(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202091160 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.11.30

(22) Дата подачи заявки
2014.09.30

(51) Int. Cl. ***A61K 8/64*** (2006.01)
A61K 8/19 (2006.01)
A61K 8/20 (2006.01)
A61K 8/30 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 38/01 (2006.01)
A61Q 17/04 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
C07K 1/12 (2006.01)
C07K 14/435 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИИ ИЗ ФРАГМЕНТОВ БЕЛКОВ ШЕЛКА И ИЗДЕЛИЯ, ИЗГОТОВЛЕННЫЕ ИЗ НИХ

(31) **61/884,820; 62/000,928; 62/036,450; 14/503,021; 14/503,076**
(32) **2013.09.30; 2014.05.20; 2014.08.12; 2014.09.30; 2014.09.30**
(33) **US**
(62) **201690712; 2014.09.30**
(71) Заявитель:
СИЛК ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Алтман Грегори Х., Хоран Ребекка Л., Дау Рейчел Ли, Линд Рейчел М., Хаас Дилан С. (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Описана композиция, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, в основном свободные от серицина, где композиция обладает средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 17 до приблизительно 38 кДа, где композиция обладает полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0, где композиция является по существу гомогенной, где композиция содержит между 0 и приблизительно 500 м.д. неорганических остатков и где композиция содержит между 0 и приблизительно 500 м.д. органических остатков.

202091160 A1

202091160 A1

КОМПОЗИЦИИ ИЗ ФРАГМЕНТОВ БЕЛКОВ ШЕЛКА И ИЗДЕЛИЯ, ИЗГОТОВЛЕННЫЕ ИЗ НИХ

РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

По настоящей заявке испрашивается приоритет и преимущества Заявки на патент на изобретение США No. 14/503021, поданной 30 сентября 2014 года, Заявки на патент на изобретение США No. 14/503076, поданной 30 сентября 2014 года, Предварительной заявки США No. 61/884820, поданной 30 сентября 2013 года, Предварительной заявки США No. 62/000928, поданной 20 мая 2014 года, и Предварительной заявки США No. 62/036450, поданной 12 августа 2014 года. Полное содержание каждой из этих заявок включено в настоящий документ в качестве ссылки,

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Шелк представляет собой природный полимер, производимый множеством насекомых и пауков. Шелк содержит филаментный коровый белок, фиброин шелка, и подобное клею покрытие, состоящее из нефиламентного белка, серицина. Шелк исторически исследовали для применения в области медицины. Шелк хорошо описан в его природной волокнистой форме, и проводят дополнительные исследования его потенциально применимых вторичных форм, таких как шелковые гели, губки, сыворотки, пленки, порошки и композиты. Многие из этих вторичных форм можно получать только после переработки волокон шелка в водный раствор шелка.

Растворы шелка получают с использованием множества способов, где конечные растворы обладают диапазоном характеристик и различными уровнями чистоты. Растворы шелка не только используют для медицинских применений, но также распространяют на другие области, такие как косметика и электроника.

СУЩНОСТЬ

Композиции из фрагментов белков шелка и изделия, изготовленные из них, описаны в настоящем документе. Композиции из фрагментов белков шелка перерабатывают далее для удаления воды до различных уровней, получая в результате диапазон изделий от лиофилизированного порошка до водных гелей. В одном из

вариантов осуществления изделие по настоящему описанию представляет собой шелковую пленку. В одном из вариантов осуществления шелковую пленку по настоящему описанию можно использовать для устранения мелких морщин и морщин кожи, например, мелких морщин и морщин вокруг рта и носа. В одном из вариантов осуществления шелковую пленку по настоящему описанию можно использовать для устранения темных пятен на коже. В одном из вариантов осуществления шелковую пленку по настоящему описанию используют для уменьшения припухлости вокруг глаз. В одном из вариантов осуществления изделие по настоящему описанию представляет собой шелковый гель. В одном из вариантов осуществления шелковый гель по настоящему описанию можно использовать в качестве геля для укрепления области вокруг глаз. В одном из вариантов осуществления шелковый гель по настоящему описанию может восстанавливать влажность и усиливать обновление клеток с восстановлением в то же время яркости. В одном из вариантов осуществления шелковый гель по настоящему описанию представляет собой успокаивающий гель. В одном из вариантов осуществления шелковый гель по настоящему описанию используют для уменьшения припухлости вокруг глаз. В одном из вариантов осуществления шелковый гель по настоящему описанию используют для уменьшения темных кругов вокруг глаз. В одном из вариантов осуществления изделие по настоящему описанию представляет собой шелковую сыворотку. В одном из вариантов осуществления шелковую сыворотку по настоящему описанию можно использовать в качестве гидратирующей сыворотки для восстановления гидратации кожи. В одном из вариантов осуществления шелковую сыворотку по настоящему описанию можно использовать для лечения покраснений, акне и гиперпигментации кожи. В одном из вариантов осуществления изделие по настоящему описанию представляет собой химическое отшелушивающее средство на основе шелка, разрушающее кожу контролируемым образом. В одном из вариантов осуществления химическое отшелушивающее средство на основе шелка по настоящему описанию, при нанесении на кожу, приводит к здоровой яркой коже. В одном из вариантов осуществления химическое отшелушивающее средство на основе шелка по настоящему описанию при нанесении на

кожу, приводит к уменьшению мелких морщин. В одном из вариантов осуществления химическое отшелушивающее средство на основе шелка по настоящему описанию, при нанесении на кожу, приводит к укреплению кожи. В одном из вариантов осуществления изделие по настоящему описанию представляет собой шелковый солнцезащитный гель.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описаны способы получения водных растворов из белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления получают раствор смеси по меньшей мере одного белкового фрагмента на основе чистого фиброина шелка (SPF), обладающий специфическим диапазоном средней средневзвешенной молекулярной массы (MW) и полидисперсностью. В одном из вариантов осуществления получают раствор смеси по меньшей мере одного SPF, обладающий диапазоном MW между приблизительно 6 кДа и 16 кДа, и диапазоном полидисперсности между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0. В одном из вариантов осуществления получают раствор смеси по меньшей мере одного SPF, обладающий MW между приблизительно 17 кДа и 38 кДа, и диапазоном полидисперсности между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0. В одном из вариантов осуществления получают раствор смеси по меньшей мере одного SPF, обладающий диапазоном MW между приблизительно 39 кДа и 80 кДа, и диапазоном полидисперсности между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описана композиция, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, которые являются в основном свободными от серицина, где композиция обладает средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне между приблизительно 6 кДа и приблизительно 16 кДа, где композиция обладает полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0, где композиция является по существу гомогенной, где композиция содержит между 0 м.д. и приблизительно 500 м.д. неорганических остатков, и где композиция содержит между 0 м.д. и приблизительно 500 м.д. органических остатков. В одном из вариантов осуществления

белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка содержат между приблизительно 10 м.д. и приблизительно 300 м.д. остатков бромида лития, и между приблизительно 10 м.д. и приблизительно 100 м.д. остатков карбоната натрия. В одном из вариантов осуществления остатки бромида лития поддаются измерению с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии бромида лития, и остатки карбоната натрия поддаются измерению с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии карбоната натрия. В одном из вариантов осуществления композиция дополнительно содержит менее 10% воды. В одном из вариантов осуществления композиция находится в форме лиофилизированной структуры, такой как лиофилизированный порошок. В одном из вариантов осуществления композиция находится в форме раствора. В одном из вариантов осуществления композиция содержит от приблизительно 0,1% масс. до приблизительно 30,0% масс. белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются стабильными в растворе в течение по меньшей мере 30 суток. В одном из вариантов осуществления термин «стабильный» относится к отсутствию спонтанного или постепенного гелеобразования, без видимых изменений цвета или мутности раствора. В одном из вариантов осуществления термин «стабильный» относится к отсутствию агрегации фрагментов и таким образом, к отсутствию увеличения молекулярной массы с течением времени. В одном из вариантов осуществления композиция находится в форме водного раствора. В одном из вариантов осуществления композиция находится в форме органического раствора. Композицию можно предоставлять в герметично закрытом контейнере. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит одну или несколько молекул, выбранных из группы, состоящей из терапевтических средств, факторов роста, противоокислительных средств, белков, витаминов, углеводов, полимеров, нуклеиновых кислот, солей, кислот, оснований, биомолекул, гликозаминогликанов, полисахаридов, молекул внеклеточного матрикса, металлов, ионов металла, оксидов металла, синтетических молекул, полиангидридов, клеток, жирных кислот,

ароматизаторов, минералов, растений, экстрактов растений, консервантов и эфирных масел. В одном из вариантов осуществления добавленная молекула или молекулы являются стабильными (т.е., сохраняют активность с течением времени) в композиции и могут высвобождаться с желательной скоростью. В одном из вариантов осуществления одна или несколько молекул представляет собой витамин С или его производное. В одном из вариантов осуществления композиция дополнительно содержит альфа-гидроксикислоту, выбранную из группы, состоящей из глицериновой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты и лимонной кислоты. В одном из вариантов осуществления композиция дополнительно содержит гиалуроновую кислоту или ее форму соли в концентрации от приблизительно 0,5% до приблизительно 10,0%. В одном из вариантов осуществления композиция дополнительно содержит по меньшей мере один из оксида цинка или диоксида титана. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка в композиции являются гипоаллергенными. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются биосовместимыми, несенсибилизирующими и неиммуногенными. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются биорезорбируемыми или биоразлагаемыми после имплантации или нанесения.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описана композиция, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, которые являются в основном свободными от серицина, где композиция обладает средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 17 кДа до приблизительно 38 кДа, где композиция обладает полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0, где композиция является по существу гомогенной, где композиция содержит между 0 м.д. и приблизительно 500 м.д. неорганических остатков, и где композиция содержит между 0 м.д. и приблизительно 500 м.д. органических остатков. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка содержат между приблизительно 10 м.д. и

приблизительно 300 м.д. остатков бромида лития, и между приблизительно 10 м.д. и приблизительно 100 м.д. остатков карбоната натрия. В одном из вариантов осуществления остатки бромида лития поддаются измерению с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии бромида лития, и остатки карбоната натрия поддаются измерению с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии карбоната натрия. В одном из вариантов осуществления композиция дополнительно содержит менее 10% воды. В одном из вариантов осуществления композиция находится в форме лиофилизированной структуры, такой как лиофилизированный порошок. В одном из вариантов осуществления композиция находится в форме раствора. В одном из вариантов осуществления композиция содержит от приблизительно 0,1% масс. до приблизительно 30,0% масс. белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются стабильными в растворе в течение по меньшей мере 30 суток. В одном из вариантов осуществления термин «стабильный» относится к отсутствию спонтанного или постепенного гелеобразования, без видимых изменений цвета или мутности раствора. В одном из вариантов осуществления термин «стабильный» относится к отсутствию агрегации фрагментов и таким образом, к отсутствию увеличения молекулярной массы с течением времени. В одном из вариантов осуществления композиция находится в форме водного раствора. В одном из вариантов осуществления композиция находится в форме органического раствора. Композицию можно предоставлять в герметично закрытом контейнере. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит одну или несколько молекул, выбранных из группы, состоящей из терапевтических средств, факторов роста, противоокислительных средств, белков, витаминов, углеводов, полимеров, нуклеиновых кислот, солей, кислот, оснований, биомолекул, гликозаминогликанов, полисахаридов, молекул внеклеточного матрикса, металлов, ионов металла, оксидов металла, синтетических молекул, полиангидридов, клеток, жирных кислот, ароматизаторов, минералов, растений, экстрактов растений,

