волосами, полученными от здоровых волонтеров. Волосы выдерживали в термостате 30 минут при 37°C в водных растворах трех различных наноконплексов, а затем промывали водой. Затем исследовали взаимодействия трех данных наноконплексов с поверхностью волоса. Измерение их распределения в человеческих волосах основано на способности

НСЗ флюоресцировать при поглощении двух фотонов, длина волны которых перекрывается с резонансом ЛПП. Эту работу выполнили на конфокальном микроскопе Nikon Eclipse Ti оборудованном настраиваемым источником лазера Mira 900F (Coherent Ltd). Лазер настроили на 810 нм и использовали энергию в 40 милливатт.

- 5 Яркость наблюдавшихся сигналов прямо пропорциональна количеству наноконплекса, связанного с волосом. Полученные результаты показали зависящую от заряда адгезию трех наноконплексов с волосной кутикулой (см. Фигуру 5). Наноконплекс НК-ПЭГ продемонстрировал слабую адгезию с волосами, в то время как заряженные разновидности наноконплексов - НК-ПСС и НК-Хит - явно
- 10 продемонстрировали повышенное накопление в волосах. Анионный образец НК-ПСС показал хорошее взаимодействие, но очевидно наилучшее покрытие волос получали с применением наноконплекса НК-Хит.

Пример 6 Применение наноконплекса хитозана к свиной коже

- Образцы свиной кожи с темными волосами получали с грудной клетки или спины
- 15 приблизительно шестимесячной свиньи. Образцы приблизительно 30 см² получали путем удаления излишков жировой ткани, обрезания волос приблизительно до длины в 1 мм над поверхностью кожи с последующей аккуратной промывкой кожи водой и коммерчески доступными моющими средствами. Затем образцы кожи помещали в термостат на 40 минут при 37°C для установления равновесия (95% влажность, 5%
- 20 CO₂). Затем образцы обрабатывали водной суспензией НК-Хит, полученной в соответствии с процедурой, описанной в Примере 2, причем указанная суспензия имела максимум поглощения 800±20 нм, и ее концентрировали с получением максимума поглощения около 2,5-3,0 AU. Количество наносимой суспензии наноконплексов
- 25 составляло 100 мкл/см². Суспензию наноконплексов наносили с легким массажем в течение 2 минут с использованием устройства для массажа, движущегося в двух плоскостях (Relax and Tone). Затем образцы кожи оставили в термостате при 37°C еще на 30 минут после воздействия ИИС (как описано в Примере 7).

- Пример 7. Сравнительное исследование облучения ИИС образцов свиной кожи
- 30 обработанных и не обработанных наноконплексом НК-хитозан

- Образцы свиной кожи с темными волосами получали так, как описано в Примере 6, и оставляли для достижения равновесия при 37°C в термостате (95% влажность, 5% CO₂) на 30 минут. Набор необработанных образцов (без нанесения НК-Хит) подвергали в точности такой же процедуре промывания и инкубирования в термостате, для того
- 35 чтобы использовать в качестве образцов сравнения при облучении ИИС. Затем образцы кожи разрезали на кусочки размером 1,5 см x 5 см, после чего их подвергали воздействию коммерчески доступного источника ИИС при разных значениях интенсивности (Ellipse Light Model STP с аппликатором HR3, диапазон длин волн 600-900 нм).

- Облучение образцов ИИС производили с использованием одного 30 миллисекундного
- 40 импульса с различной энергией - 0, 9, 12 и 16 Дж/см². Для справки, обычно используемая в процедурах фотоэпиляции энергия составляет около 16 Дж/см². Для проведения облучения ИИС образцы (обработанные и не обработанные НК-Хит) достали из термостата, обработали коммерчески доступным оптическим гелем для фотоэпиляции,
- 45 и сразу после дали импульс ИИС для того, чтобы поддерживать температуру кожи как можно ближе к 37°C. После облучения ИИС образцы оставляли на 30 минут в термостате при 37°C и затем, в целях подготовки к микроскопическим исследованиям, выбрали и вырезали участок 1 см x 1 см в центре импульса ИИС.

