

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-2-152-162

ТРАНСДЕРМАЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ И СПОСОБЫ ЕГО УСИЛЕНИЯ

Е.Г. Кузнецова, В.А. Рыжикова, Л.А. Саломатина, В.И. Севастьянов

Лаборатория тканевой инженерии и систем доставки отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

В статье представлены общие подходы, применяемые в последнее время для усиления чрескожного переноса лекарственных субстанций при аппликации трансдермальных терапевтических систем. Подробно рассмотрены химические, физические и механические способы усиления транспорта высокомолекулярных соединений через кожу.

Ключевые слова: трансдермальный перенос, трансдермальная терапевтическая система, активатор переноса, ионофорез, сонофорез, электропорация, холодная плазма.

TRANSDERMAL DRUG DELIVERY AND METHODS TO ENHANCE IT

E.G. Kuznetsova, V.A. Ryzhikova, L.A. Salomatina, V.I. Sevastianov

Laboratory of tissue engineering and delivery systems of department of biomedical technologies and tissue engineering, V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

The paper presents the common methods employed in recent years for enhancing transdermal delivery of drug substances when applying transdermal therapeutic delivery systems. The chemical, physical and mechanical methods to enhance the transport of macromolecular compounds through the skin are considered in details.

Key words: transdermal delivery, transdermal drug delivery system, transfer activator, iontophoresis, sonophoresis, electroporation, cold plasma.

ВВЕДЕНИЕ

Трансдермальная доставка лекарственных веществ (ЛВ) все больше привлекает внимание создателей лекарственных препаратов. Трансдермальная терапевтическая система (ТТС) – это дозированная мягкая лекарственная форма для наружного применения в форме пластырей или пленок, высвобождающая лекарственное средство в течение определенного времени.

Трансдермальная доставка лекарств позволяет обеспечить длительное действие препарата за счет поддержания постоянной терапевтической концентрации действующего вещества в крови без ее существенных колебаний. При этом ЛВ, как и при внутривенном введении, попадает сразу в системный кровоток, не оказывая негативного воздействия на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта. Несомненными плюсами ТТС является простота и безболезненность ее применения, безопасность, отсутствие

необходимости частого приема, возможность назначения такой формы пациентам, у которых затруднены функции разжевывания и проглатывания [1, 2].

Однако трансдермальный перенос лекарственных веществ имеет свои ограничения, связанные с необходимостью преодоления кожного барьера, и прежде всего рогового слоя кожи [3–5].

Перенос ЛВ через неповрежденный кожный покров осуществляется посредством пассивной диффузии [4, 6]. Основным требованием к ЛВ, выбранным для трансдермального переноса, является небольшой молекулярный вес – он не должен превышать 500 Да. Кроме того, для преодоления кожного барьера молекула лекарственного вещества должна обладать определенными физико-химическими свойствами:

– хорошей проницаемостью через кожу (наличие гидрофильных или гидрофобных свойств, либо амфифильных, что более предпочтительно);

Для корреспонденции: Кузнецова Евгения Геннадьевна. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 193-86-62. E-mail: kuzeugenia@gmail.com.

For correspondence: Kuznetsova Evgeniya Gennadievna. Address: 1, Shchukinskaya Str., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. (499) 193-86-62. E-mail: kuzeugenia@gmail.com.

**Трансдермальные терапевтические системы,
зарегистрированные в Государственном реестре лекарственных средств РФ**
**Transdermal therapeutic systems that are registered
in the Public register of the Russian Federation medicines**

№	Лекарственное вещество	Молекулярная масса, г/моль	Производитель, страна
1	Бупренофрин	467,64	Грюненталь ГмБХ, Германия
2	Диклофенак	296,148	Новартис Консьюмер Хелс СА, Япония
3	Леворноргестрел	312,446	Байер Шеринг Фарма Ой, Финляндия
4	Лидокаин	234,34	Грюненталь ГмБХ, Германия
5	Лидокаин + прилокаин	234,34 + 220	АстраЗенека АБ, Швеция
6	Никотин	162,23	Джонсон & Джонсон ООО, Швеция
			Новартис Консьюмер Хелс СА, Германия
			ГлаксоСмитКляйн Консьюмер Хелскер, США
7	Нитроглицерин	227,08	Шварц Фарма АГ, Германия
8	Норэргестромин + Этинилэстрадиол	327 + 296,403	Янсен-Силаг Интернейшнл НВ, Бельгия
9	Ривастигмин	250,337	Новартис Фарма АГ, Швейцария
10	Ротиготин	315,474	Шварц Фарма Лимитед, Германия
11	Фентанил	336,471	Сандоз д.д., Германия
			Джонсон & Джонсон ООО, Бельгия
			Никомед Дания АпС, Дания
			ОАО «Гедеон Рихтер», Аргентина
12	Эстрадиол	384,51	Янссен Фармацевтика НВ, Бельгия
			Байер Фарма АГ, Германия
			Шеринг АГ, Германия

- молекула должна быть растворимой в гидрофильном или гидрофобном растворителе;
- молекула должна быть нейтральной, поскольку заряд может препятствовать ее чрескожному переносу;
- отсутствие раздражающего действия на кожу;
- возможность применения в невысоких дозах;
- возможность применения для заместительной терапии, профилактического или длительного терапевтического использования [3].

Все эти показатели в той или иной степени влияют на степень проникновения препарата через кожу [4, 5].

Актуальность разработки ТТС лекарственных веществ с молекулярной массой более 500 Да подтверждается данными табл. 1. Среди ТТС, зарегистрированных в настоящее время на территории Российской Федерации, нет ни одной с высокомолекулярными лекарственными веществами.

Для повышения терапевтической эффективности трансдермальных систем доставки ЛВ, особенно с большой молекулярной массой, используются разнообразные физические и химические способы, направленные на повышение проницаемости кожи, главным образом ее рогового слоя [7].

Целью данного обзора является критический анализ существующих и разрабатываемых способов увеличения чрескожной диффузии ЛВ.

ОСНОВНЫЕ ПУТИ ДИФфуЗИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ КОЖУ

Возможны четыре пути проникновения ЛВ через кожу (рис. 1) [8].