консервантов и эфирных масел. В одном из вариантов осуществления добавленная молекула или молекулы являются стабильными (т.е., сохраняют активность с течением времени) в композиции и могут высвобождаться с желательной скоростью. В одном из вариантов осуществления одна или несколько молекул представляет собой витамин С или его производное. В одном из вариантов осуществления композиция дополнительно содержит альфа-гидроксикислоту, выбранную из группы, состоящей из глицериновой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты и лимонной кислоты. В одном из вариантов осуществления композиция дополнительно содержит гиалуроновую кислоту или ее форму соли в концентрации от приблизительно 0,5% до приблизительно 10,0%. В одном из вариантов осуществления композиция дополнительно содержит по меньшей мере один из оксида цинка или диоксида титана. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка в композиции являются гипоаллергенными. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются биосовместимыми, несенсибилизирующими и неиммуногенными. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются биорезорбируемыми или биоразлагаемыми после имплантации или нанесения.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описана композиция, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, которые являются в основном свободными от серицина, где композиция обладает средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 39 кДа до приблизительно 80 кДа, где композиция обладает полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0, где композиция является по существу гомогенной, где композиция содержит между 0 м.д. и приблизительно 500 м.д. неорганических остатков, и где композиция содержит между 0 м.д. и приблизительно 500 м.д. органических остатков. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка содержат между приблизительно 10 м.д. и приблизительно 300 м.д. остатков бромида лития, и между

приблизительно 10 м.д. и приблизительно 100 м.д. остатков карбоната натрия. В одном из вариантов осуществления остатки бромида лития поддаются измерению с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии бромида лития, и остатки карбоната натрия поддаются измерению с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии карбоната натрия. В одном из вариантов осуществления композиция дополнительно содержит менее 10% воды. В одном из вариантов осуществления композиция находится в форме лиофилизированной структуры, такой как лиофилизированный порошок. В одном из вариантов осуществления композиция находится в форме раствора. В одном из вариантов осуществления композиция содержит от приблизительно 0,1% масс. до приблизительно 30,0% масс. белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются стабильными в растворе в течение по меньшей мере 30 суток. В одном из вариантов осуществления термин «стабильный» относится к отсутствию спонтанного или постепенного гелеобразования, без видимых изменений цвета или мутности раствора. В одном из вариантов осуществления термин «стабильный» относится к отсутствию агрегации фрагментов и таким образом, к отсутствию увеличения молекулярной массы с течением времени. В одном из вариантов осуществления композиция находится в форме водного раствора. В одном из вариантов осуществления композиция находится в форме органического раствора. Композицию можно предоставлять в герметично закрытом контейнере. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит одну или несколько молекул, выбранных из группы, состоящей из терапевтических средств, факторов роста, противоокислительных средств, белков, витаминов, углеводов, полимеров, нуклеиновых кислот, солей, кислот, оснований, биомолекул, гликозаминогликанов, полисахаридов, молекул внеклеточного матрикса, металлов, ионов металла, оксидов металла, синтетических молекул, полиангидридов, клеток, жирных кислот, ароматизаторов, минералов, растений, экстрактов растений, консервантов и эфирных масел. В одном из вариантов осуществления

добавленная молекула или молекулы являются стабильными (т.е., сохраняют активность с течением времени) в композиции и могут высвобождаться с желательной скоростью. В одном из вариантов осуществления одна или несколько молекул представляет собой витамин С или его производное. В одном из вариантов осуществления композиция дополнительно содержит альфа-гидроксикислоту, выбранную из группы, состоящей из глицериновой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты и лимонной кислоты. В одном из вариантов осуществления композиция дополнительно содержит гиалуроновую кислоту или ее форму соли в концентрации от приблизительно 0,5% до приблизительно 10,0%. В одном из вариантов осуществления композиция дополнительно содержит по меньшей мере один из оксида цинка или диоксида титана. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка в композиции являются гипоаллергенными. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются биосовместимыми, несенсибилизирующими и неиммуногенными. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются биорезорбируемыми или биоразлагаемыми после имплантации или нанесения.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описана пленка, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, в основном свободные от серицина и обладающие: средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 17 кДа до приблизительно 38 кДа; и полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0, где пленка обладает содержанием воды в диапазоне от приблизительно 2,0% масс. до приблизительно 20,0% масс., где пленка содержит между 0 м.д. и 500 м.д. неорганических остатков, где пленка содержит между 0 м.д. и 500 м.д. органических остатков, и где пленка является достаточно гибкой, чтобы подстраиваться под анатомическую топографию. В одном из вариантов осуществления пленка содержит от приблизительно 1,0% до приблизительно 50,0% кристаллических белковых доменов и является растворимой при погружении в воду

при комнатной температуре. В одном из вариантов осуществления пленка содержит от приблизительно 30,0% масс. до приблизительно 99,5% масс. белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления пленка обладает pH от приблизительно 1,0 до приблизительно 7,0. В одном из вариантов осуществления пленка дополнительно содержит от приблизительно 0,5% масс. до приблизительно 2,5% масс. кофеина. В одном из вариантов осуществления пленка дополнительно содержит от приблизительно 1,0% масс. до приблизительно 50,0% масс. витамина C или его производного. В одном из вариантов осуществления витамин C или его производное остается стабильным внутри пленки в течение периода от приблизительно 5 суток до приблизительно 5 лет. В одном из вариантов осуществления витамин C или его производное является стабильным внутри пленки, что приводит к высвобождению витамина C в биологически активной форме. В одном из вариантов осуществления пленка дополнительно содержит одну или несколько молекул, выбранных из группы, состоящей из терапевтических средств, факторов роста, противоокислительных средств, белков, витаминов, углеводов, полимеров, нуклеиновых кислот, солей, кислот, оснований, биомолекул, гликозаминогликанов, полисахаридов, молекул внеклеточного матрикса, металлов, ионов металла, оксидов металла, синтетических молекул, полиангидридов, клеток, жирных кислот, ароматизаторов, минералов, растений, экстрактов растений, консервантов и эфирных масел. В одном из вариантов осуществления пленка дополнительно содержит альфа-гидроксикислоту, выбранную из группы, состоящей из глицериновой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты и лимонной кислоты. В одном из вариантов осуществления пленка дополнительно содержит гиалуроновую кислоту или ее форму соли в концентрации в диапазоне от приблизительно 0,5% масс. до приблизительно 10,0% масс. В одном из вариантов осуществления пленка дополнительно содержит по меньшей мере один из оксида цинка или диоксида титана. В одном из вариантов осуществления пленку упаковывают в упаковку на основе фольги, которая является воздухонепроницаемой и светонепроницаемой. В одном из вариантов осуществления пленка соответствующим образом

разработана для местного применения. В одном из вариантов осуществления местное применение предназначено для косметического применения. В одном из вариантов осуществления местное применение предназначено для перевязки ран. В одном из вариантов осуществления пленка соответствующим образом разработана для введения внутрь организма. В одном из вариантов осуществления, белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются гипоаллергенными. В одном из вариантов осуществления, способ уменьшения мелких морщин и морщин включает в себя нанесение пленки по настоящему описанию ежесуточно на кожу человека в течение периода по меньшей мере одной недели и наблюдение уменьшения мелких морщин и морщин на коже человека.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описан гель, содержащий белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, в основном свободные от серицина и обладающие: средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 17 кДа до приблизительно 38 кДа; и полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0; и содержащий воду от приблизительно 20% масс. до приблизительно 99,9% масс., где гель содержит между 0 м.д. и 500 м.д. неорганических остатков, и где гель содержит между 0 м.д. и 500 м.д. органических остатков. В одном из вариантов осуществления гель содержит между приблизительно 1,0% и приблизительно 50,0% кристаллических белковых доменов. В одном из вариантов осуществления гель содержит от приблизительно 0,1% масс. до приблизительно 6,0% масс. белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления гель обладает pH от приблизительно 1,0 до приблизительно 7,0. В одном из вариантов осуществления гель дополнительно содержит от приблизительно 0,5% масс. до приблизительно 20,0% масс. витамина C или его производного. В одном из вариантов осуществления витамин C или его производное остается стабильным внутри геля в течение периода от приблизительно 5 суток до приблизительно 5 лет. В одном из вариантов осуществления витамин C или его производное является стабильным внутри геля, что приводит к высвобождению витамина C в биологически активной форме. В одном

из вариантов осуществления гель дополнительно содержит добавку, выбранную из группы, состоящей из витамина Е, розмаринового масла, розового масла, лимонного сока, лемонграссового масла и кофеина. В одном из вариантов осуществления гель упаковывают в воздухонепроницаемый контейнер. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются гипоаллергенными. В одном из вариантов осуществления гель содержит менее 10 колониеобразующих единиц на миллилитр. В одном из вариантов осуществления способ выравнивания и омоложения кожи человека включает в себя нанесение геля по настоящему описанию ежесуточно на кожу человека в течение периода по меньшей мере одной недели и наблюдение улучшения текстуры кожи.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описана сыворотка, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, в основном свободные от серицина и обладающие: средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 17 кДа до приблизительно 38 кДа; и полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0; и от приблизительно 0,5% до приблизительно 10,0% гиалуроновой кислоты или ее формы соли, где сыворотка содержит между 0 м.д. и 500 м.д. неорганических остатков, и где сыворотка содержит между 0 м.д. и 500 м.д. органических остатков. В одном из вариантов осуществления сыворотка содержит между приблизительно 1,0% и приблизительно 50,0% кристаллических белковых доменов. В одном из вариантов осуществления сыворотка содержит от приблизительно 0,1% масс. до приблизительно 6,0% масс. белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления сыворотка обладает pH от приблизительно 1,0 до приблизительно 7,0. В одном из вариантов осуществления сыворотка дополнительно содержит добавку, выбранную из группы, состоящей из витамина Е, розмаринового масла, розового масла, лимонного сока, лемонграссового масла, ванили, герани и зеленого чая. В одном из вариантов осуществления сыворотка дополнительно содержит от приблизительно 0,5% масс. до приблизительно 30,0% масс. витамина С или его

производного. В одном из вариантов осуществления витамин С или его производное остается стабильным внутри сыворотка в течение периода от приблизительно 5 суток до приблизительно 5 лет. В одном из вариантов осуществления витамин С или его производное является стабильным внутри сыворотки, что приводит к высвобождению витамина С в биологически активной форме. В одном из вариантов осуществления сыворотку упаковывают в воздухонепроницаемый контейнер. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются гипоаллергенными. В одном из вариантов осуществления способ увлажнения кожи человека включает в себя нанесение ежесуточно сыворотки по настоящему описанию на кожу человека в течение периода по меньшей мере одной недели и наблюдение улучшения гидратации кожи.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описана композиция для отшелушивания кожи, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, которые являются в основном свободными от серицина, где фрагменты обладают средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 17 кДа до приблизительно 38 кДа и полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0 в комбинации по меньшей мере с одним отшелушивающим средством для кожи. В одном из вариантов осуществления композиция для отшелушивания кожи содержит по меньшей мере одно отшелушивающее средство для кожи, выбранное из группы, состоящей из гликолевой кислоты и молочной кислоты. В одном из вариантов осуществления композиция для отшелушивания кожи содержит между приблизительно 1,0% и приблизительно 50,0% кристаллических белковых доменов. В одном из вариантов осуществления композиция для отшелушивания кожи обладает pH от приблизительно 1,0 до приблизительно 6,0. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка являются гипоаллергенными.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описан способ получения водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, обладающих средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от