Таблица 1. Номенклатура образцов

Образец	Цвет волос	Наноконплекс	ИИС (Дж/см2)
NT-0-BRW	Коричневые	Нет	0
NT-9-BRW	Коричневые	Нет	9
NT-12-BRW	Коричневые	Нет	12
NT-16-BRW	Коричневые	Нет	16
NC-0-BRW	Коричневые	Есть	0
NC-9-BRW	Коричневые	Есть	9
NC-12-BRW	Коричневые	Есть	12
NC-16-BRW	Коричневые	Есть	16

Пример 8. Подготовка образцов к микроскопическим исследованиям

Образцы 1 смх1 см, которые были получены в предыдущем примере, держали в термостате 16 часов в фосфатно-солевом буферном растворе (ФСБ)/4% формальдегида. Затем образцы дважды промыли чистой водой (20 минут) и поэтапно промыли в этаноле (30% 8 часов, 70% 1 час, 90% 1 час, 100% 1 час). Для образцов, которым нужно большее время хранения, остановились на 70% этанола. Затем образцы дважды обрабатывали параксилолом (20 минут) и после залили в парафиновые блоки при 60°C. Парафиновые блоки получали с использованием приборов Kunz CP-4 и WD-4. Затем парафиновые блоки, заключающие в себе образец, нарезали на 20 им препараты, используя микротом Rotary 3003 PFM. Затем полученные препараты тканей устанавливали на предметное стекло микроскопа, удаляли парафин в ксилоле и постепенно смачивали водой для окрашивания эозином. Кроме того, полученные препараты окрашивали эозином в течение 30 секунд, используя стандартную процедуру окрашивания для микроскопии на приборе Shandon Varistain 24-4 компании Thermo Electron Corporation.

Пример 9. Изучение распределения наноконплекса в коже с использованием двухфотонной микроскопии

Затем обработанные и не обработанные наноконплексом образцы без какой-либо обработки ИИС (NC-0-BRW и NT-0-BRW) исследовали с помощью двухфотонной микроскопии, чтобы изучить распределение наноконплекса внутри волосяного фолликула. В данном способе наноконплекс можно распознать благодаря его способности излучать видимый свет при облучении лазером при 800 нм.

Яркость полученных сигналов была, как в Примере 5, прямо пропорциональна количеству наноконплексов, провзаимодействовавших с волосяной кутикулой.

Изображения показали явное проникновение наноконплекса в волосяной фолликул (по меньшей мере на 1 мм вглубь) и их накопление в волосяной кутикуле соотносится с небольшим связыванием с другими тканями (Фигура 6а). Для справки, изображение необлученного образца кожи с наноконплексом (NT-0-BRW) также привели для того чтобы продемонстрировать автофлюоресценцию волос и тканей при одинаковых условиях (Фигура 6б). Фигура 7 схематически иллюстрирует ожидаемое взаимодействие наноконплекса с волосяной кутикулой внутри волосяного фолликула.

Пример 10: Изучение влияния облучения ИИС на корень волоса, при помощи оптической микроскопии

Для того чтобы зафиксировать реальное повреждение волосяного фолликула в результате облучения ИИС, все образцы приготовленные, как описано в Примере 7, исследовали при помощи обычной светлопольной оптической микроскопии.

Результаты представлены в Таблице 2 и демонстрируют соотношение различных степеней повреждения, наблюдавшихся на определенной популяции волос. Данные явно указывают на то, что при данной интенсивности облучения образцы, обработанные НК-Хит, продемонстрировали значительно большее содержание волос с сильным повреждением. Соответственно получить сильное повреждение большинства волос можно при необычной значительно более низкой интенсивности, в сравнении с необработанными образцами. Степень повреждения классифицировали визуальным на основании различных микрофотоснимков волос. Фигуры 8-а, 9-а и 10-а схематически демонстрируют степень повреждения по классификации, а Фигуры 8-б, 9-б и 10-б, соответственно, демонстрируют реальные примеры степеней повреждения, которые наблюдались на уровне корня волоса.

Таблица 2: Сравнительная таблица эффектов, которые наблюдались на уровне корня волоса для различных обработок ИИС в случае коричневых волос. % формально не является статистическим, но получен из данных по 30 препаратам для каждого образца.