Первый способ чрескожного проникновения – трансэпидермальный («извилистый» путь). В данном случае ЛВ проходит между клетками рогового слоя. При этом перенос веществ осуществляется за счет пассивной диффузии, которая заключается в

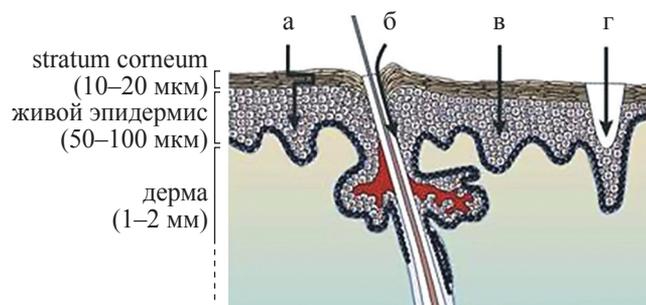


Рис. 1. Пути чрескожной диффузии лекарственных веществ при трансдермальной доставке: а – трансэпидермальный (межклеточный) «извилистый путь»; б – трансгранулярный / трансфолликулярный; в – чресклеточный; г – через созданные микроотверстия (микроиглы и термопорация)

Fig. 1. Paths of drug diffusion through the skin at transdermal delivery: a – transepidermal (intercellular) «tortuous path»; б – transgranular / transfollicular; в – through cells; г – through microholes (microneedles and termoporation)

Таблица 2

Пути чрескожного переноса лекарственных веществ и способы их усиления
Paths of drugs through the skin and ways of diffusion enhancing

Пути чрескожного переноса ЛВ	Способы усиления чрескожного переноса ЛВ
Трансэпидермальный (межклеточный)	Химические переносчики
Трансгранулярный / трансфолликулярный	Химические переносчики, низковольтный ионофорез
Чресклеточный	Химические переносчики, высоковольтная электропорация, сонофорез (ультразвук)
Через созданные микроотверстия	Микроиглы и термопорация

переносе ЛВ из области с большей концентрацией в область с меньшей концентрацией [6, 9]. Межклеточный путь трансдермальной диффузии может быть облегчен с помощью химических усилителей чрескожного переноса – веществ, сравнительно легко преодолевающих липидный барьер и увлекающих за собой молекулы доставляемого лекарства. В этом случае механизмом проникновения ЛВ является облегченная диффузия. Как и при пассивной диффузии, перенос веществ происходит по концентрационному градиенту, но скорость его выше, чем при простой диффузии без участия переносчика.

Второй способ заключается в транспорте молекул действующего вещества в системный кровоток либо через протоки сальных и потовых желез (на 1 см² поверхности кожи имеется 200–250 отверстий потовых желез), либо через стенки волосяных фолликул (на 1 см² поверхности кожи имеется 40–70 волосяных фолликул) [8].

В третьем случае ЛВ проходят через мембрану клеток как путем пассивного (низкомолекулярные вещества), так и активного транспорта. Использование химических переносчиков или высоковольтной электропорации может временно дестабилизировать липидные бислои, облегчая путь доставляемому веществу. Сонофорез (ультразвук) дополнительно способен увеличить эффективность как чресклеточных, так и межклеточных путей переноса.

Четвертый способ – создание кратковременных микроканалов посредством физического воздействия (микроиглы, термопорация) на кожу.

Для транспорта высокомолекулярных соединений применяют как химические, так физические и механические подходы [10, 11].

Возможные способы увеличения потока лекарственных веществ через кожу суммированы в табл. 2.

Рассмотрим более детально каждый из способов усиления чрескожного переноса ЛВ.

УСИЛЕНИЕ ЧРЕСКОЖНОГО ПЕРЕНОСА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ХИМИЧЕСКИХ ПЕРЕНОСЧИКОВ

Суть химического способа улучшения проникновения ЛВ через кожу заключается либо в моди-

фицировании молекул ЛВ, либо во введении в ТТС активаторов переноса: спиртов (этанол, пентанол, бензиловый спирт, лауриловый спирт, пропиленгликоль, глицерин), монотерпенов (D-лимонен, карвон и анисовое масло), сульфоксидов (диметилсульфоксид), фосфолипидов (лецитин), жирных кислот (олеиновая кислота, линолевая кислота, валериановая кислота и лауриновая кислота) и их эфиров, аминов (диэтаноламин и триэтаноламин), амидов (мочевина, диметилацетамид, диметилформамид и производные пирролидона), углеводов (алканы и сквалены) и поверхностно-активных веществ (ПАВ) (лауреат натрия, цетилтриметиламмоний бромид, Brij[®], TWEEN[®] и холат натрия) [12–18]. К активаторам переноса с хорошим потенциалом за счет наличия большого количества ненасыщенных жирных кислот относят натуральные масла (кукурузное, арахисовое и масло жожоба). Самым простым и известным активатором переноса является обычная вода [19].

Имеется предположение, что для улучшения переносимости аппликации ТТС в качестве активаторов переноса можно использовать натуральные растительные ингредиенты (например, экстракт коры дуба, алоэ вера), однако на данный момент эффективность их применения клинически не подтверждена. Кроме того, при введении в форму вытяжек из растений необходимо принимать во внимание возможные риски, связанные с развитием аллергической реакции [20].

Усиление проникновения лекарственных веществ через кожу при помощи химических переносчиков – это целый ряд сложных механизмов. Активаторы переноса (усилители проницаемости) могут непосредственно оказывать свое влияние на структуру кожи, воздействуя на межклеточные липиды или корнеоциты, мертвые клетки рогового слоя. Усилители проницаемости могут быть разделены в целом на две категории в зависимости от их воздействия на межклеточные липиды кожи. Химические переносчики могут либо образовывать бреши в липидном слое кожи, создавая тем самым пути для диффузии ЛВ, либо, воздействуя на липиды, приводить к нарушению высоко упорядоченной липидной структуры рогового слоя, вызывая их псевдоожожение [16].

Таблица 3

**Активаторы переноса и механизм их действия
при трансдермальной доставке лекарственных веществ
Enhancers and their mechanism at drug transdermal delivery**

Активаторы переноса лекарственных веществ	Механизм действия активаторов переноса
Многоатомные спирты (дипропиленгликоль, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль)	Усиление растворимости лекарственных веществ
Оливковое масло Сквален Ланолин Цетиловый эфир Олеиновый эфир Изопропил миристал	Усиление диффузионной способности лекарственных веществ
Мочевина Аллантоин	Воздействие на способность кератина удерживать влагу
Диметилфосфоксид Метилотксисульфоксид Додецилпирролидон Изосорбитол Диметилформамид	Воздействие на проницаемость кератина для проникновения лекарственных веществ
Аминокислоты	Усиление проницаемости лекарственных веществ
Бензилникотинат	Открытие волосяных фолликулов
Высокомолекулярные алифатические поверхностно-активные вещества Лаурилсульфат Токоферол	Изменение состояния кожи и вводимого лекарственного вещества

В табл. 3 приведены примеры некоторых веществ, которые могут служить активаторами переноса при трансдермальной доставке ЛВ, и механизм их действия.

Для более эффективного увеличения трансдермального транспорта ЛВ можно вводить в ТТС несколько химических переносчиков с разным механизмом воздействия на кожу.

Кроме химической природы вещества, используемого для усиления чрескожного транспорта ЛВ, имеет большое значение и то, в каком именно виде оно применяется: в виде раствора или в составе более сложной композиции (суспензии, геля, эмульсии). Также важно и количество вносимых усилителей переноса, поскольку в большинстве случаев их активность находится в прямой зависимости от концентрации [21].