приблизительно 6 кДа до приблизительно 16 кДа, где способ включает в себя стадии: дегуммирования источника шелка посредством помещения источника шелка в кипящий (100°C) водный раствор карбоната натрия на период времени обработки между приблизительно 30 минутами и приблизительно 60 минутами; удаления серицина из раствора для получения экстракта фиброина шелка, содержащего не поддающиеся детекции уровни серицина; дренирования раствора из экстракта фиброина шелка; растворения экстракта фиброина шелка в растворе бромида лития, обладающего исходной температурой при помещении экстракта фиброина шелка в раствор бромида лития, лежащей в диапазоне от приблизительно 60°C до приблизительно 140°C; поддержания раствора фиброина шелка-бромида лития в печи, обладающей температурой приблизительно 140°C в течение периода по меньшей мере 1 час; удаления бромида лития из экстракта фиброина шелка; и получения водного раствора белковых фрагментов шелка, где водный раствор содержит: фрагменты, обладающие средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 6 кДа до приблизительно 16 кДа, и где водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка обладает полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0. В одном из вариантов осуществления способ включает в себя стадию сушки экстракта фиброина шелка перед стадией растворения. В одном из вариантов осуществления количество остатков бромида лития в водном растворе можно измерять с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии бромида лития. В одном из вариантов осуществления количество остатков карбоната натрия в водном растворе можно измерять с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии карбоната натрия. В одном из вариантов осуществления способ включает в себя стадию добавления терапевтического средства к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления способ включает в себя стадию добавления молекулы, выбранной из одного из противоокислительного средства или фермента, к водному раствору белковых фрагментов на основе

чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления способ включает в себя стадию добавления витамина к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления витамин выбран из одного из витамина С или его производного. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает в себя стадию добавления альфа-гидроксикислоты к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления альфа-гидроксикислота выбрана из группы, состоящей из гликолевой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты и лимонной кислоты. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает в себя стадию добавления гиалуроновой кислоты в концентрации от приблизительно 0,5% до приблизительно 10,0% к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает в себя стадию добавления по меньшей мере одного из оксида цинка или диоксида титана к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает в себя стадию лиофилизации водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления косметическую пленку изготавливают из водного раствора белковых фрагментов шелка. В одном из вариантов осуществления косметический гель изготавливают из водного раствора белковых фрагментов шелка.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описан способ получения водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, обладающих средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 17 кДа до приблизительно 38 кДа, где способ включает в себя стадии: помещения источника шелка в кипящий (100°C) водный раствор карбоната натрия на период времени обработки между приблизительно 30 минутами и приблизительно 60 минутами, что приводит к дегуммированию; удаления серицина из раствора для получения экстракта фиброина шелка, содержащего не

поддающиеся детекции уровни серицина; дренирования раствора из экстракта фиброина шелка; растворения экстракта фиброина шелка в растворе бромида лития, обладающего исходной температурой при помещении экстракта фиброина шелка в раствор бромида лития, лежащей в диапазоне от приблизительно 80°C до приблизительно 140°C; поддержания раствора фиброина шелка-бромида лития в сухой печи, обладающей температурой в диапазоне между приблизительно 60°C и приблизительно 100°C, в течение периода по меньшей мере 1 час; удаления бромида лития из экстракта фиброина шелка; и получения водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, где водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка содержит между приблизительно 10 м.д. и приблизительно 300 м.д. остатков бромида лития, где водный раствор белковых фрагментов шелка содержит между приблизительно 10 м.д. и приблизительно 100 м.д. остатков карбоната натрия, где водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка содержит фрагменты, обладающие средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 17 кДа до приблизительно 38 кДа, и где водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка обладает полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0. В одном из вариантов осуществления способ включает в себя стадию сушки экстракта фиброина шелка перед стадией растворения. В одном из вариантов осуществления количество остатков бромида лития в водном растворе можно измерять с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии бромида лития. В одном из вариантов осуществления количество остатков карбоната натрия в водном растворе можно измерять с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии карбоната натрия. В одном из вариантов осуществления способ включает в себя стадию добавления терапевтического средства к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления способ включает в себя стадию добавления молекулы, выбранной из одного из противоокислительного средства или фермента к водному раствору белковых фрагментов на основе

чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления способ включает в себя стадию добавления витамина к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления витамин выбран из одного из витамина С или его производного. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает в себя стадию добавления альфа-гидроксикислоты к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления альфа-гидроксикислота выбрана из группы, состоящей из гликолевой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты и лимонной кислоты. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает в себя стадию добавления гиалуроновой кислоты в концентрации от приблизительно 0,5% до приблизительно 10,0% к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает в себя стадию добавления по меньшей мере одного из оксида цинка или диоксида титана к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает в себя стадию лиофилизации водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления косметическую пленку изготавливают из водного раствора белковых фрагментов шелка. В одном из вариантов осуществления косметический гель изготавливают из водного раствора белковых фрагментов шелка.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описан способ получения водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, обладающих среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 39 кДа до приблизительно 80 кДа, где способ включает в себя стадии: помещения источника шелка в кипящий (100°С) водный раствор карбоната натрия на период времени обработки приблизительно 30 минут, что приводит к дегуммированию; удаления серицина из раствора для получения экстракта фиброина шелка, содержащего не поддающиеся детекции уровни серицина;

дренирования раствора из экстракта фиброина шелка; растворения экстракта фиброина шелка в растворе бромида лития, обладающего исходной температурой при помещении экстракта фиброина шелка в раствор бромида лития, лежащей в диапазоне от приблизительно 80°C до приблизительно 140°C; поддержания раствора фиброина шелка-бромида лития в сухой печи, обладающей температурой в диапазоне от приблизительно 60°C до приблизительно 100°C, в течение периода по меньшей мере 1 час; удаления бромида лития из экстракта фиброина шелка; и получения водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, где водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка содержит между приблизительно 10 м.д. и приблизительно 300 м.д. остатков бромида лития, между приблизительно 10 м.д. и приблизительно 100 м.д. остатков карбоната натрия, где фрагменты обладают средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 40 кДа до приблизительно 65 кДа, и где водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка обладает полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0. В одном из вариантов осуществления способ включает в себя стадию сушки экстракта фиброина шелка перед стадией растворения. В одном из вариантов осуществления количество остатков бромида лития в водном растворе можно измерять с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии бромида лития. В одном из вариантов осуществления количество остатков карбоната натрия в водном растворе можно измерять с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии карбоната натрия. В одном из вариантов осуществления способ включает в себя стадию добавления терапевтического средства к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления способ включает в себя стадию добавления молекулы, выбранной из одного из противоокислительных средств или ферментов, к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления способ включает в себя стадию добавления витамина к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В

одном из вариантов осуществления витамин выбран из одного из витамина С или его производного. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает в себя стадию добавления альфа-гидроксикслоты к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления альфа-гидроксикслота выбрана из группы, состоящей из гликолевой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты и лимонной кислоты. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает в себя стадию добавления гиалуроновой кислоты в концентрации от приблизительно 0,5% до приблизительно 10,0% к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает в себя стадию добавления по меньшей мере одного из оксида цинка или диоксида титана к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления способ дополнительно включает в себя стадию лиофилизации водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления косметическую пленку изготавливают из водного раствора белковых фрагментов шелка. В одном из вариантов осуществления косметический гель изготавливают из водного раствора белковых фрагментов шелка.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описаны шелковые пленки, изготовленные из растворов смеси SPF по настоящему описанию. В одном из вариантов осуществления по меньшей мере одну представляющую интерес молекулу или терапевтическое средство физически заключают в раствор смеси SPF по настоящему описанию в ходе переработки в пленки. Шелковую пленку по настоящему описанию можно использовать для высвобождения по меньшей мере одной представляющей интерес молекулы или терапевтического средства.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описан способ получения шелковых пленок, обладающих заключенными в них молекулами или терапевтическими средствами.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в

настоящем документе, описан способ получения шелковых гелей, обладающих заключенными в них молекулами или терапевтическими средствами, такими как перечисленные в следующем разделе. В одном из вариантов осуществления по меньшей мере одну представляющую интерес молекулу или терапевтическое средство физически заключают в раствор смеси SPF по настоящему описанию в ходе переработки в водные гели. Водный шелковый гель по настоящему описанию можно использовать для высвобождения по меньшей мере одной представляющей интерес молекулы или терапевтического средства.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, раствор смеси SPF по настоящему описанию используют для изготовления шелковой пленки или водного геля, в которые заключены молекулы, включая в качестве неограничивающих примеров, селен, производные убихинона, противоокислительные средства на основе тиола, содержащие сахарид противоокислительные средства, полифенолы, растительные экстракты, кофейную кислоту, апигенин, пикногенол, ресвератрол, фолиевую кислоту, витамин b12, витамин b6, витамин b3, витамин E, витамин C и его производные, витамин D, витамин A, астаксантин, лютеин, ликопен, незаменимые жирные кислоты (омега 3 и 6), железо, цинк, магний, флавоноиды (сои, куркумин, силимарин, пикногенол), факторы роста, алоэ, гиалуроновую кислоту, белки внеклеточного матрикса, клетки, нуклеиновые кислоты, биомаркеры, биологические реагенты, оксид цинка, бензоилпероксид, средства для восстановления формы, титан, кофеин, зеленый чай, аллергены в известной дозе (для сенсибилизирующей обработки), эфирные масла включая в качестве неограничивающих примеров, лемонграссовое или розмариновое масло и ароматизаторы. Пленка по настоящему описанию может проявлять адгезию к коже при увлажнении, позволяя простое нанесение и направленную доставку в область обработки при возможности стирания водой. Нагруженные молекулами пленки, гели или сыворотки можно использовать для доставки лекарственных средств, медицинской помощи и личной гигиены, включая средства против старения, уменьшение и предотвращение морщин и мелких морщин,

уменьшение морщин типа «гусиных лапок», межбровных складок и глабеллярных морщин; лечение акне; защиту от УФ; все типы ухода за раной; местные, интрадермальные и подкожные и совместимые с имплантацией медицинские и фармацевтические применения; все типы и состояния воспаления, такие как экзема или розацеа; получение ровного оттенка кожи, уменьшение пигментации, лечение гиперпигментации, темных пятен или возрастных пятен, возникающих в результате акне, беременности, контрацепции, светового повреждения; уменьшение шрамов и растяжек, и уменьшение рубцевания акне. Посредством стабилизирующих молекул в пленке или геле по настоящему описанию, осуществляют контролируемое высвобождение молекулы в ее активной форме. В одном из вариантов осуществления пленка или гель по настоящему описанию могут доставлять свои молекулы во временные рамки, согласующиеся с ежесуточной обработкой(обработками) кожи потребителем. В одном из вариантов осуществления белковую композицию на основе чистого фиброина шелка в водном или органическом растворе можно использовать для прядения волокна или изготовления тканей для медицинского или потребительского рынка.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Описанные в настоящее время варианты осуществления далее объясняют со ссылкой на прилагаемые чертежи. Показанные чертежи не обязательно масштабированы, вместо этого особое внимание в основном уделено иллюстрации принципов описанных в настоящее время вариантов осуществления.