Образец	Повреждение		
	Отсутствует	Заметное	Сильное
NT-0-BRW и NC-0-BRW	100%	0%	0%
NT-9-BRW	65%	28%	7%
NT-12-BRW	18%	59%	23%
NT-16-BRW	0%	42%	58%
NC-9-BRW	25%	22%	53%
NC-12-BRW	0%	27%	73%
NC-16-BRW	0%	20%	80%

Пример 11: Изучение эффекта облучения ИИС

Для того чтобы продемонстрировать применимость настоящего изобретения для других типов волос, независимо от содержания меланина в них, предыдущие эксперименты повторно проводили на другом наборе образцов свиной кожи, в которых преимущественно были светлые волосы. Образцы готовили в соответствии с теми же процедурами, которые применяли для коричневых волос (см. Примеры 6 - 8). Для справки, образцы, обработанные композицией наноконцентра (NC-X-F, где X соответствует энергии ИИС, приведенной в Дж/см², как описано в Примере 7) сравнивали с необработанными образцами (NT-X-F). Затем образцы обрабатывали, как описано в Примере 8, и изучали с помощью светлопольной микроскопии.

Полученные результаты приведены в Таблице 3. В этом случае наблюдавшееся повреждение корня волоса классифицировали только на две категории: "сильное повреждение" или "отсутствие повреждения". В отличие от коричневых волос, более

низкий контраст светлых волос в светлопольной микроскопии не позволил различить промежуточную степень "заметное повреждение". Данные явно указывают на очевидное улучшение эффективности повреждения волос при обработке.

Таблица 3: Сравнительная таблица эффекта на уровне корня волоса, который наблюдали для различных обработок ИИС, в случае светлых волос. % формально не является статистическим, но получен из данных по приблизительно 20 препаратам для каждого образца.

Образец	Повреждение		
	Отсутствует	Заметное	Сильное
NT-0-F и NC-0-F	100%	.	0%
NT-9-F	88%	.	12%
NT-12-F	57%	.	43%
NT-16-F	44%	.	56%
NC-9-F	58%	.	42%
NC-12-F	39%	.	61%
NC-16-F	19%	.	81%

(57) Формула изобретения

1. Композиция для местного применения на коже для фотоэпиляции, содержащая наноконплексы, которые содержат наночастицы материала, выбранного из группы, состоящей из металлов, полупроводников и их смесей, поддерживающих локализованный поверхностный плазмонный (ЛПП) резонанс, где указанные наночастицы содержат покрытие, выполненное за счет образования, по меньшей мере, координационной связи с, по меньшей мере,

поликатионным полимером, выбранным из полиаминсодержащего полимера, или гетеробифункциональным соединением, способным образовывать собирающийся на поверхности монослой, которое имеет следующую общую формулу:



где X представляет собой $-N(CH_3)_3^+Cl$, и

n составляет от 2 до 22, предпочтительно от 10 до 18, или следующую формулу:



где X представляет собой $-N(CH_3)_3^+Cl$, и

n составляет от 2 до 22, предпочтительно от 10 до 18, и m составляет от 3 до 200.

2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что наноконплекс имеет максимум локализованного поверхностного плазмонного резонанса между 650 и 1200 нм и предпочтительно между 700 и 900 нм.

3. Композиция по п. 1 или 2, отличающаяся тем, что указанная наночастица представляет собой наночастицу золота.

4. Композиция по п. 3, отличающаяся тем, что указанная наночастица представляет собой наностержень из золота.

5. Композиция по любому из пп. 1, 2 или 4, отличающаяся тем, что наночастица представляет собой нанооболочку.

5 6. Композиция по п. 3, отличающаяся тем, что наночастица представляет собой нанооболочку.

7. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанный поликатионный полимер представляет собой хитозан.

10 8. Композиция по любому из пп. 1, 2, 4, 6 или 7, представляющая собой водную суспензию.

9. Способ фотоэпиляции, который включает этапы (i) нанесения на поверхность кожи композиции по любому из пп. 1-8 и (ii) воздействия излучением на указанную поверхность кожи.

15 10. Применение наноконплексов, определенных в любом из пп. 1-8, в способе фотоэпиляции.