Применение эмульсий для трансдермальной доставки лекарственных веществ

Эмульсии, в том числе и микроэмульсии, широко применяются не только в косметологии, но и в фармацевтической промышленности. Их характерной особенностью является возможность вводить в их состав как водо-, так и жирорастворимые компоненты, обеспечивая в дальнейшем более высокую абсорбцию активных компонентов неповрежденным участком кожного покрова [22–25]. Привлекатель-

ными эмульсии являются также с точки зрения простоты производства и высокой растворяющей способности [21, 24–26]. Помимо прочего при введении ЛВ в эмульсии в ряде случаев становится возможным избежать гидролиза, разложения и окисления внесенных субстанций [21]. Эмульсии представляют собой гетерогенную систему как минимум из двух несмешивающихся жидкостей, одна из которых (дисперсная фаза) диспергирована в другой (дисперсная среда). В зависимости от внесенного в систему эмульгатора различают прямые эмульсии («масло в воде») и обратные («вода в масле») [21–24, 26]. Возможно создание сложных эмульсий, в которых капли масла диспергированы в каплях воды, которые, в свою очередь, диспергированы в масле, либо наоборот [23]. Размер капель дисперсной фазы эмульсии может находиться в среднем в пределах от 0,15 до 100 мкм [23], в то время как размер частиц в микроэмульсии не превышает 150 нм [22, 26]. Микроэмульсии отличаются от эмульсий наличием термостабильности, тогда как последние обладают лишь кинетической устойчивостью [22, 23].

Благодаря использованию микроэмульсий удается добиться усиления диффузии ЛВ через кожу, что обеспечивается маленьким размером капель дисперсной фазы, введением ПАВ для стабилизации, наличием в масляной фазе компонентов, повышающих проницаемость кожи, высокой сорбционной емкостью. Помимо прочего микроэмульсии обеспечивают увлажнение кожного покрова, что способ-

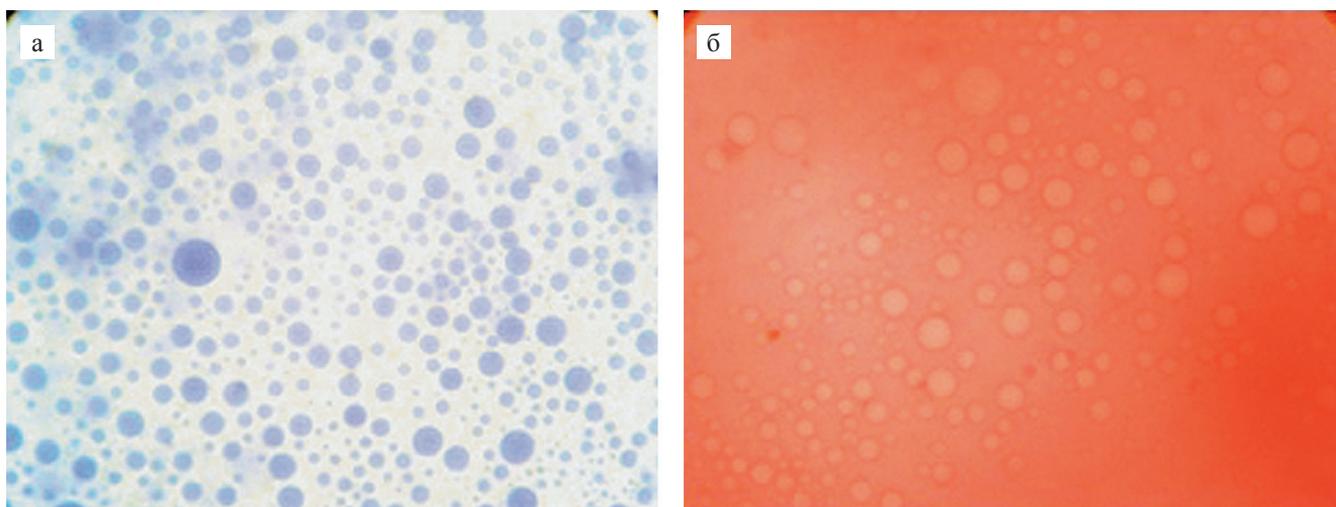


Рис. 2. Микроскопия окрашенного образца микроэмульсионной композиции бромокaina: а – водорастворимый краситель; б – жирорастворимый краситель [30] (Olympus CX-41, Япония, $\times 40$)

Fig. 2. Microscopy of bromokain microemulsion colored sample: a – water-soluble dye; б – liposoluble dye [30] (Olympus CX-41, Japan, $\times 40$)

ствуется лучшему растворению и транспорту ЛВ [21, 22, 24, 26]. Также при их использовании можно достичь пролонгированного воздействия ЛВ и предотвратить раздражение кожи, возможное при контакте с активным веществом [21, 26].

Часто в качестве компонентов масляной фазы помимо обычных масел используются жирные кислоты, спирты, эфиры жирных кислот и спиртов, моно-, ди- и триглицериды, терпены (ментол, лимонен), растительные масла и прочие активаторы переноса. Наиболее широко используемые: изопропилмиририлат и олеиновая кислота [22, 25, 26], которая к тому же является сильным активатором переноса [21]. Насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты служат не только для создания масляной фазы эмульсии, но и для усиления диффузии ЛВ через кожный покров [21]. Выбор того или иного компонента для введения в масляную фазу зависит от того, какая поставлена цель: увеличение выхода ЛВ, его растворимости в микроэмульсии или повышение проницаемости кожи [22, 25, 26].

В качестве эмульгаторов, благодаря которым обеспечивается стабильность эмульсий, могут выступать ПАВ (полиэтиленгликоль – ПЭГ, полисорбаты), вещества белковой природы (желатин), полимеры. Суть действия эмульгатора не зависит от его типа: препятствуя коалесценции капель дисперсной фазы, они обеспечивают стабильность эмульсии. Однако механизм стабилизации различается. Так, ПАВы снижают поверхностное натяжение либо способствуют электростатическому отталкиванию; некоторые полимеры и гелеобразующие ПАВы увеличивают вязкость дисперсной среды; некоторые ПАВы и полимеры способствуют образованию пленки на границе раздела жидкостей, образуя при

этом пространственный барьер. Наиболее распространено одновременное использование комбинации нескольких эмульгаторов [23, 25].

При создании и разработке ГТС ряда лекарственных субстанций [27–30] для усиления диффузии ЛВ через кожу авторами успешно применялись микроэмульсионные композиции (рис. 2).

ФИЗИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ УВЕЛИЧЕНИЯ ПРОНИЦАЕМОСТИ КОЖИ

Химические усилители часто эффективны в отношении увеличения проницаемости кожи для низкомолекулярных соединений, тогда как для обеспечения и усиления транспортировки высокомолекулярных молекул (пептидов, белков, нуклеотидов) только химических усилителей часто бывает недостаточно, поэтому дополнительно применяют физические методы, которые основаны на электрическом (ионофорез и электрофорез, электропорация) и механическом воздействии (микроиглы) [12–15, 31].