Фиг. 1 представляет собой блок-схему, показывающую различные варианты осуществления для получения белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка (SPF) по настоящему описанию.

Фиг. 2 представляет собой блок-схему, показывающую различные параметры, которые можно модифицировать в ходе процесса получения SPF по настоящему описанию в ходе стадий экстракции и растворения.

Фиг. 3 представляет собой фотографию, показывающую сухой экстрагированный фиброин шелка.

Фиг. 4 представляет собой фотографию, показывающую вариант

осуществления SPF в форме раствора по настоящему описанию.

Фиг. 5A-5D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах бромида лития (LiBr) комнатной температуры, растворенный в печи при 60°C в течение 4 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 6A-6D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr комнатной температуры, растворенный в печи при 60°C в течение 6 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 7A-7D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr комнатной температуры, растворенный в печи при 60°C в течение 8 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 8A-8D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr комнатной температуры, растворенный в печи при 60°C в течение 12 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 9A-9D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr комнатной температуры, растворенный в печи при 60°C в течение 24 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 10A-10C представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr комнатной температуры, растворенный в печи при 60°C в течение 168/192 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 11A-11C представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr комнатной температуры, растворенный в печи при 60°C в течение 1, 4 и 6 часов, где экстракция серицина завершалась при 100°C в течение 60 мин.

Фиг. 12A-12D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 60°C, растворенный в печи при 60°C в течение 1 часа (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 13A-13D представляют собой фотографии, показывающие

растворенный шелк в растворах LiBr 60°C, растворенный в печи при 60°C в течение 4 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 14A-14D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 60°C, растворенный в печи при 60°C в течение 6 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 15A-15D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 80°C, растворенный в печи при 60°C в течение 1 часа (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 16A-16D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 80°C, растворенный в печи при 60°C в течение 4 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 17A-17D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 80°C, растворенный в печи при 60°C в течение 4 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 18A-18D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 100°C LiBr, растворенный в печи при 60°C в течение 1 часа (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 19A-19D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 100°C LiBr, растворенный в печи при 60°C в течение 4 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 20A-20D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 100°C, растворенный в печи при 60°C в течение 6 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 21A-21D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 140°C (температура кипения

LiBr), растворенный в печи при 60°C в течение 1 часа (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 22A-22D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 140°C (температура кипения LiBr), растворенный в печи при 60°C в течение 4 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 23A-23D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 140°C (температура кипения LiBr), растворенный в печи при 60°C в течение 6 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 24A-24D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 80°C, растворенный в печи при 80°C в течение 1 часа (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 25A-25D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 80°C, растворенный в печи при 80°C в течение 4 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 26A-26D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 80°C, растворенный в печи при 80°C в течение 6 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 27A-27D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 100°C, растворенный в печи при 100°C в течение 1 часа (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 28A-28D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 100°C, растворенный в печи при 100°C в течение 4 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 29A-29D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 100°C, растворенный в печи при 100°C в течение 6 часов (температуру и время экстракции серицина

меняли).

Фиг. 30A-39D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 140°C (температура кипения LiBr), растворенный в печи при 120°C в течение 1 часа (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 31A-31D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 140°C (температура кипения LiBr), растворенный в печи при 120°C в течение 4 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 32A-32D представляют собой фотографии, показывающие растворенный шелк в растворах LiBr 140°C (температура кипения LiBr), растворенный в печи при 120°C в течение 6 часов (температуру и время экстракции серицина меняли).

Фиг. 33 представляет собой блок-схему, показывающую вариант осуществления для получения шелковой пленки по настоящему описанию из раствора шелка по настоящему описанию.

На **фиг. 34** обобщен вариант осуществления параметров для исследования высыхания шелковой пленки в ходе исследования по настоящему описанию.

Фиг. 35 представляет собой график, показывающий периоды времени высыхания шелковой пленки (в различных условиях потока воздуха и температуры).

На **фиг. 36A и 36B** показаны хроматограммы ВЭЖХ для образцов, содержащих витамин C. На **фиг. 36A** показаны пики для (1) химически стабилизированного образца витамина C в условиях окружающей среды и (2) образца витамина C, отобранного через 1 час в условиях окружающей среды без химической стабилизации для предотвращения окисления, где продукты деградации являются видимыми. На **фиг. 36B** показаны пики для двух различных вариантов осуществления шелковых пленок по настоящему описанию, состаренных в течение по меньшей мере 30 суток при комнатной температуре. Продукты разрушения не являлись видимыми.

Фиг. 37A-37D представляют собой фотографии, показывающие пленки из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенные при комнатной температуре в течение 48 часов с

помощью открытого потока воздуха.

Фиг. 38A-38D представляют собой фотографии, показывающие пленки из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенные при 40°C в конвекционной печи в течение 8 часов с помощью открытого потока воздуха.

Фиг. 39A-39D представляют собой фотографии, показывающие пленки из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенные при 40°C в конвекционной печи в течение 48 часов с помощью открытого потока воздуха.

Фиг. 40A-40D представляют собой фотографии, показывающие пленки из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенные при 40°C в конвекционной печи в течение 48 часов в закрытой чашке.

Фиг. 41A-41D представляют собой фотографии, показывающие пленки из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенные при 54°C в конвекционной печи в течение 8 часов в открытой чашке.

Фиг. 42A-42D представляют собой фотографии, показывающие пленки из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенные при 54°C в конвекционной печи в течение 48 часов в открытой чашке.

Фиг. 43A-43D представляют собой фотографии, показывающие пленки из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенные при 54°C в пленочной сушилке в течение 8 часов в открытой чашке.

Фиг. 44A-44D представляют собой фотографии, показывающие пленки из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенные при 54°C в пленочной сушилке в течение 48 часов в открытой чашке.

Фиг. 45A-45D представляют собой фотографии, показывающие пленки из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенные при комнатной температуре в конвекционной печи в течение 48 часов в открытой чашке.

Фиг. 46A-46D представляют собой фотографии, показывающие растворение, в воде, сформированных пленок из фрагментов белков

шелка по настоящему описанию, высушенных при комнатной температуре в течение 48 часов с помощью открытого потока воздуха.

Фиг. 47A-47D представляют собой фотографии, показывающие растворение, в воде, сформированных пленок из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенных при 40°C в конвекционной печи в течение 8 часов с помощью открытого потока воздуха.

Фиг. 48A-48D представляют собой фотографии, показывающие растворение, в воде, сформированных пленок из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенных при 40°C в конвекционной печи в течение 48 часов с помощью открытого потока воздуха.

Фиг. 49A-49D представляют собой фотографии, показывающие растворение, в воде, сформированных пленок из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенных при 40°C в конвекционной печи в течение 48 часов в закрытой чашке.

Фиг. 50A-50D представляют собой фотографии, показывающие растворение, в воде, сформированных пленок из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенные при 54°C в конвекционной печи 15 в течение 8 часов в открытой чашке.

Фиг. 51A-51D представляют собой фотографии, показывающие растворение, в воде, сформированных пленок из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенных при 54°C в конвекционной печи в течение 48 часов в открытой чашке.

Фиг. 52A-52D представляют собой фотографии, показывающие растворение, в воде, сформированных пленок из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенных при 54°C в пленочной сушилке в течение 8 часов в открытой чашке.

Фиг. 53A-53D представляют собой фотографии, показывающие растворение, в воде, сформированных пленок из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенных при 54°C в пленочной сушилке в течение 48 часов в открытой чашке.

Фиг. 54A-54D представляют собой фотографии, показывающие растворение, в воде, сформированных пленок из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенных при комнатной температуре в конвекционной печи в течение 48 часов в открытой

чашке.

Фиг. 55 представляет собой таблицу, обобщающую концентрацию LiBr и карбоната натрия (Na_2CO_3) в растворах белков шелка по настоящему описанию.

Фиг. 56 представляет собой таблицу, обобщающую концентрацию Na_2CO_3 в пленках из фрагментов белков шелка по настоящему описанию.

Фиг. 57 представляет собой таблицу, обобщающую концентрацию LiBr в пленках из фрагментов белков шелка по настоящему описанию.

Фиг. 58 представляет собой таблицу, обобщающую концентрацию LiBr и Na_2CO_3 в растворах белков шелка по настоящему описанию.

Фиг. 59 представляет собой таблицу, обобщающую концентрацию витамина С в пленках из фрагментов белков шелка по настоящему описанию.

Фиг. 60 представляет собой таблицу, обобщающую стабильность витамина С в химически стабилизированных растворах.

Фиг. 61 представляет собой таблицу, обобщающую молекулярные массы растворов белков шелка по настоящему описанию.

Фиг. 62A и 62B представляют собой графики, представляющие эффект объема при экстракции на % потери массы.

Фиг. 63 представляет собой таблицу, обобщающую молекулярные массы шелка, растворенного из различных концентраций LiBr и при различных масштабах экстракции и растворения.

Фиг. 64 представляет собой график, обобщающий эффект времени экстракции на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, LiBr при 100°C и растворения в печи при 100°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 65 представляет собой график, обобщающий эффект времени экстракции на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, кипящего LiBr и растворения в печи при 60°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 66 представляет собой график, обобщающий эффект времени экстракции на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, LiBr при 60°C и

растворения в печи при 60°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 67 представляет собой график, обобщающий эффект времени экстракции на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, LiBr при 80°C и растворения в печи при 80°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 68 представляет собой график, обобщающий эффект времени экстракции на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, LiBr при 80°C и растворения в печи при 60°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 69 представляет собой график, обобщающий эффект времени экстракции на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, LiBr при 100°C и растворения в печи при 60°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 70 представляет собой график, обобщающий эффект времени экстракции на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, LiBr при 140°C и растворения в печи при 140°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 71 представляет собой график, обобщающий эффект температуры экстракции на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях времени экстракции 60 минут, LiBr при 100°C и растворения в печи при 100°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 72 представляет собой график, обобщающий эффект температуры LiBr на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях времени экстракции 60 минут, температуры экстракции 100°C и растворения в печи при 60°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 73 представляет собой график, обобщающий эффект температуры LiBr на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях времени экстракции 30 минут, температуры экстракции 100°C и растворения в печи при 60°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 74 представляет собой график, обобщающий эффект температуры в печи/растворения на молекулярную массу шелка,

переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, времени экстракции 30 минут и бромида лития при 100°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 75 представляет собой график, обобщающий эффект температуры в печи/растворения на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, времени экстракции 60 минут и бромида лития при 100°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 76 представляет собой график, обобщающий эффект температуры в печи/растворения на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, времени экстракции 60 минут и бромида лития при 140°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 77 представляет собой график, обобщающий эффект температуры в печи/растворения на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, времени экстракции 30 минут и бромида лития при 140°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 78 представляет собой график, обобщающий эффект температуры в печи/растворения на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, времени экстракции 60 минут и бромида лития при 80°C (время в печи/растворения меняли).

Фиг. 79 представляет собой график, обобщающий молекулярные массы шелка, переработанного в различных условиях, включая время экстракции, температуру экстракции, температуру бромида лития (LiBr), температуру печи для растворения, время в печи для растворения.

Фиг. 80 представляет собой график, обобщающий молекулярные массы шелка, переработанного в условиях, в которых температура в печи/растворения является равной температуре LiBr.

Фиг. 81 представляет собой график, представляющий собой % активности витамина C в геле PureProC™.

Фиг. 82A-82C представляют собой фотографии, показывающие

эффект сушки пленки на цвет и физическую целостность пленки после хранения (наиболее сухая (фиг. 82A), наименее сухая (фиг. 82C)).