20

25

30

35

40

45

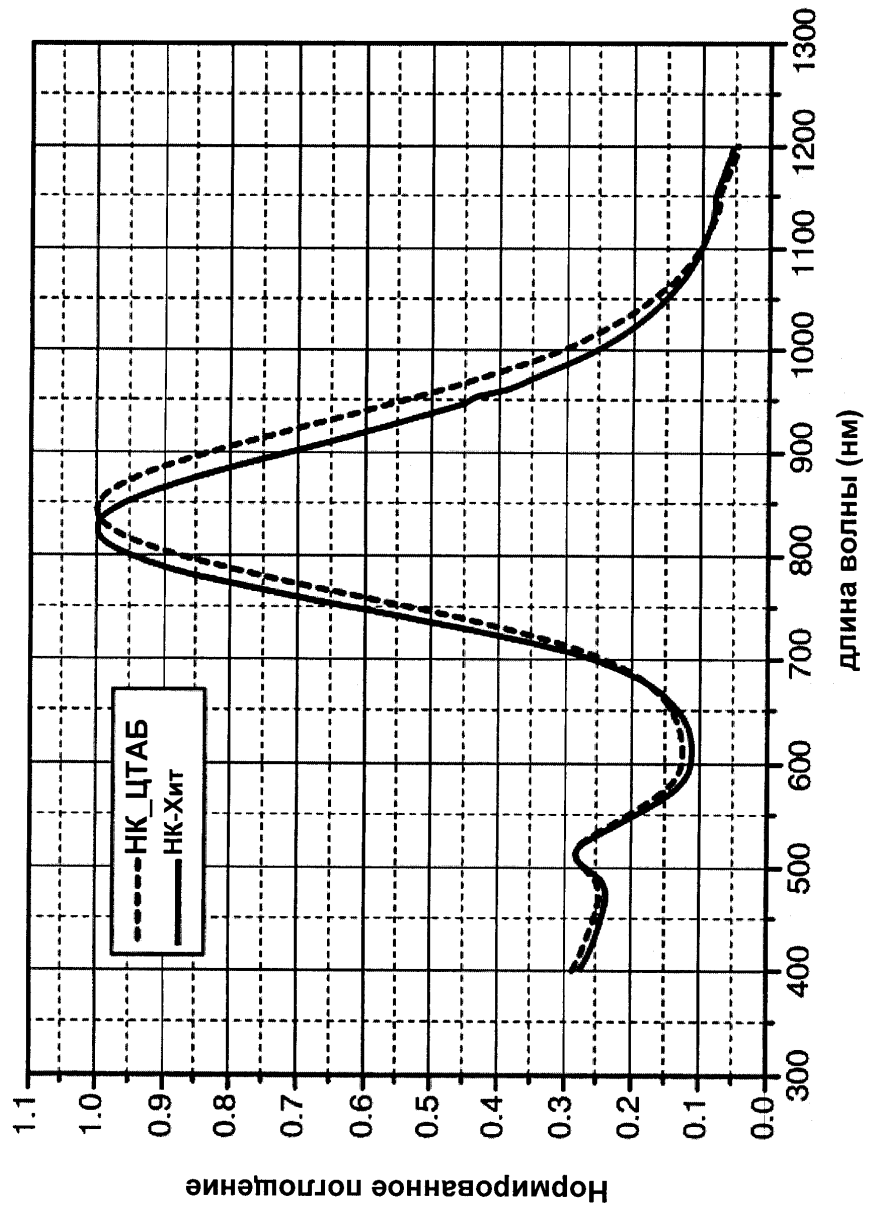
1

1 / 10

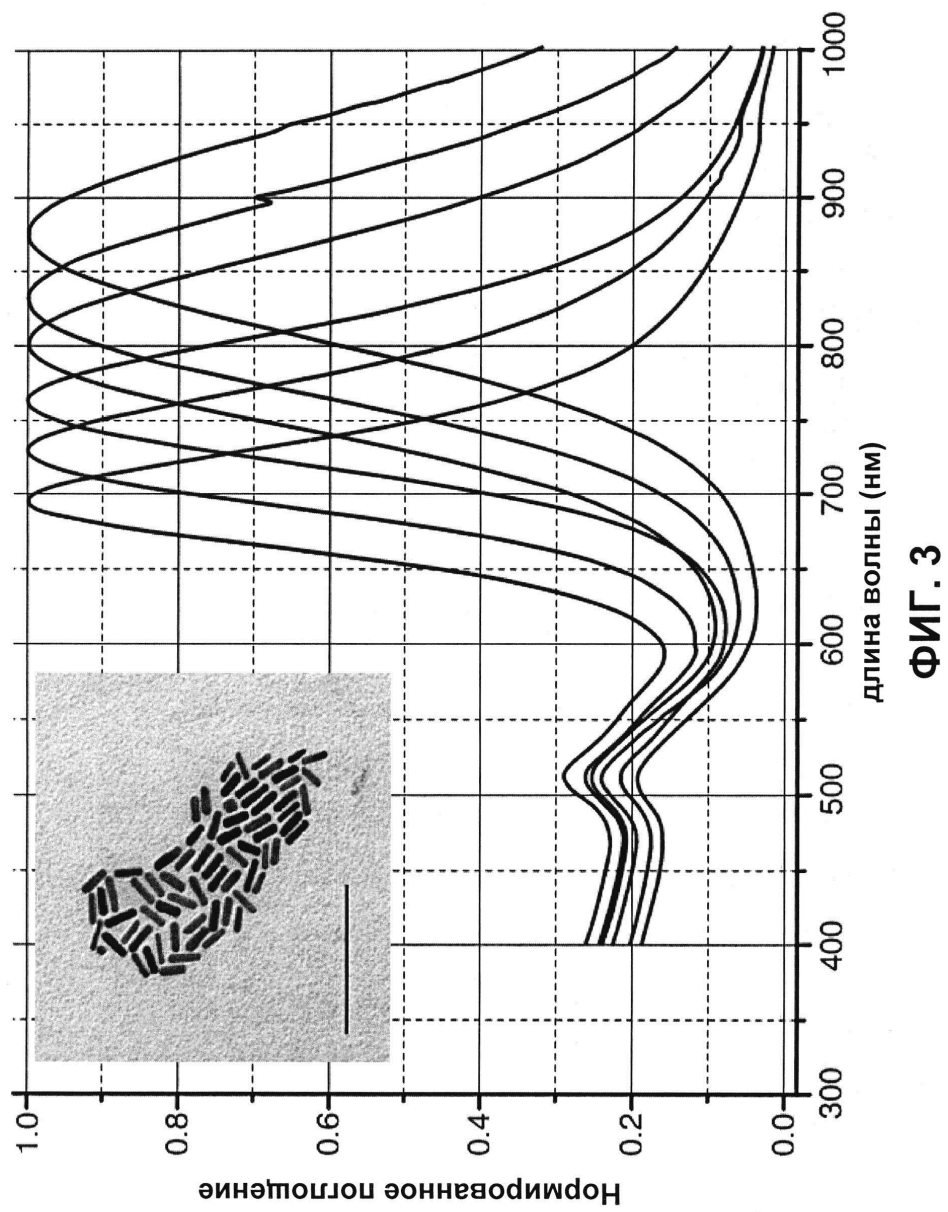


ФИГ. 1

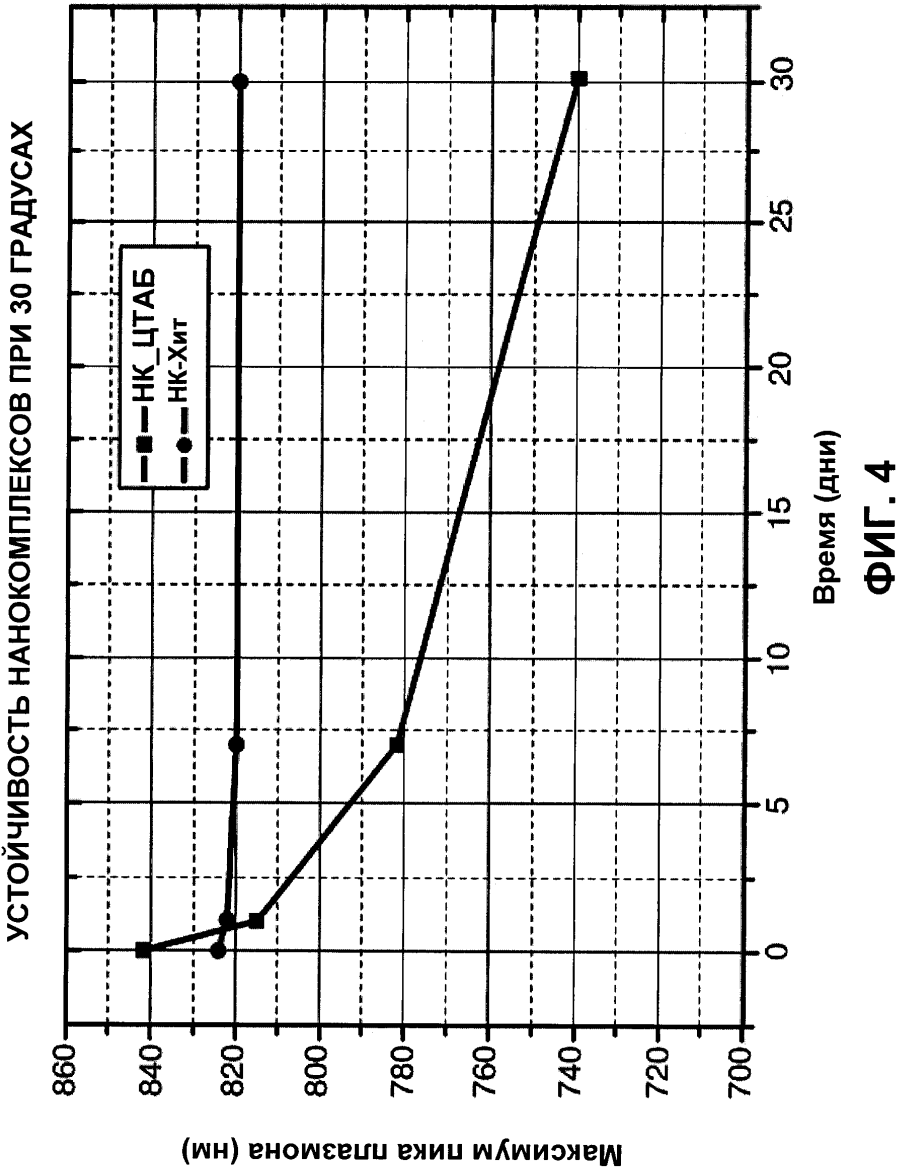
2