Ионофорез

При ионофорезе используется постоянное напряжение небольшой величины (до 10 В) для транспортировки заряженных молекул через мембрану кожного барьера, чтобы замкнуть цепь. Обычно он используется для трансдермального переноса ионизированных молекул размером до 3000 Да. В работах [32–34] показано, что ионофорез эффективно улучшает проникновение липосом с различными лекарственными веществами через кожу. Как следует из результатов работы I. Nan, M. Kim, J. Kim [35],

комбинация липосом и ионофореза может повысить трансдермальный транспорт (через волосяные фолликулы) адриамицина в 3,5 раза.

Сонофорез

Анализ литературных данных показал, что ультразвуковая технология имеет большой потенциал для неинвазивного введения лекарственных препаратов [36, 37]. При воздействии ультразвуком (УЗ) повышается проницаемость кожи, усиливается экскреторная активность – увеличивается количество функционирующих сальных и потовых желез, изменяется pH кожи.

При изучении гистологических изменений кожи было обнаружено, что УЗ высокой интенсивности (1–2 Вт/сек²) усиливает проникновение веществ, необратимо меняя структуру кожи, в то время как УЗ низкой интенсивности (0,1–1 Вт/см²), не нарушая целостности кожного покрова, способствует усилению экскреции липидов [38]. Кроме интенсивности, имеют значение такие параметры УЗ, как частота и время воздействия [39, 40]. Используемые параметры УЗ должны выбираться исходя из соображений наибольшей эффективности и безопасности. Например, предпочтительный диапазон частоты при интенсивности 0,5–2,0 Вт/см² должен находиться между 25 кГц и 3 МГц [41].

Импульсный УЗ использовался для увеличения трансдермального введения индометацина у крыс [42]. Сообщается об успешном введении с помощью импульсного УЗ микрокапсулированных лекарственных противогрибковых препаратов, гормонов, витаминов, пептидов [43]. Показано, что использование УЗ низкой частоты (20 КГц) усиливает трансдермальное введение высокомолекулярных белков, таких как инсулин и γ -интерферон [44–46].

Электропорация

Электропорацию – временное повышение проницаемости мембран под действием импульсов тока высокой интенсивности – первоначально применяли в молекулярной генетике для переноса ДНК и РНК через мембраны клеток про- и эукариотов, а также для трансмембранного транспорта неорганических ионов, молекул полипептидов, ферментов, антител и различных лекарств [47]. При электропорации в бислоидной липидной мембране возникает локальная перестройка структуры, приводящая к появлению дополнительных обратимых сквозных водных каналов [48]. Электрические импульсы создают трансмембранный потенциал в 0,5–1 В длительностью 10 мкс – 10 мс в зависимости от типа волны (квадратной и/или экспоненциальной), приложенного напряжения (50–1500 В) и интервала

между импульсами (секунды или минуты). Способ электропорации сделал возможным чрескожную доставку лекарств при воспалительных заболеваниях [49]; обезболивании [50], химиотерапии опухолей [51–57]. Кроме того, электропорация расширяет возможности генной терапии, позволяющий введение ДНК, генов в клетки [58, 59], а также для вакцин [60–62].

Исследование, проведенное в университете Мурчии [63], показало, что метод электропорации электромагнитными волнами с помощью устройства TDES® – DercontDell® вызывает появление апертур «пор» или межклеточных каналов и может являться неинвазивной альтернативой доставки макромолекул без повреждения тканей или клеток. Очень интересна система трансдермальной доставки Pass Port Altea Therapeutics, с помощью которой инсулин вводится через микропоры, образованные воздействием кратковременных электроимпульсов [64]. Конструкция Pass Port Altea Therapeutics представляет собой набор из сетки тонких волокон и «кармана» с раствором ЛВ, который накладывается на кожу пациента и фиксируется наклейкой. Автономный портативный источник посылает серию разрядов, энергия передается на волокна, а затем на определенные участки кожи, в результате чего безболезненно удаляется некоторое количество мертвых клеток эпидермиса, достаточное, чтобы облегчить проникновение активных молекул через роговой слой.

Несмотря на то, что возможность применения этого подхода была доказана, безопасность использования методов доставки ЛВ, использующих технологию электропорации, все еще вызывает сомнения, так как используется высоковольтный внешний импульс, который может вызывать длительное повреждение кожи.

Использование радиочастотных импульсов

В работе J. Birchall, S. Coulman, A. Anstey et al. [65] описывается метод трансдермального транспорта наночастиц размером до 100 нм с плазмидами ДНК через микроканалы, создаваемые радиочастотными импульсами на массиве микроэлектродов (1, 2 или 5 импульсов по 700 мкс, напряжение 290–330 В, частота 100 КГц, массив из 144 электродов на площади 1,2 x 1,2 см²). После формирования сохраняющихся в течение суток микроканалов, количество которых равно количеству микроэлектродов, на данный участок кожи прикрепляется пластырь с лекарственным веществом. Система для трансдермального переноса ЛВ этим методом (ViaDerm, Viador) производится в настоящее время компанией Trans Pharma Medical, Israel.

Воздействие холодной плазмы на чрескожный перенос ЛВ

Последнее десятилетие широко изучается возможность использования холодной плазмы для клинического и биомедицинского применения [66, 67].

Плазмой называется состояние вещества, при котором в веществе присутствуют свободные электроны, положительно заряженные атомы или ионы и нейтральные атомы или молекулы. В простейшем случае плазму можно представить как ионизованный газ. В зависимости от степени ионизации атомов условно плазму делят на холодную и горячую. Холодная плазма – это состояние ионизованного газа, при котором число положительно заряженных ионов незначительно [69].

Сравнительно недавно были разработаны источники холодной плазмы (менее 40 °С в точке приложения при атмосферном давлении). Это привело к образованию нового научного направления, названного «плазменная медицина» [69]. Было продемонстрировано, что холодной плазмой можно безопасно воздействовать непосредственно на живые клетки и ткани, ускоряя положительный эффект лечения.

Плазму использовали в течение длительного времени в случаях, когда требовалась быстрая и эффективная стерилизация, подавляющая рост устойчивых бактерий, и дезинфекция [66, 67, 70–72]. Тем не менее ранее плазму никогда не применяли для усиления кожной проницаемости при трансдермальном переносе лекарственных веществ.

В настоящее время доказана способность холодной плазмы увеличивать кожную проницаемость и усиливать трансдермальный перенос больших молекул, включая липосомы (100 нм), наночастицы (50 нм), белки (115 кДа), к глубоким слоям кожи без ее повреждения [73].

Эксперименты проводили *ex vivo* на коже свиньи. Плазму генерировали с помощью микросекундного импульсного источника питания (Advanced Plasma Solutions, PA, USA), применяя переменный полярный импульс (50 Гц – 3,5 кГц), создавая величину напряжения 20 кВ между электродом высокого напряжения и кожей с импульсом продолжительностью 1–10 мкс и с нарастанием во времени на 5 В/нс. Образцы кожи обрабатывали в течение 15–120 сек. Параметры электрической плазмы были подобраны таким образом, чтобы не нанести видимых и микроскопических повреждений коже.