Фиг. 83A и 83B представляют собой фотографии нарезанной с помощью лазера шелковой пленки.

Фиг. 84 представляет собой график, обобщающий количество витамина C в суточной дозе (т.е., среднем количестве продукта, используемом для покрытия 25 см^2 площади кожи) PureProC™ и продуктов конкурентов в течение периода 30 суток.

Фиг. 85 представляет собой график, обобщающий простоту использования PureProC™, как собрано по опыту пользователей.

Фиг. 86 представляет собой обобщение начальных преимуществ PureProC™, наблюдаемых пользователями, и поддержки опыта потребителей.

Фиг. 87 представляет собой график, обобщающий области, где участники исследования использовали гель для выравнивания PureProC™.

Фиг. 88 представляет собой обобщение преимуществ для кожи после использования участниками исследования геля для выравнивания PureProC™:лемонграсс.

Фиг. 89A-89B представляют собой таблицы, обобщающие эффект витамина C на гелеобразование в присутствии или в отсутствие производного витамина C.

Фиг. 90 представляет собой таблицу, обобщающую эффект витамина C и производных витамина C на формирование шелковых пленок по настоящему описанию.

Фиг. 91A-91B представляют собой таблицы, обобщающие эффект витамина C и кофеина на формирование шелковых пленок по настоящему описанию.

Фиг. 92 представляет собой таблицу, обобщающую варианты осуществления геля с кофеином по настоящему описанию.

Фиг. 93 представляет собой таблицу, обобщающую варианты осуществления гелей с консервантами по настоящему описанию.

Фиг. 94A-94C представляют собой таблицы, обобщающие варианты осуществления косметических сывороток по настоящему описанию с различными добавками и концентрациями компонентов,

подходящих для защиты против ультрафиолетового (УФ) облучения.

Фиг. 95A-95C представляют собой таблицы, обобщающие варианты осуществления гелей с высокой концентрацией витамина С по настоящему описанию.

Фиг. 96 представляет собой таблицу, обобщающую результаты для различных гелей по настоящему описанию при оценке возможной контаминации микроорганизмами в трех различных состояниях их использования (интактный, при использовании, конечный продукт).

Фиг. 97 представляет собой фотографию варианта осуществления продукта пены по настоящему описанию, подходящего для защиты против УФ.

Фиг. 98 представляет собой фотографию варианта осуществления вязкой жидкости по настоящему описанию, подходящей для защиты против УФ.

Фиг. 99 представляет собой фотографию варианта осуществления вязкой жидкости по настоящему описанию, подходящей для защиты против УФ.

Фиг. 100 представляет собой фотографию варианта осуществления продукта пены по настоящему описанию, подходящей для защиты против УФ.

В то время как указанные выше чертежи объясняют описанные в настоящее время варианты осуществления, другие варианты осуществления также предусмотрены, как отмечено в обсуждении. В этом описании представлены иллюстративные варианты осуществления с целью представления, а не ограничения. Специалисты в данной области могут разрабатывать многочисленные другие модификации и варианты осуществления, которые входят в объем и содержание принципов описанных в настоящее время вариантов осуществления.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

В настоящем документе представлены способы получения чистых и хорошо масштабируемых растворов смесей фрагментов белков шелка (SPF), которые можно использовать во многих отраслях промышленности для множества применений. Растворы получают из материала необработанного чистого интактного белка шелка и перерабатывают для удаления всего серицина и достижения желательных средневзвешенной молекулярной массы (MW) и

полидисперсности смеси фрагментов. Параметры выбранного способа можно изменять для достижения различных характеристик фрагментов белков шелка в зависимости от предназначенного применения. Полученный конечный раствор фрагментов представляет собой чистые фрагменты белков шелка и воду с уровнями м.д. до не поддающихся детекции для технологических примесей, уровнями, приемлемыми на фармацевтическом, медицинском и косметическом потребительском рынке. Концентрацию, размер и полидисперсность фрагментов белков шелка в растворе можно дополнительно изменять в зависимости от желательного применения и технических требований. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка в растворе являются в основном свободными от серицина, обладают средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 6 кДа до приблизительно 16 кДа и обладают полидисперсностью в диапазоне от приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка в растворе являются в основном свободными от серицина, обладают средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 17 кДа до приблизительно 38 кДа и обладают полидисперсностью в диапазоне от приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0. В одном из вариантов осуществления белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка в растворе являются в основном свободными от серицина, обладают средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 39 кДа до приблизительно 80 кДа и обладают полидисперсностью в диапазоне от приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0.

В одном из вариантов осуществления растворы шелка по настоящему описанию можно использовать для получения изделий, таких как шелковые пленки различных форм и размеров, посредством изменения содержания воды/концентрации, или продавать в форме необработанного ингредиента на медицинском, потребительском рынке или рынке электроники. В одном из вариантов осуществления растворы можно использовать для получения изделий, таких как шелковые гели с различным содержанием геля и жидкости посредством изменения содержания воды/концентрации, или

продавать в форме необработанного ингредиента на фармацевтическом, медицинском, потребительском рынке или рынке электроники. В зависимости от использованного раствора шелка и способов отливки пленок или гелей, достигают различных свойств. Изделия можно нагружать по меньшей мере одним терапевтическим средством и/или по меньшей мере одной молекулой.

Как используют в настоящем документе, термины «в основном свободные от серицина» или «с удаленным в основном серицином» относятся к волокнам шелка, в которых большая часть белка серицина удалена. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 0,01% (масс./масс.) и приблизительно 10,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 0,01% (масс./масс.) и приблизительно 9,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 0,01% (масс./масс.) и приблизительно 8,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 0,01% (масс./масс.) и приблизительно 7,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 0,01% (масс./масс.) и приблизительно 6,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 0,01% (масс./масс.) и приблизительно 5,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 0% (масс./масс.) и приблизительно 4,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему

между приблизительно 0,05% (масс./масс.) и приблизительно 4,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 0,1% (масс./масс.) и приблизительно 4,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 0,5% (масс./масс.) и приблизительно 4,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 1,0% (масс./масс.) и приблизительно 4,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 1,5% (масс./масс.) и приблизительно 4,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 2,0% (масс./масс.) и приблизительно 4,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему между приблизительно 2,5% (масс./масс.) и приблизительно 4,0% (масс./масс.) серицина. В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему содержанием серицина между приблизительно 0,01% (масс./масс.) и приблизительно 0,1% (масс./масс.). В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему содержанием серицина ниже приблизительно 0,1% (масс./масс.). В одном из вариантов осуществления фиброин шелка, в основном свободный от серицина, относится к фиброину шелка, обладающему содержанием серицина ниже приблизительно 0,05% (масс./масс.). В одном из вариантов осуществления, когда источник шелка помещают в кипящий (100°C) водный раствор карбоната натрия на период времени обработки между

приблизительно 30 минутами и приблизительно 60 минутами, получают потери при дегуммировании от приблизительно 26% масс. до приблизительно 31% масс.

Как используют в настоящем документе, термин «по существу гомогенный» может относиться к белковым фрагментам на основе чистого фиброина шелка, идентифицированные молекулярные массы которых распределены приблизительно по нормальному распределению. Как используют в настоящем документе, термин «по существу гомогенный» может относятся к равномерному распределению добавки, например, витамина С, во всем объеме композиции по настоящему описанию.

Как используют в настоящем документе, термин «по существу свободный от неорганических остатков» означает, что композиция обладает 0,1% (масс./масс.) остатков или менее. В одном из вариантов осуществления по существу свободный от неорганических остатков относится к композиции, обладающей 0,05% (масс./масс.) остатков или менее. В одном из вариантов осуществления по существу свободный от неорганических остатков относится к композиции, обладающей 0,01% (масс./масс.) остатков или менее. В одном из вариантов осуществления количество неорганических остатков составляет между 0 м.д. («не поддающееся детекции» или «ND») и 1000 м.д. В одном из вариантов осуществления количество неорганических остатков составляет от ND до приблизительно 500 м.д. В одном из вариантов осуществления количество неорганических остатков составляет от ND до приблизительно 400 м.д. В одном из вариантов осуществления количество неорганических остатков составляет от ND до приблизительно 300 м.д. В одном из вариантов осуществления количество неорганических остатков составляет от ND до приблизительно 200 м.д. В одном из вариантов осуществления количество неорганических остатков составляет от ND до приблизительно 100 м.д. В одном из вариантов осуществления количество неорганических остатков составляет между 10 м.д. и 1000 м.д.

Как используют в настоящем документе, термин «по существу свободный от органических остатков» означает, что композиция обладает 0,1% (масс./масс.) остатков или менее. В одном из

вариантов осуществления по существу свободный от органических остатков относится к композиции, обладающей 0,05% (масс./масс.) остатков или менее. В одном из вариантов осуществления по существу свободный от органических остатков относится к композиции, обладающей 0,01% (масс./масс.) остатков или менее. В одном из вариантов осуществления количество органических остатков составляет между 0 м.д. («не поддающееся детекции» или «ND») и 1000 м.д. В одном из вариантов осуществления количество органических остатков составляет от ND до приблизительно 500 м.д. В одном из вариантов осуществления количество органических остатков составляет от ND до приблизительно 400 м.д. В одном из вариантов осуществления количество органических остатков составляет от ND до приблизительно 300 м.д. В одном из вариантов осуществления количество органических остатков составляет от ND до приблизительно 200 м.д. В одном из вариантов осуществления количество органических остатков составляет от ND до приблизительно 100 м.д. В одном из вариантов осуществления количество органических остатков составляет между 10 м.д. и 1000 м.д.

Композиции по настоящему описанию обладают «биосовместимостью», что означает, что композиции являются совместимыми с живой тканью или живой системой, благодаря тому, что не являются токсичными, повреждающим или физиологически реакционноспособными и не вызывают иммунологического отторжения. Такую биосовместимость могут подтверждать участники исследования, наносящие композиции по настоящему описанию местно на свою кожу в течение длительного периода времени. В одном из вариантов осуществления длительный период времени составляет приблизительно 3 суток. В одном из вариантов осуществления длительный период времени составляет приблизительно 7 суток. В одном из вариантов осуществления длительный период времени составляет приблизительно 14 суток. В одном из вариантов осуществления длительный период времени составляет приблизительно 21 суток. В одном из вариантов осуществления длительный период времени составляет приблизительно 30 суток. В одном из вариантов осуществления длительный период времени

выбран из группы, состоящей из приблизительно 1 месяца, приблизительно 2 месяцев, приблизительно 3 месяцев, приблизительно 4 месяцев, приблизительно 5 месяцев, приблизительно 6 месяцев, приблизительно 7 месяцев, приблизительно 8 месяцев, приблизительно 9 месяцев, приблизительно 10 месяцев, приблизительно 11 месяцев, приблизительно 12 месяцев и неопределенно длительного времени.

Композиции по настоящему описанию являются «гипоаллергенными», что означает, что они с относительно небольшой вероятностью вызывают аллергическую реакцию. Такую гипоаллергенность могут подтверждать участники исследования, наносящие композиции по настоящему описанию местно на свою кожу в течение длительного периода времени. В одном из вариантов осуществления длительный период времени составляет приблизительно 25 суток. В одном из вариантов осуществления длительный период времени составляет приблизительно 7 суток. В одном из вариантов осуществления длительный период времени составляет приблизительно 14 суток. В одном из вариантов осуществления длительный период времени составляет приблизительно 21 суток. В одном из вариантов осуществления длительный период времени составляет приблизительно 30 суток. В одном из вариантов осуществления длительный период времени выбран из группы, состоящей из приблизительно 1 месяца, приблизительно 2 месяцев, приблизительно 3 месяцев, приблизительно 4 месяцев, приблизительно 5 месяцев, приблизительно 6 месяцев, приблизительно 7 месяцев, приблизительно 8 месяцев, приблизительно 9 месяцев, приблизительно 10 месяцев, приблизительно 11 месяцев, приблизительно 12 месяцев и неопределенно длительного времени.