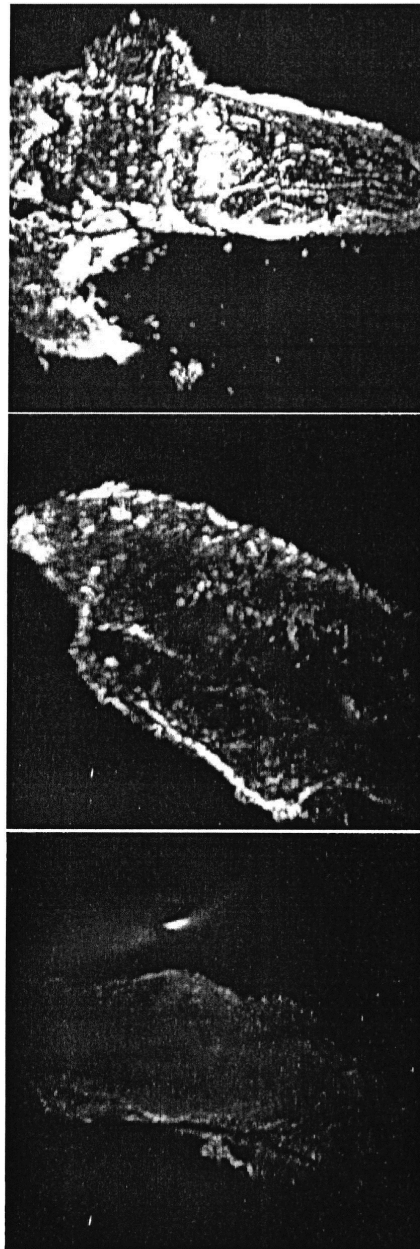
ФИГ. 2



ФИГ. 3



ФИГ. 4



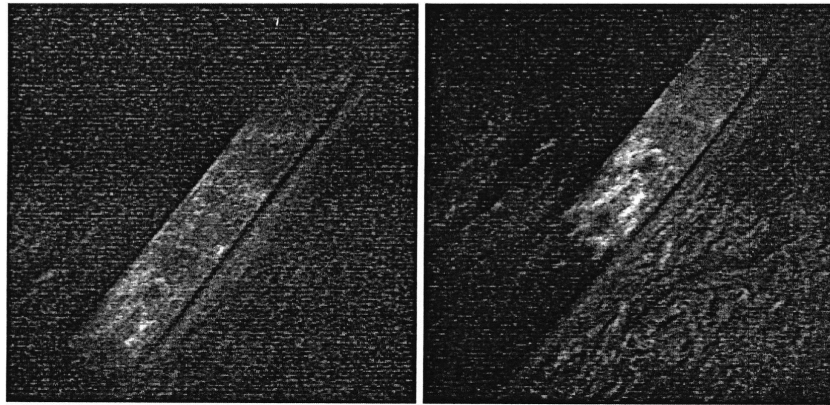
HK-Хитозан

HK-ПСС

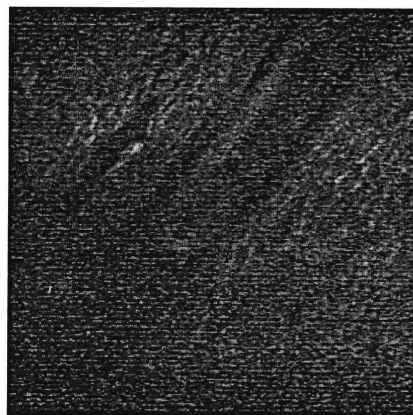
HK-ПЭГ

ФИГ. 5

6 / 10