Первые исследования проводили с молекулами декстрана (3 кДа, гидродинамический радиус 1 нм), чтобы продемонстрировать усиление трансдермального переноса лекарственных веществ через кожу свиньи, используя разряд холодной плазмы. Было показано, что обработка в течение 1 минуты при удельной мощности 10 Вт/см² позволяет проникать молекулам декстрана в эпидермис на глубину

примерно 300 мкм. На образцах кожи без предварительной обработки плазмой молекулы декстрана остаются на поверхности. Также авторы утверждают, что одноминутное плазменное воздействие помогает переносить более крупные молекулы через роговой слой в более глубокие слои кожи: молекулы размером 10 кДа на глубину 600 мкм; 70 кДа – на глубину 150 мкм [73].

Несмотря на имеющиеся данные о проникновении ЛВ в глубокие слои кожи с помощью холодной плазмы, результатов обнаружения данных веществ в системном кровотоке пока нет. Тем не менее исследователи считают, что использование холодной плазмы как альтернативной технологии бесконтактного, неинвазивного и потенциально дешевого эффективного воздействия станет открытием в трансдермальном переносе лекарственных веществ [73].

Использование микроигл для усиления чрескожного переноса

Одним из возможных подходов преодоления кожного барьера является использование микроигл.

Микроиглы обеспечивают доставку молекул лекарственных веществ в кожу минимально инвазивными средствами путем создания микроотверстий в роговом слое, не вызывая при этом боли и снижая риск инфекции, что является основным недостатком обычных инъекционных форм лекарственных препаратов. Это достигается за счет небольшого размера микроигл, которого достаточно, чтобы преодолеть роговой слой кожи, но недостаточно, чтобы проколоть глубокие слои дермы и достичь нервных окончаний. Применение микроигл актуально в основном для доставки через кожу лекарственных веществ большой молекулярной массы, вакцин, а также молекул ДНК [74, 75].

Размер игл обычно варьируется в диапазоне от 1 до 100 мкм в длину и около 1 мкм в диаметре. Подложка, как правило, из кремниевой пластины толщиной 300–700 мкм. На единице площади подложки может содержаться до 1000 микроигл.

Для изготовления микроигл используют кремний, двуокись кремния, полимеры, стекло и другие материалы. Микроиглы из металла (нержавеющая сталь, титан, никель, железо) имеют хорошую механическую прочность и низкую стоимость изготовления, но микроиглы, изготовленные из кремния, имеют преимущество: им можно легко придать необходимую форму. Однако у кремниевых игл есть и недостаток – это хрупкость.

Известны попытки ученых в качестве чрескожной системы доставки использовать микроиглы из биodeградируемых полимеров, таких как полимолочная кислота, полигликолевая кислота или полиглутаминовая кислота. Данные микроиглы ис-

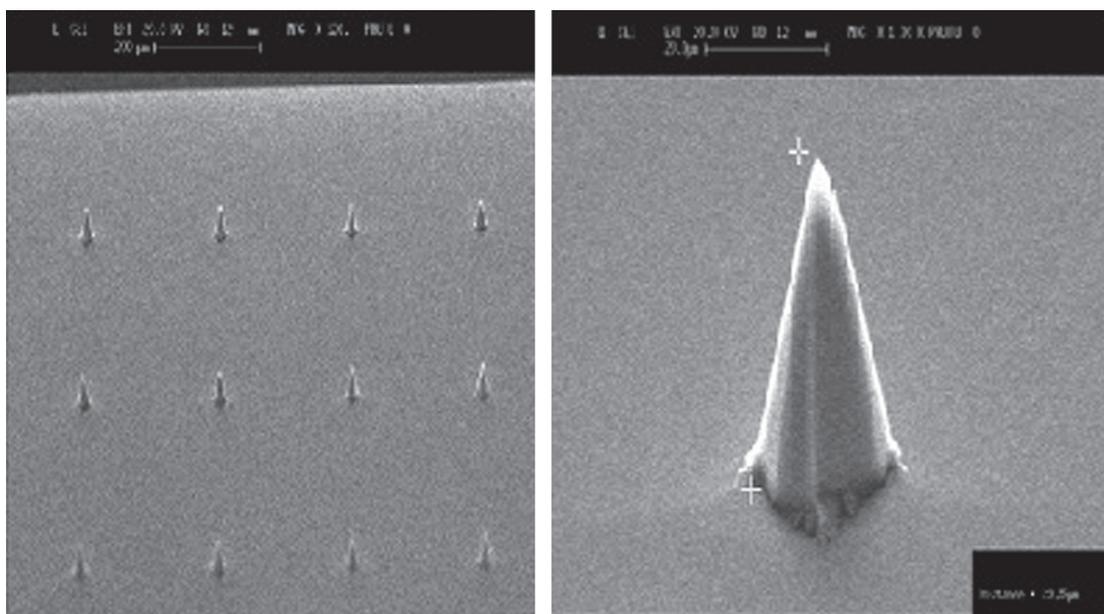


Рис. 3. Микроскопия кремниевых игл для трансдермальных терапевтических систем

Fig. 3. Microscopy of the silicon needles for transdermal delivery systems

пользуют в качестве депо для инкапсуляции ЛВ. После аппликации такой системы на кожу концы игл обламываются и служат имплантируемыми резервуарами для контролируемого высвобождения ЛВ в процессе биодеградации полимерных осколков [76]. Недостатком такой системы являются трудности с дозированием ЛВ.

Наряду с биодеградируемыми микроиглами ученые ведут разработки конструкций полых микроигл как проводников ЛВ во время аппликации трансдермальной системы, а точнее, резервуара, содержащего ЛВ. Такой способ введения ЛВ может быть применен для доставки инсулина [77].

В целях улучшения доставки препарата в сочетании с микроиглами могут быть использованы различные методы увеличения диффузии, например, электропорация. Для придания микроиглам электропроводности на них могут напыляться различные вещества, например, золото. Покртия можно наносить с помощью центрифугирования, физического (выпаривание или распыление) или химического осаждения из паровой фазы [75].

Использование микроигл для усиления чрескожной диффузии особенно актуально для полипептидов. Индийские ученые проводили испытания микроигл для доставки инсулина через кожу голых крыс с сахарным диабетом. Использование твердых микроигл из нержавеющей стали длиной 1 мм и шириной острого конца 75 мкм показало снижение уровня глюкозы в крови на 80% через 4 часа [78].

Для разработки отечественных ТТС высокомолекулярных лекарственных веществ в ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов» Мин-

здрава России совместно с ФГУП «НИИ физических проблем им. Ф.В. Лукина» были разработаны сплошные кремниевые иглы на подложке. Размер игл можно варьировать от 40 до 350 мкм, диаметр острого конца примерно 500 нм (рис. 3).