В одном из вариантов осуществления раствор по настоящему описанию приводят в контакт с терапевтическим средством и/или молекулой перед формованием изделия. В одном из вариантов осуществления молекулы в качестве неограничивающих примеров включают, противоокислительные средства и ферменты. В одном из вариантов осуществления молекулы в качестве неограничивающих примеров включают в себя селен, производные убихинона,

противоокислительные средства на основе тиола, содержащие сахарид противоокислительные средства, полифенолы, растительные экстракты, кофейную кислоту, апигенин, пикногенол, ресвератрол, фолиевую кислоту, витамин b12, витамин b6, витамин b3, витамин E, витамин C и его производные, витамин D, витамин A, астаксантин, лютеин, ликопен, незаменимые жирные кислоты (омега 3 и 6), железо, цинк, магний, флавоноиды (сои, куркумин, силимарин, пикногенол), Факторы роста, алоэ, гиалуроновую кислоту, белки внеклеточного матрикса, клетки, нуклеиновые кислоты, биомаркеры, биологические реагенты, оксид цинка, бензоилпероксид, ретиноиды, титан, аллергены в известной дозе (для сенсибилизирующей обработки), эфирные масла, включая в качестве неограничивающих примеров, лемонграссовое или розмариновое масло и ароматизаторы. Терапевтические средства в качестве неограничивающих примеров включают в себя низкомолекулярные соединения, лекарственные средства, белки, пептиды и нуклеиновые кислоты. В одном из вариантов осуществления шелковая пленка по настоящему описанию содержит молекулу, представляющую собой витамин, такой как витамин C, витамин A и витамин E. В одном из вариантов осуществления раствор по настоящему описанию приводят в контакт с аллергеном в известном количестве перед формованием изделия. Аллергены в качестве неограничивающих примеров включают в себя молоко, яйца, арахис, лесной орех, рыбу, моллюсков, сою и пшеницу. Известные дозы аллергена, загруженные в изделие из шелка, можно высвобождать с известной скоростью для контролируемого воздействия в исследованиях, тестах и сенсибилизирующем лечении аллергии.

В одном из вариантов осуществления раствор по настоящему описанию используют для получения изделия с микроиглами стандартными способами, известными специалисту в данной области для контролируемой доставки молекул или терапевтических средств к коже или через кожу.

Как используют в настоящем документе, термин «фиброин» включает в себя фиброин шелкопряда и белок шелка насекомого или паука. В одном из вариантов осуществления фиброин получают из

Bombyx mori.

Фиг. 1 представляет собой блок-схему, показывающую различные варианты осуществления для получения белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка (SPF) по настоящему описанию. Следует понимать, что не все из проиллюстрированных стадий являются необходимыми для изготовления всех растворов шелка по настоящему описанию. Как проиллюстрировано на **фиг. 1, стадия A**, коконы (подвергнутые тепловой обработке или не подвергнутые тепловой обработке), волокна шелка, порошок шелка или паутину можно использовать в качестве источника шелка.

Если начинать с необработанных коконов шелкопряда от *Bombyx mori*, коконы можно разрезать на мелкие куски, например, куски приблизительно равного размера, **стадия B1.** Затем необработанный шелк экстрагируют и промывают для удаления серицина, **стадия C1a.** Это приводит к в основном свободному от серицина необработанному шелку. В одном из вариантов осуществления воду нагревают до температуры между 84°C 5 и 100°C (в идеале, до кипения), а затем Na_2CO_3 (карбонат натрия) добавляют в кипящую воду, пока Na_2CO_3 полностью не раствориться. Необработанный шелк помещают в кипящую воду/Na_2CO_3 (100°C) и погружают на приблизительно 15-90 минут, где кипячение в течение более длительного времени приводит к меньшим фрагментам белков шелка. В одном из вариантов осуществления объем воды равен приблизительно 0,4 x массы необработанного шелка, и объем Na_2CO_3 равен приблизительно 0,848×10 массы необработанного шелка. В одном из вариантов осуществления объем воды равен 0,1 x массы необработанного шелка и объем Na_2CO_3 поддерживают 2,12 г/л. Это показано на **фиг. 62A** и **фиг.62B:** масса шелка (ось x) менялась в одном и том же объеме раствора для экстракции (т.е., в одном и том же объеме воды и концентрации Na_2CO_3) с достижением удаления серицина (в основном, отсутствия серицина), как показано по общей потере массы шелка 26-31 процентов (ось y). Затем раствор растворенного в воде Na_2CO_3 дренируют, и избыток воды/Na_2CO_3 удаляют из волокон фиброина шелка (например, отжим экстракта фиброина вручную, цикл вращения с использованием устройства, и т.д.). Полученный

экстракт фиброина шелка промывают водой, от теплой до горячей, для удаления всего оставшегося адсорбированного серицина или загрязнения, как правило, при температуре в диапазоне от приблизительно 40°C до приблизительно 80°C, изменяя объем воды по меньшей мере один раз (повторяя столько раз, сколько потребуется). Полученный экстракт фиброина шелка представляет собой фиброин шелка по существу с истощенным серицином. В одном из вариантов осуществления полученный экстракт фиброина шелка промывают водой при температуре приблизительно 60°C. В одном из вариантов осуществления объем воды для промывки в каждом цикле равен 0,1 л - 0,2 л х массу необработанного шелка. Предпочтительным может являться встряхивание, вращение или циркуляция воды для промывки для максимизации эффекта промывки. После промывки, избыток воды удаляют из экстрагированных волокон фиброина шелка (например, отжим экстракта фиброина вручную или с использованием устройства). Альтернативно, способы, известные специалисту в данной области, такие как давление, температура, или другие реагенты или их сочетания, можно использовать с целью экстракции серицина. Альтернативно, шелкоотделительную железу (на 100% свободный от серицина белок шелка) можно удалять непосредственно у червя. Это приводит к жидкому белку шелка, без каких-либо изменений структуры белка, свободному от серицина.

Затем экстрагированным волокнам фиброина позволяют высыхать полностью. **Фиг. 3** представляет собой фотографию, показывающую сухой экстрагированный фиброин шелка. Сразу после высыхания, экстрагированный фиброин шелка растворяют с использованием растворителя, добавленного к фиброину шелка при температуре между температурой окружающей среды и кипением, **стадия C1b.** В одном из вариантов осуществления растворитель представляет собой раствор Бромида лития (LiBr) (температура кипения для LiBr составляет 140°C). Альтернативно, экстрагированные волокна фиброина являются не высушенными, а влажными, и их помещают в растворитель; тогда концентрацию растворителя можно менять для достижения сходных концентраций, таких как при помещении высушенного шелка в растворитель. Конечная концентрация

растворителя LiBr может лежать в диапазоне от 0,1М до 9,3М. **Фиг. 63** представляет собой таблицу, обобщающую молекулярные массы шелка, растворенного из различных концентраций концентраций бромида лития (LiBr) и при различных масштабах экстракции и растворения. Полного растворения экстрагированных волокон фиброина можно достигать посредством изменения времени и температуры обработки вместе с концентрацией растворяющего растворителя. Можно использовать другие растворители, включая в качестве неограничивающих примеров, фосфат, фосфорную кислоту, нитрат кальция, раствор хлорида кальция или другие концентрированные водные растворы неорганических солей. Для обеспечения полного растворения, волокна шелка необходимо полностью погружать в уже нагретый раствор растворителя, а затем поддерживать при температуре в диапазоне от приблизительно 60°C до приблизительно 140°C в течение 1-168 час. В одном из вариантов осуществления волокна шелка необходимо полностью погружать в раствор растворителя, а затем помещать в сухую печь при температуре приблизительно 100°C приблизительно на 1 час.

Температура, при которой экстракт фиброина шелка добавляют к раствору LiBr (или наоборот), оказывает эффект на время, необходимое для полного растворения фиброина, и на полученную молекулярную массу и полидисперсность конечного раствора смеси SPF. В одном из вариантов осуществления концентрация растворителя шелка в раствор является меньшей или равной 20% масс./об. Кроме того, можно использовать встряхивание во время введения или растворения для облегчения растворения при меняющихся температурах и концентрациях. Температура раствора LiBr обеспечивает контроль над полученными молекулярной массой и полидисперсностью смеси фрагментов белков шелка. В одном из вариантов осуществления при более высокой температуре более быстро растворяется шелк, что обеспечивает улучшенную масштабируемость процесса и крупномасштабное производство раствора шелка. В одном из вариантов осуществления с использованием LiBr раствор, нагретый до температуры между 80°C-140°C, уменьшает время, необходимое в печи для достижения полного

растворения. Изменяя время и температуру до или растворяющего растворителя выше 60°C, можно изменять и контролировать MW и полидисперсность растворов смеси SPF, полученных с исходной молекулярной массой природного белка фиброина шелка.

Альтернативно, цельные коконы можно помещать непосредственно в растворитель, такой как LiBr, обходя экстракцию, **стадию B2.** Это требует последующей фильтрации частиц шелкопрядов из раствора шелка и растворителя и удаления серицина с использованием способов, известных в данной области для разделения гидрофобных и гидрофильных белков, таких как разделение на колонке и/или хроматография, ионный обмен, химическое осаждение с помощью соли и/или pH, и или ферментативное расщепление и фильтрация или экстракция, где все способы представляют собой общие примеры и без ограничения, для стандартных способов разделения белков, **стадия C2.** Не подвергнутые тепловой обработке коконы с удаленными шелкопрядами, можно альтернативно помещать в растворитель, такой как LiBr, обходя экстракцию. Способы, описанные выше, можно использовать для отделения серицина, с тем преимуществом, что не подвергнутые тепловой обработке коконы содержат значительно меньше дебриса шелкопрядов.

Диализ можно использовать для удаления растворяющего растворителя из полученного в результате раствора белковых фрагментов фиброина посредством диализа раствора против объема воды, **стадия E1.** Предварительная фильтрация перед диализом является полезной для удаления всего дебриса (т.е., остатков шелкопрядов) из раствора шелка и LiBr, **стадия D.** В одном примере используют фильтр 3 мкм или 5 мкм со скоростью потока 200-300 мл/мин для фильтрации раствора 0,1%-1,0% шелка-LiBr перед диализом и потенциальным концентрированием, если желательно. Способ, описываемый в настоящем документе, как описано выше, предназначен для использования времени и/или температуры для уменьшения концентрации от 9,3M LiBr до диапазона 0,1M-9,3M для облегчения фильтрации и нижестоящего диализа, в частности, когда рассматривают получение способа для масштабируемого процесса.