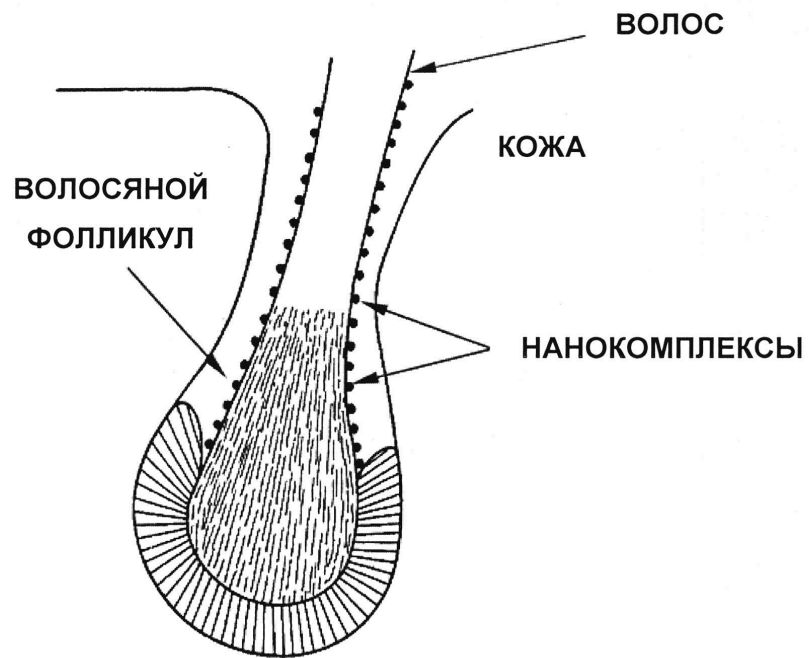


ФИГ. 6А



ФИГ. 6В

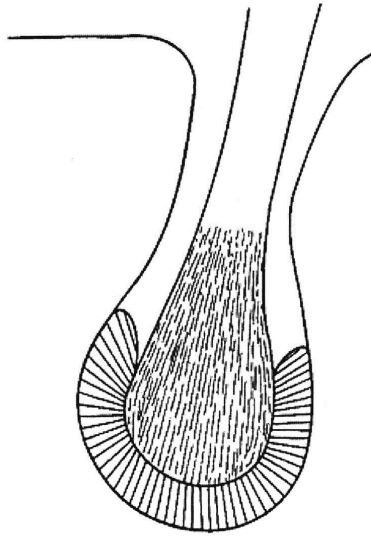
7 / 10



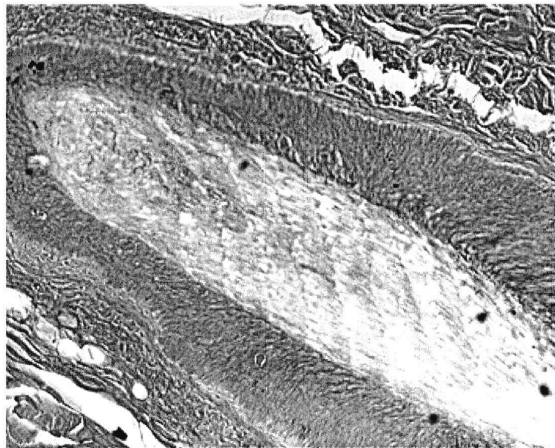
ФИГ. 7

8 / 10

ПОВРЕЖДЕНИЯ ОТСУТСТВУЮТ