В предварительных экспериментах *in vitro* была показана принципиальная возможность увеличения чрескожной диффузии инсулина из ТТС с использованием микроигл [79].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на активное применение различных методов увеличения чрескожной диффузии при разработке ТТС, содержащих вещества большой молекулярной массы, до настоящего времени данных о регистрации и клиническом применении подобных систем нет.

Таким образом, при всевозрастающем внимании к разработке трансдермальных терапевтических систем поиск возможности усиления чрескожного переноса высокомолекулярных лекарственных веществ остается важной научной проблемой, решение которой позволит значительно расширить возможности курсового лечения и профилактики многих заболеваний.

Работа выполнена при поддержке государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (от 28.01.2015 г. ч. 1, раздел 1) «Разработка и экспериментальное исследование трансдермальных терапевтических систем (ТТС) высокомолекулярных лекарственных веществ» (№ гос. регистрации 115102010017).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Hupfeld S, Gravem H. Transdermal therapeutic systems for drug administration. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2009; 129 (6): 532–533.
2. Farlow MR, Somogyi M. Transdermal patches for the treatment of neurologic conditions in elderly patients: a review. *Prim Care Companion CNS Disord*. 2011; 13 (6). doi: 10.4088/PCC.11r01149.
3. Мизина ПГ, Быков ВА, Настина ЮИ, Фоменко ЕА. Введение лекарственных веществ через кожу – достижения и перспективы (обзор). *Вестник ВГУ. Сер.: Химия. Биология. Фармация*. 2004; 176–183. Mizi-na PG, Bykov VA, Nastina JuI, Fomenko EA. Vvedenie lekarstvennyh veshchestv cherez kozhu – dostizhenija i perspektivy (obzor). *Vestnik VGU. Ser.: Himija. Biologija. Farmacija*. 2004; 176–183.
4. Севастьянов ВИ, Саломатина ЛА, Тихобаева АА и др. Трансдермальные терапевтические системы. *Биосовместимые материалы (учебное пособие)*. Под ред. В.И. Севастьянова и М.П. Кирпичникова. Часть III, глава 2. М.: МИА, 2011; 309. Sevast'janov VI, Salomati-na LA, Tihobaeva AA i dr. Transdermal'nye terapevticheskie sistemy. *Biosovmestimye materialy (uchebnoe posobie)*. Pod red. V.I. Sevast'janova i M.P. Kirpichnikova. Chast' III, glava 2. М.: МИА, 2011; 309.
5. Береговых ВВ, Пятигорская НВ, Прудкевич ЮА и др. Трансдермальные терапевтические системы доставки лекарственных средств. *Вестник МИТХТ*. 2012; 7 (5): 17–22. Beregovyh VV, Pjatigorskaja NV, Prudkevich JuA i dr. Transdermal'nye terapevticheskie sistemy dostavki lekarstvennyh sredstv. *Vestnik MITHT*. 2012; 7 (5): 17–22.
6. N'Da DD. Prodrug strategies for enhancing the percutaneous absorption of drugs. *Molecules*. 2014; 19 (12): 20780–20807. doi:10.3390/molecules191220780.
7. Asbrill CS, EL-Kattan AF, Marchiniak B. Enhancement of transdermal drug delivery: chemical and physical approaches. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*. 2000; 17 (6): 612–658.
8. Naik A, Kalia YN, Guy RH. Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. *Pharm. Sci / Technolo. Today*. 2000; 3(9): 318–326.
9. Задумова НМ. Коллоидно-химические аспекты трансдермальной доставки лекарств (обзор). *Коллоидный журнал*. 2013; 75 (5): 543–556. Zadyumova NM. Kolloidno-himicheskie aspekty transdermal'noj dostavki lekarstv (obzor). *Kolloidnyj zhurnal*. 2013; 75 (5): 543–556.
10. Ashok K. Tiwary, Bharti Sapra, Subheet Jain. Innovations in Transdermal Drug Delivery: Formulations and Techniques. *Recent Patents on Drug Delivery and Formulation*. 2007; 1: 23–36.
11. Пат. 2465848 Российская Федерация, А61М25, А61В17/20. Способ и аппарат для образования нескольких микроканалов / Херндон Терри О.; патентообладатель Пат сайнтифик, ллк. (US) – заявка 2009144762; опубл. 10.11.2012. Xerndon Terri O. Spособ i apparat dlja obrazovanija neskol'kih mikrokanalov [Method and apparatus for forming multiple microchannels] Patent RF, no. 2465848, 2012.
12. Subedi RK, Oh SY, Chun MK, Choi HK. Recent advances in transdermal drug delivery. *Arch Pharm Res*. 2010; 33 (3): 339–351. doi: 10.1007/s12272-010-0301-7.
13. Sugino M, Todo H, Sugibayashi K. Skin permeation and transdermal delivery systems of drugs: history to overcome barrier function in the stratum corneum. *Yakugaku Zasshi*. 2009; 129 (12): 1453–1458.
14. Parhi R, Suresh P, Patnaik S. Physical means of stratum corneum barrier manipulation to enhance transdermal drug delivery. *Curr Drug Deliv*. 2014. doi: 10.2174/1567201811666140515145329.
15. Paudel KS, Milewski M, Swadley CL. Challenges and opportunities in dermal/transdermal delivery. *Ther Deliv*. 2010; 1 (1): 109–131.
16. Karande P, Mitragotri S. Enhancement of transdermal drug delivery via synergistic action of chemicals. *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1788 (11): 2362–2373. doi: 10.1016/j.bbame.2009.08.015.
17. Benson HA. Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques. *Curr Drug Deliv*. 2005; 2 (1): 23–33.
18. Ahad A, Aqil M, Kohli K (et al). Chemical penetration enhancers: a patent review. *Expert Opin Ther Pat*. 2009; 19 (7): 969–988. doi: 10.1517/13543770902989983.
19. Aggarwal G, Dhawan S, HariKumar SL. Natural oils as skin permeation enhancers for transdermal delivery of olanzapine: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Curr Drug Deliv*. 2012; 9 (2): 172–181.
20. Wohlrab J, Kreft B, Tamke B. Skin tolerability of transdermal patches. *Expert Opin Drug Deliv*. 2011; 8 (7): 939–948.
21. Kogan A, Garti N. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles. *Adv Colloid Interface Sci*. 2006; 123–126: 369–385.
22. Lopes LB. Overcoming the cutaneous barrier with microemulsions. *Pharmaceutics*. 2014; 6 (1): 52–77. doi:10.3390/pharmaceutics6010052.
23. Otto A, du Plessis J, Wiechers JW. Formulation effects of topical emulsions on transdermal and dermal delivery. *Int J Cosmet Sci*. 2009; 31 (1): 1–19. doi: 10.1111/j.1468-2494.2008.00467.x.
24. Heuschkel S, Goebel A, Neubert RH. Microemulsions-modern colloidal carrier for dermal and transdermal drug delivery. *J Pharm Sci*. 2008; 97 (2): 603–631.
25. Date AA, Patravale VB. Microemulsions: applications in transdermal and dermal delivery. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*. 2007; 24 (6): 547–596.
26. Azeem A, Khan ZI, Aqil M, Ahmad FJ, Khar RK, Talegaonkar S. Microemulsions as a surrogate carrier for dermal drug delivery. *Drug Dev Ind Pharm*. 2009; 35 (5): 525–547. doi: 10.1080/03639040802448646.
27. Кузнецова ЕГ, Курьлева ОМ, Саломатина ЛА, Севастьянов ВИ. Матричные трансдермальные системы доставки кофеина на основе полимерной и эмульсионной композиций. *Медицинская техника*. 2008; 3: 33–35. Kuznetsova EG, Kuryleva OM, Salomatina LA, Sevast'yanov VI. Matrix transdermal systems for caffeine delivery based of polymer atv emulsion compounds. *Journal Biomedical Engineering*. 2008; 42 (3): 141–144. [English abstract].