Альтернативно, без использования дополнительного времени или температуры, раствор 9,3М LiBr-фрагментов белков шелка можно разводить водой для облегчения фильтрации дебриса и диализа. Результатом растворения в течение желательного времени и ограниченной фильтрации является полупрозрачный, свободный от частиц, стабильный при хранении при комнатной температуре раствор фрагментов белков шелка-LiBr известных MW и полидисперсности. Обеспечивает преимущества регулярная смена воды для диализа до удаления растворителя (например, смена воды через 1 час, 4 часов, а затем каждые 12 часов, всего 6 смен воды). Общее количество смен объема воды можно менять на основании полученной в результате концентрации растворителя, использованной для растворения и фрагментации белков шелка. После диализа, конечный раствор шелка можно дополнительно фильтровать для удаления всего оставшегося дебриса (т.е., остатков шелкопрядов).

Альтернативно, фильтрование тангенциальным потоком (TFF), представляющее собой быстрый и эффективный способ разделения и очистки биомолекул, можно использовать для удаления растворителя из полученного в результате раствора растворенного фиброин, **стадия E2.** TFF обеспечивает водный раствор фрагментов белков шелка высокой чистоты и обеспечивает масштабируемость процесса для получения больших объемов раствора контролируемым и воспроизводимым образом. Раствор шелк и LiBr можно разводить перед TFF (от 20% до 0,1% шелка либо в воде, либо в LiBr). Предварительная фильтрация, как описано выше, перед переработкой TFF может поддерживать эффективность фильтра и потенциально исключает образование пограничных слоев шелкового геля на поверхности фильтра в результате присутствия частиц дебриса. Предварительная фильтрация перед TFF также является полезной для удаления из раствора шелка и LiBr всего оставшегося дебриса (т.е., остатков шелкопрядов), который может вызывать спонтанное или длительное гелеобразование полученного в результате раствора только в воде, **стадия D.** TFF, с рециркуляцией или с одним проходом, можно использовать для получения растворов воды-фрагментов белков шелка в диапазоне от 0,1% шелка до 30,0% шелка

(более предпочтительно, 0,1%-6,0% шелка). Различный пороговый размер мембран TFF может потребоваться в зависимости от желательных концентрации, молекулярной массы и полидисперсности смеси фрагментов белков шелка в растворе. Мембраны в диапазоне 1-100 кДа могут потребоваться для изменения молекулярной массы полученных растворов шелка, например, посредством изменения длины периода времени кипячения при экстракции или времени и температуры в растворяющем растворителе (например, LiBr). В одном из вариантов осуществления используют мембрану для TFF 5 или 10 кДа для очистки раствора смеси фрагментов белков шелка и для получения конечного соотношения шелка-к-воде. Также, TFF с одним проходом, TFF и другие известные в данной области способы, такие как испаритель с падающей пленкой, можно использовать для концентрирования раствора после удаления растворяющего растворителя (например, LiBr) (с желательной получаемой в результате концентрацией в диапазоне от 0,1% до 30% шелка). Это можно использовать в качестве альтернативы стандартным способам концентрирования HFIP, известных в данной области для получения раствор на основе воды. Мембрану с большим размером пор также можно использовать, чтобы отфильтровывать малые фрагменты белков шелка и получать раствор шелка более высокой молекулярной массы с более тесными значениями полидисперсности и/или без них. **Фиг. 61** представляет собой таблицу, обобщающую молекулярные массы для некоторых вариантов осуществления растворов белков шелка по настоящему описанию. Условия переработки растворов белков шелка являлись следующими: экстракция при 100°C в течение 20 мин, промывка при комнатной температуре, LiBr в печи при 60°C в течение 4-6 часов. Условия переработки TFF для водорастворимых пленок являлись следующими: экстракция при 100°C в течение 60 мин, промывка при 60°C, 100°C LiBr в печи при 100°C в течение 60 мин. На **фиг. 67-78** дополнительно показаны манипуляции с временем экстракции, условиями растворения в LiBr и переработкой TFF, и полученные в результате примеры молекулярной массы и полидисперсностью. Эти примеры предназначены не для того, чтобы являться ограничивающими, а для того, чтобы продемонстрировать

потенциал точного определения параметров для растворов фрагментов шелка конкретной молекулярной массы.

Анализ для детекции LiBr и Na_2CO_3 проводили с использованием системы ВЭЖХ, оборудованной испарительным детектором светорассеяния (ELSD). Расчет проводили посредством линейной регрессии полученных в результате площадей пиков для аналита, нанесенных на график против концентрации. Более одного образца из ряда составов по настоящему описанию использовали для получения и анализа образца. Как правило, четыре образца различных составов взвешивали непосредственно в 10 мл мерную колбу. Образцы суспендировали в 5 мл формиата аммония 20 мМ (pH 3,0) и поддерживали при 2-8°C в течение 2 часов с встряхиванием время от времени для экстракции аналитов из пленки. Через 2 часа раствор разбавляли 20 мМ формиатом аммония (pH 3,0). Образец раствора из мерной колбы переносили в флаконы для ВЭЖХ и инъецировали в систему ВЭЖХ-ELSD для определения карбоната натрия и бромида лития.

Обнаружено, что аналитический способ, разработанный для количественного определения Na_2CO_3 и LiBr в составах белков шелка, является линейным в диапазоне 10-165 мкг/мл, с RSD для точности инъекции 2% и 1% для площади, и 0,38% и 0,19% для времени удержания для карбоната натрия и бромида лития, соответственно. Аналитический способ можно применять для количественного определения карбоната натрия и бромида лития в составах белков шелка.

Конечный раствор фрагментов белков шелка, как показано на **фиг. 4**, представляет собой чистые фрагменты белков шелка и воду с м.д. до не поддающихся детекции уровней дебриса из макрочастиц и/или технологических примесей, включая LiBr и Na_2CO_3. **Фиг. 55** и **фиг. 58** представляют собой таблицы, обобщающие концентрации LiBr и Na_2CO_3 в растворах по настоящему описанию. На **фиг. 55** условия переработки включали в себя экстракцию при 100°C в течение 60 мин, промывка при 60°C, 100°C LiBr в печи при 100°C в течение 60 мин. Условия TFF, включая разность давления и количество объемов диафильтрации, меняли. На **фиг. 58** условия переработки включали в

себя кипячение при 100°C в течение 60 мин, промывку при 60°C, LiBr в печи при 60°C в течение 4-6 часов. В одном из вариантов осуществления композиция SPF по настоящему описанию не является растворимой в водном растворе из-за кристалличности белка. В одном из вариантов осуществления композиция SPF по настоящему описанию является растворимой в водном растворе. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают кристаллическую часть приблизительно из двух третьих и аморфную область приблизительно из одной третьей. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают кристаллическую часть приблизительно из одной второй и аморфную область приблизительно из одной второй. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 99% кристаллической части и 1% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 95% кристаллической части и 5% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 90% кристаллической части и 10% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 85% кристаллической части и 15% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 80% кристаллической части и 20% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 75% кристаллической части и 25% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 70% кристаллической части и 30% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 65% кристаллической части и 35% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 60% кристаллической части и 40% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 50% кристаллической части и 50% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию

включают 40% кристаллической части и 60% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 35% кристаллической части и 65% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 30% кристаллической части и 70% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 25% кристаллической части и 75% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 20% кристаллической части и 80% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 15% кристаллической части и 85% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 10% кристаллической части и 90% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 5% кристаллической части и 90% аморфной области. В одном из вариантов осуществления композиции SPF по настоящему описанию включают 1% кристаллической части и 99% аморфной области.

Уникальным свойством композиций SPF по настоящему описанию является стабильность при хранении (в них не происходит медленного или спонтанного гелеобразования при хранении в водном растворе и не присутствует агрегации фрагментов и таким образом, отсутствует увеличение молекулярной массы с течением времени), от 10 суток до 3 лет в зависимости от условия хранения, процента шелка и количества перевозок и условий перевозок. Дополнительно, pH можно изменять для продления срока хранения и/или поддержания условий перевозок посредством предотвращения преждевременного сворачивания и агрегации шелка. В одном из вариантов осуществления композиция раствора SPF по настоящему описанию обладает стабильностью при хранении в течение вплоть до 2 недель при комнатной температуре (RT). В одном из вариантов осуществления композиция раствора SPF по настоящему описанию обладает стабильностью при хранении в течение вплоть до 4 недель при RT. В одном из вариантов осуществления композиция раствора SPF по настоящему описанию обладает стабильностью при хранении в

течение вплоть до 6 недель при RT. В одном из вариантов осуществления композиция раствора SPF по настоящему описанию обладает стабильностью при хранении в течение вплоть до 8 недель при RT. В одном из вариантов осуществления композиция раствора SPF по настоящему описанию обладает стабильностью при хранении в течение вплоть до 10 недель при RT. В одном из вариантов осуществления композиция раствора SPF по настоящему описанию обладает стабильностью при хранении в течение вплоть до 12 недель при RT. В одном из вариантов осуществления композиция раствора SPF по настоящему описанию обладает стабильностью при хранении в диапазоне от приблизительно 4 недель до приблизительно 52 недель при RT. В **таблице 1** ниже показаны результаты теста стабильности при хранении для вариантов осуществления композиций SPF по настоящему описанию.

Таблица 1

Стабильность при хранении композиций SPF по настоящему описанию

% шелка	Температура	Время до гелеобразования
2	RT	4 недели
2	4C	>9 недель
4	RT	4 недели
4	4C	>9 недель
6	RT	2 недели
6	4C	>9 недель

Известную добавку, такую как витамин (например, витамин C) можно добавлять в композицию SPF по настоящему описанию для получения геля, который является стабильным в течение от 10 суток до 3 лет при комнатной температуре (RT). Оба примера, композицию SPF и композицию SPF с добавкой, можно лиофилизировать для улучшенного контроля хранения в диапазоне от 10 суток до 10 лет в зависимости от условий хранения и перевозки. Лиофилизированный порошок шелка также можно использовать в качестве необработанного ингредиента на медицинском, потребительском рынке и рынке электроники. Кроме того, лиофилизированный порошок шелка можно ресуспендировать в воде, HFIP или органическом растворе после хранения для

получения растворов шелка различной концентрации, включая растворы более высокой концентрации, чем первоначально полученные растворы. В другом варианте осуществления белковые фрагменты на основе фиброина шелка сушат с использованием испарителя типа рототерм или других известных в данной области способов для получения формы сухого белка, содержащей менее 10% воды по массе.

Либо растворы фрагментов шелка-воды, либо лиофилизированную смесь фрагментов белков шелка можно стерилизовать, следуя стандартным способам в данной области, не ограниченным фильтрацией, нагреванием, радиоактивным облучением или электронным пучком. Предусматривают, что смесь фрагментов белков шелка, из-за более короткой длины белковых полимеров в ней, выдерживают стерилизацию лучше, чем растворы интактных белков шелка, описанные в данной области. Кроме того, изделия из шелка, полученные из смесей SPF, описываемых в настоящем документе, можно стерилизовать как необходимо для применения. Например, шелковую пленку, нагруженную молекулой, предназначенную для медицинских применений с открытой раной/разрезом, можно стерилизовать стандартными способами, такими как радиоактивное облучение или электронный пучок.

Фиг. 2 представляет собой блок-схему, показывающую различные параметры, которые можно модифицировать в ходе процесса получения раствора фрагментов белков шелка по настоящему описанию в ходе стадий экстракции и растворения. Избранные параметры способа можно изменять для достижения отдельных характеристик конечного раствора, в зависимости от предназначенного применения, например, молекулярной массы и полидисперсности. Следует понимать, что не все из проиллюстрированных стадий являются необходимыми для изготовления всех растворов шелка по настоящему описанию.