ФИГ. 8a

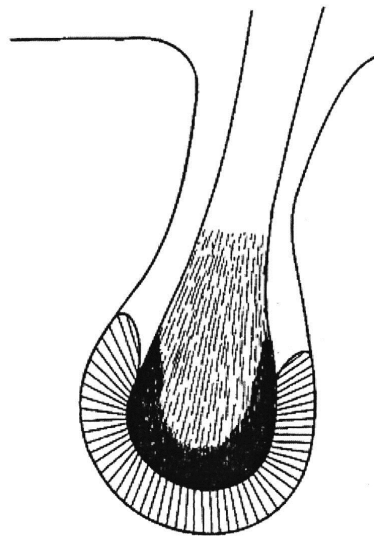


Повреждения отсутствуют

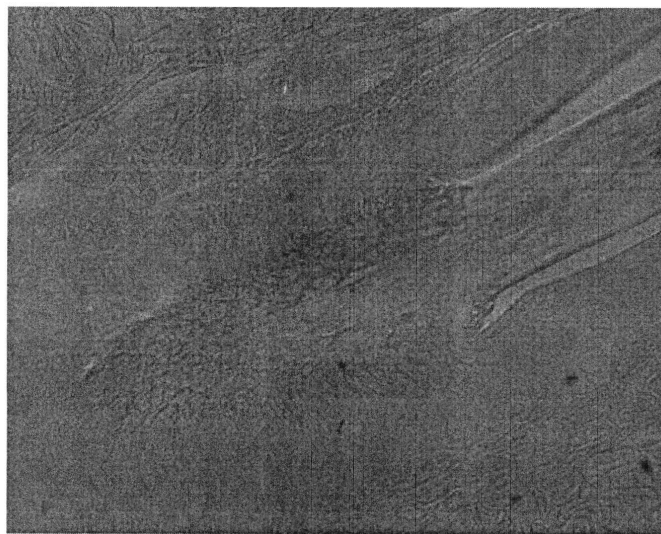
ФИГ. 8b

9 / 10

ЗАМЕТНЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ



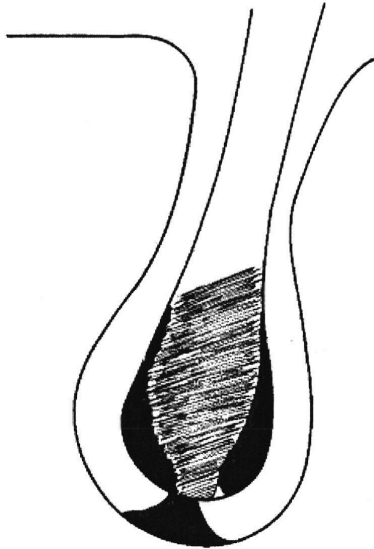
ФИГ. 9a



ФИГ. 9b

10 / 10

СИЛЬНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ



ФИГ. 10а



Сильное повреждение

ФИГ. 10b