28. Севастьянов ВИ, Саломатина ЛА, Кузнецова ЕГ, Собко ОМ, Шумаков ВИ. Матричные и резервуарные трансдермальные терапевтические системы инсулина на основе нетканых и полимерных материалов. *Перспективные материалы*. 2004; 4: 44–48. Sevast'janov VI, Salomatina LA, Kuznetsova EG, Sobko OM, Shumakov VI. Matrichnye i rezervuarnye transdermal'nye terapevticheskie sistemy insulina na osnove netkanyh i polimernyh materialov. *Perspektivnye materialy*. 2004; 4: 44–48.
29. Севастьянов ВИ, Саломатина ЛА, Кузнецова ЕГ, Серегина МВ, Басок ЮБ. Трансдермальная лекарственная форма ацизола – антидота угарного газа. *Перспективные материалы*. 2008; 6: 55–59. Sevast'janov VI, Salomatina LA, Kuznetsova EG, SerEGINA MV, Basok JuB. Transdermal'naja lekarstvennaja forma acizola – antidota ugarnogo gaza. *Perspektivnye materialy*. 2008; 6: 55–59.
30. Рыжикова ВА. Трансдермальная терапевтическая система бромокаина на основе биосовместимой микроэмульсионной композиции: дис. ... канд биол. наук. М., 2015: 108. Ryzhikova VA. Transdermal'naja terapevticheskaja sistema bromokaina na osnove biosovmestimoy mikroemul'sionnoj kompozicii [Dissertation]. М., 2015:108.
31. Кравченко ИА, Андронати СА, Ларионов ВБ. Физико-химические основы усиления трансдермального введения лекарственных. О.: Астропринт, 2002: 224. Kravchenko IA, Andronati SA, Larionov VB. Fiziko-himicheskie osnovy usilenija transdermal'nogo vvedenija lekarstvennyh. О.: Astroprint, 2002: 224.
32. Vulta NB, Betageri, GV, Banga AK. Transdermal iontophoretic delivery of enkephalin formulated in liposomes. *J Pharm. Sci.* 1996; 85 (1): 5–8.
33. Banga AK, Bose S, Ghosh TK. Iontophoresis and electroporation: comparisons and contrasts. *Int J Pharm.* 1999; 179: 1–19.
34. Fang JY, Sung KC, Lin HH, Fang CL. Transdermal iontophoretic delivery of enoxacin from various liposome-encapsulated formulations. *J Control Release.* 1999; 60: 1–10.
35. Han I, Kim M, Kim J. Enhanced transfollicular delivery of adriamycin with a liposome and iontophoresis. *Exp Dermatol.* 2004; 13 (2): 86–92.
36. Smith NB. Perspectives on transdermal ultrasound mediated drug delivery. *International Journal of Nanomedicine.* 2007; 4 (V.2): 585–594.
37. Кравченко ИА, Михайлова ТВ, Скипа МИ. Ультразвук в усилении трансдермального введения лекарственных препаратов. *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2011; 2 (24): 13–22. Kravchenko IA, Mihajlova TV, Skipa MI. Ul'trazvuk v usilenii transdermal'nogo vvedenija lekarstvennyh preparatov. *Aktual'nye problemy transportnoj mediciny*. 2011; 2 (24): 13–22.
38. Weimann et al. Metod and apparatus for *in vivo* transdermal and/or intradermal delivery of drugs by sonoporation // Patent USA no. 6487447. 2002.
39. Bommannan et al. Ultrasound-enhanced delivery of materials into and through the skin // Patent USA no. 5323769. 1994.
40. Rowe et al. Ultrasound enhancement of transdermal transport // Patent USA no. 6234990. 2001.
41. McDaniel. Ultrasound enhancement of percutaneous drug absorption // Patent USA no. 7004933. 2006.
42. Acano J, Suisha F, Takada M et al. Effect of pulsed output ultrasound on the transdermal absorption of indomethacin from an ointment in rats. *Biol Pharm Bull.* 1997; 20: 288–291.
43. Weimann et al. Metod and apparatus for intradermal incorporation of microparticles containing encapsulated drug low frequency ultrasound enhance transdermal delivery // Patent USA no. 6712805. 2004.
44. Mitragotri et al. Transdermal delivery of encapsulated drugs // Patent USA no. 675814599. 1998.
45. Eppstein JA, Delcer NK, Hatch MR. Insulin infusion with Micropor peptide and protein delivery system. *Altea Development Corporation.* 2000.
46. Weimann. Intradermal incorporation of microparticles containing encapsulated drugs using low frequency ultrasound // Patent USA no. 7232431. 2007.
47. Teruel MN, Blanpied TA, Shen K, Augustine GJ, Mayer T. A versatile microporation technique for the transfection of cultured CNS neurons. *Neurosci methods.* 1999; 93 (1): 37–48.
48. Denet AR, Vanbeer R, Preat V. Skin electroporation for transdermal and topical delivery. *Adv. Drug Deliv Rev.* 2004; 56 (5): 659–674.
49. Badkar AV, Betagen GV, Hofmann GA, Banga AK. Enhancement of transdermal iontophoretic delivery of a liposomal formulation of colchicines by electroporation. *Drug Deliv.* 1999; 6: 111–115.
50. Lan CY, Tan PH, Cheng JT, Lu HF, Lin MW, Hsiao PN et al. Immunoneutralization of c-Fos using intrathecal antibody electroporation attenuates chronic constrictive injury-induced hyperalgesia and regulates prepodysmorphin expression in rats. *Anesthesiology.* 2003; 99 (4): 938–946.
51. Hyacinthe M, Jaroszeski MJ, Dang VV, Copola D, Karl RC, Gilbert RA et al. Electrically enhanced drug delivery for the treatment of soft tissue sarcoma. *Cancer.* 1999; 85 (2): 409–417.
52. Jaroszeski MJ, Dang V, Pottinger C, Hickey J, Gilbert R, Heller R. Toxicity of anticancer agents mediated by electroporation *in vitro*. *Anticancer Drugs.* 2000; 11 (3): 201–208.
53. Mir LM, Glass LF, Sersa G, Teissie J, Domenge C, Miklavcic D et al. Effective treatment of cutaneous and subcutaneous malignant tumours by electrochemotherapy. *Br J Cancer.* 1998; 77 (12); 2336–2342.
54. Gehl J, Geertsen PF. Efficient palliation of haemorrhaging malignant melanoma skin metastases by electrochemotherapy. *Melanoma Res.* 2000; 10 (6): 585–589.
55. Sersa G, Stabuc B, Cemazar M, Miklavcic D, Rudolf Z. Electrochemotherapy with cisplatin: the systemic antitumour effectiveness of cisplatin can be potentiated locally by the application of electric pulses in the treatment of malignant melanoma skin metastases. *Melanoma Res.* 2000; 10 (4): 381–385.
56. Vicente-Ortega V, Martinez C, Yanez J, Canteras-Jordana M. Melanoma metastasico pulmonary: efectos del etanol y flavonoides. *Rev. Esp. patol.* 2003; 36 (4): 425–432.

57. Rubin E, Gorstein F, Schwarting R, Strayer DS. Cell injury. Strayer D, ed. *Rubin's Pathology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2005.
58. Li S, Xia X, Mellieon FM, Liu J, Steele S. Candidate genes associated with tumor regression mediated by intratumoral IL-12 electroporation gene therapy. *Mol Ther*. 2004; 9 (3): 347–354.
59. Dean DA. Electroporation of the vasculature and the lung. *DNA Cell Biol*. 2003; 22 (12): 797–806.
60. Li S, Benninger M. Applications of muscle electroporation gene therapy. *Curr Gene Ther*. 2002; 2 (1): 101–105.
61. Dayball K, Millar J, Miller M, Wan YH, Bramson J. Electroporation enables plasmid vaccines to elicit CD8 + T cell responses in the absence of CD4 + T cells. *J Immunol*. 2003; 171 (7): 3379–3384.
62. Davalos RV, Otten DM, Mir LM, Rubinsky B. Electrical impedance tomography for imaging tissue electroporation. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2004; 51 (5): 761–767.
63. Морфологические и биохимические доказательства доставки макромолекул путем электропорации с помощью электромагнитных волн (TDES® – DERCONT DELL®). Университет Мурчии. URL: <http://lib.znate.ru/docs/index-230073.html> (дата обращения: 01.02.2016). Морфологические и биохимические доказательства доставки макромолекул путем электропорации с помощью электромагнитных волн (TDES® – DERCONT DELL®). Университет Мурчии. URL: <http://lib.znate.ru/docs/index-230073.html> (дата обращения: 01.02.2016).
64. Манешина ОА, Ерофеева СБ, Леонова МВ. Новые инъекционные формы инсулинов. *Лечебное дело*. 2011; 3: 17–24. Maneshina OA, Erofeeva SB, Leonova MV. Novye neinekcionnye formy insulinov. *Lechebnoe delo*. 2011; 3: 17–24.
65. Birchall J, Coulman S, Anstey A, Gateley C, Sweetland H, Gershonowitz A, Neville L, Levin G. Cutaneous gene expression of plasmid DNA in excised human skin following delivery via microchannels created by radio frequency ablation. *Int J Pharm*. 2006; 7: 15–23.
66. Friedman G, Gutsol A, Shekhter AB, Vasilets VN, Fridman A. Applied plasma medicine. *Plasma Process. Polym*. 2008; 5: 503–533.
67. Moreau M, Orange N, Feuilloley MGJ. Non-thermal plasma technologies: new tools for biodecontamination. *Biotechnol. Adv*. 2008; 26: 610–617.
68. Kong MG, Kroesen G, Morfill G, van Dijk J, Nosenko T, Zimmermann JL, Shimizu T. Plasma medicine: an introductory review. *New Journal of Physics*. 2009; 11: 35.
69. Жданов СК, Курнаев ВА, Романовский МК, Цветков ИВ. Основы физических процессов в плазме и плазменных установках: Учебное пособие. М.: МИФИ, 2000: 184. Zhdanov SK, Kurnaev VA, Romanovskij MK, Cvetkov IV. Osnovy fizicheskikh processov v plazme i plazmennyh ustanovkakh: Uchebnoe posobie. M: MIFI, 2000: 184.
70. Deng S, Ruan R, Mok CK, Huang G, Lin X, Chen P. Inactivation of *Escherichia coli* on almonds using nonthermal plasma. *J. Food Sci*. 2007; 72: 62–66.
71. Deilmann M, Halfmann H, Bibinov N, Wunderlich J, Awakowicz P. Low-pressure microwave plasma sterilization of polyethylene terephthalate bottles. *J. Food Prot*. 2008; 71: 2119–2123.
72. Selcuk M, Oksuz L, Basaran P. Decontamination of grains and legumes infected with *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. by cold plasma treatment. *Bioresour. Technol*. 2008; 99: 5104–5109.
73. Kalghatgi S, Antonakas DP, Tsai T-Ch, Gray RL et al. Transdermal delivery of DNA Vaccines using non-thermal plasma. Patent US no. 2015/0151135 A1.
74. Bauerova K, Matusova D, Kassai Z. Chemical enhancers for transdermal drug transport. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2001; 26 (1–2): 85–94.
75. Lievin Daugimont, Nolwenn Baron, Gaëlle Vandermeulen, Natasa Pavselj, Damijan Miklavcic, Marie-Caroline Jullien et al. Hollow Microneedle Arrays for Intradermal Drug Delivery and DNA Electroporation. *J Membrane Biol*. 2010; 236: 117–125.
76. Chen MC, Ling M, Kusuma SJ. Poly-γ-glutamic acid microneedles with a supporting structure design as a potential tool for transdermal delivery of insulin. *Acta Biomater*. 2015; 24: 106–116.
77. Chanda Silpi, Bagga Manish, Tiwari Raj Kumar. Microneedles in transdermal drug delivery: an unique painless option. *International research journal of pharmacy*. 2011; 2 (4): 72–78.
78. Bora P, Kumar L, Bansal A. Microneedle technology for advanced drug delivery: Evolving Vistas. *CRIP*. 2008; 9: 7–10.
79. Гоникова ЗЗ. Результаты предварительных исследований диффузии инсулина через перфорированную кожу кролика в условиях *in vitro*. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. X Международная (XIX Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых. М., 19 марта 2015: 842. Gonikova ZZ. Rezul'taty predvaritel'nyh issledovanij diffuzii insulinu cherez perforirovannuju kozhu krolika v uslovijah *in vitro*. *Vestnik Rossijskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. X Mezhdunarodnaja (XIX Vserossijskaja) Pirogovskaja nauchnaja medicinskaja konferencija studentov i molodyh uchenyh. M., 19 marta 2015: 842.

Статья поступила в редакцию 09.03.2016 г.
The article was submitted to the journal on 09.03.2016