В одном из вариантов осуществления способ получения раствора фрагментов белков шелка по настоящему описанию включает в себя получение кусков шелковых коконов от шелкопряда *Bombyx mori*; экстракцию кусков при приблизительно 100°C в растворе воды

и Na_2CO_3 в течение приблизительно 60 минут, где объем воды равен приблизительно 0,4 × массы необработанного шелка, и количество Na_2CO_3 составляет приблизительно 0,848 × массы кусков для получения экстракта фиброина шелка; тройную промывку экстракта фиброина шелка при приблизительно 60°C в течение приблизительно 20 минут на промывку в объеме воды для промывки, где объем воды для промывки равен приблизительно 0,2 л × массы кусков; удаление избытка воды из экстракта фиброина шелка; сушку экстракта фиброина шелка; растворения сухого экстракта фиброина шелка в растворе LiBr, где раствор LiBr сначала нагревают до приблизительно 100°C для получения раствора шелк и LiBr, и поддержание; помещение раствора шелка и LiBr в сухую печь при приблизительно 100°C в течение приблизительно 60 минут для достижения полного растворения и дальнейшей фрагментации структуры нативного белка шелка до смеси с желательной молекулярной массой и полидисперсностью; фильтрацию раствора для удаления всего оставшегося дебриса от шелкопряда; разведения раствора водой для получения в результате 1% раствора шелка; и удаления растворителя из раствора с использованием фильтрования тангенциальным потоком (TFF). В одном из вариантов осуществления мембрану 10 кДа используют для очистки раствора шелка и получения желательного конечного соотношения шелка-к-воде. Затем TFF можно использовать для дальнейшего концентрирования чистого раствора шелка до концентрации 2% шелка в воде.

Каждая стадия способа от необработанных коконов до диализа поддается масштабированию для увеличения эффективности при изготовлении. Цельные коконы закупали в настоящее время в качестве необработанного материала, однако предварительно очищенные коконы или не подвергнутые тепловой обработке коконы, где удаление шелкопрядов оставляет минимальный дебрис, также использовали. Нарезка и очистка коконов является ручным процессом, однако, для масштабируемости этот процесс можно сделать менее трудоемким, например, с использованием автоматизированного устройства в комбинации с сжатым воздухом для удаления шелкопрядов и любых частиц, или с использованием

режущей мельницы для нарезки коконов на более мелкие куски.

Стадию экстракции, в настоящее время проводимую в небольших партиях, можно завершать в более крупном сосуде, например, в промышленной промывочной машине, где можно поддерживать температуры от 60°C до 100°C или между ними. Стадию промывки можно также завершать в промышленном промывочном устройстве, исключая циклы ручной промывки. Растворение шелка в растворе LiBr может происходить в сосуде, отличном от конвекционной печи, например, реакторе с перемешиванием. Диализ шелка на протяжении серий смен воды является ручным и занимающим много времени процессом, который можно ускорить посредством изменения конкретных параметров, например, разведения раствора шелка перед диализом. Процесс диализа можно масштабировать с использованием полуавтоматического оборудования, например, системы для фильтрования тангенциальным потоком.

Различные параметры экстракции (т.е., время и температура), LiBr (т.е., температура раствора LiBr при добавлении экстракта фиброина шелка или наоборот) и растворения (т.е., время и температура) приводят к растворам растворителя и шелка с различной вязкостью, гомогенностью и цветом (см. **фиг. 5-32**). Увеличение температуры экстракции, продление времени экстракции, использование раствора LiBr более высокой температуры при погружении и дополнительного времени при растворении шелка, и увеличение времени при температуре (например, в печи, как описано в настоящем документе, или альтернативном источнике тепла) все приводили к менее вязким и более гомогенным растворам растворителя и шелка. В то время как почти все параметры приводили к устойчивому раствору шелка, способы, позволяющие достижение полного растворения за менее, чем 4-6 часов, являются предпочтительными для масштабируемости способами.

На **фиг. 5-10** показаны фотографии для четырех различных тестированных комбинаций для экстракции шелка: 90°C в течение 30 мин, 90°C в течение 60 мин, 100°C в течение 30 мин и 100°C 30 мин 60 мин. Кратко, получали 9,3 M LiBr и позволяли осаждение при комнатной температуре в течение по меньшей мере 30 минут. 5 мл

раствора LiBr добавляли к 1,25 г шелка и помещали в печь при 60°C. Образцы из каждой набора отбирали через 4, 6, 8, 12, 24, 168 и 192 часов. Оставшийся образец фотографировали.

На **фиг. 11-23** показаны фотографии для четырех различных тестированных комбинаций для экстракции шелка: 90°C в течение 30 мин, 90°C в течение 60 мин, 100°C в течение 30 мин и 100°C показаны фотографии для четырех различных тестированных комбинаций для экстракции шелка 60 мин. Кратко, раствор 9,3 M LiBr нагревали до одной из четырех температур: 60°C, 80°C, 100°C или до кипения. 5 мл горячего раствора LiBr добавляли к 1,25 г шелка и помещали в печь при 60°C. Образцы из каждого набора отбирали через 1,4 и 6 часов. Оставшийся образец фотографировали.

На **фиг. 24-32** показаны фотографии для четырех различных тестированных комбинаций для экстракции шелка: использовали четыре различных комбинации для экстракции шелка: 90°C в течение 30 мин, 90°C в течение 60 мин, 100°C в течение 30 мин и 100°C в течение 60 мин. Кратко, раствор 9,3 M LiBr нагревали до одной из четырех температур: 60°C, 80°C, 100°C или до кипения. 5 мл горячего раствора LiBr добавляли к 1,25 г шелка и помещали в печь при такой же температуре, как LiBr. Образцы из каждого набора отбирали через 1, 4 и 6 часов. 1 мл каждого образца добавляли к 7,5 мл 9,3 M LiBr и охлаждали в холодильнике для тестирования вязкости. Оставшийся образец фотографировали.

Молекулярную массу фрагментов белков шелка можно контролировать на основе конкретных параметров, используемых в ходе стадии экстракции, включая время и температуру экстракции; конкретных параметров, используемых в ходе стадии растворения, включая температуру LiBr на время погружения шелка в бромид лития и время, которое раствор поддерживают при конкретных температурах; и конкретных параметров, используемых в ходе стадии фильтрация. Посредством контроля параметров процесса с использованием описанных способов, является возможным получать растворы смеси SPF с полидисперсностью, равной или ниже 2,5, со множеством различных молекулярных масс в диапазоне от 5 кДа до

200 кДа, более предпочтительно, между 10 кДа и 80 кДа. Посредством изменения параметров процесса для получения растворов шелка с различной молекулярной массой, ряд конечных продуктов смеси фрагментов, с желательной полидисперсностью, равной или менее 2,5, могут являться целью, на основании желательных технологических требований. Например, шелковая пленка с более низкой молекулярной массой, содержащая лекарственное средство, может обладать более быстрой скоростью высвобождения по сравнению с пленкой с более высокой молекулярной массой, что делает ее более подходящей для носителя для ежесуточной доставки потребительской косметики. Кроме того, можно получать растворы смеси SPF с полидисперсностью более 2,5. Кроме того, два раствора с различными средней молекулярной массой и полидисперсностью можно смешивать для получения комбинированных растворов. Альтернативно, жидкую шелкоотделительную железу (100% свободный от серицина белок шелка), удаленную непосредственно у шелкопряда, можно использовать в комбинации с любым из растворов смеси SPF по настоящему описанию. Молекулярную массу композиции белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка определяли с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с детектором показателя преломления (RID). Полидисперсность рассчитывали с использованием программного обеспечения Citrus GPC Online GPC/CEK версии 3.3 (Agilent).

Параметры меняли в ходе переработки необработанных шелковых коконов в раствор шелка. Изменение этих параметров влияло на MW полученного раствора шелка. Поддерживаемые параметры включали в себя (i) время и температуру экстракции, (ii) температуру LiBr, (iii) температуру печи для растворения, и (iv) время растворения. Молекулярную массу определяли с помощью масс-спектрометра, как показано на **фиг. 64-80.**

Проводили эксперименты для определения эффекта изменения времени экстракции. **Фиг. 64-70** представляют собой графики, показывающие эти результаты, и в **таблицах 2-8** обобщены результаты. Ниже приведено обобщение:

- Время экстракции серицина 30 минут приводило к большей

MW, чем время экстракции серицина 60 минут

- MW уменьшается со временем в печи

- LiBr и печь при 140°C приводили к нижнему уровню доверительного интервала ниже MW 9500 Да

- после 30 мин экстракции во временные точки 1 час и 4 час получали нерасщепленный шелк

-30 мин экстракции во временной точке 1 час приводили к значимо высокой молекулярной массе с нижним уровнем доверительного интервала составляющим 35000 Да

- Диапазон MW, достигнутый на верхнем уровне доверительного интервала, составлял 18000-216000 Да (важно для предоставления растворов с указанным верхним пределом)

Таблица 2

Эффект времени экстракции (30 мин по сравнению с 60 мин) на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, бромида лития (LiBr) при 100°C и растворения в печи при 100°C (время в печи/растворения меняли)

Время кипения	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
30	1	57247	12780	35093	93387	1,63
60	1	31520	1387	11633	85407	2,71
30	4	40973	2632	14268	117658	2,87
60	4	25082	1248	10520	59803	2,38
30	6	25604	1405	10252	63943	2,50
60	6	20980	1262	10073	43695	2,08

Таблица 3

Эффект времени экстракции (30 мин по сравнению с 60 мин) на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, кипящего бромида лития (LiBr) и растворения в печи при 60°C в течение 4 час

Образец	Время кипения	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
30 мин, 4 час	30	49656	4580	17306	142478	2,87
60 мин, 4 час	60	30042	1536	11183	80705	2,69

Таблица 4

Эффект времени экстракции (30 мин по сравнению с 60 мин) на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, бромида лития (LiBr) при 60°C и растворения в печи при 60°C (время в печи/растворения меняли)

Образец	Время кипения	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
30 мин, 1 час	30	1	58436		22201	153809	2,63
60 мин, 1 час	60	1	31700		11931	84224	2,66
30 мин, 4 час	30	4	61956,5	13337	21463	178847	2,89
60 мин, 4 час	60	4	25578,5	2446	9979	65564	2,56

Таблица 5

Эффект времени экстракции (30 мин по сравнению с 60 мин) на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, бромида лития (LiBr) при 80°C и растворения в печи при 80°C в течение 6 час

Образец	Время кипения	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
30 мин, 6 час	30	63510		18693	215775	3,40
60 мин, 6 час	60	25164	238	9637	65706	2,61

Таблица 6

Эффект времени экстракции (30 мин по сравнению с 60 мин) на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, бромида лития (LiBr) при 80°C и растворения в печи при 60°C (время в печи/растворения меняли)

Образец	Время кипения	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
30 мин, 4 час	30	4	59202	14028	19073	183760	3,10
60 мин, 4 час	60	4	26312,5	637	10266	67442	2,56
30 мин, 6 час	30	6	46824		18076	121293	2,59
60 мин, 6 час	60	6	26353		10168	68302	2,59

Таблица 7

Эффект времени экстракции (30 мин по сравнению с 60 мин) на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, бромида лития (LiBr) при 100°C и растворения в печи при 60°C (время в печи/растворения меняли)

Образец	Время кипения	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
30 мин, 4 час	30	4	47853		19758	115900	2,42
60 мин, 4 час	60	4	25082	1248	10520	59804	2,38
30 мин, 6 час	30	6	55421	8992	19153	160366	2,89
60 мин, 6 час	60	6	20980	1262	10073	43694	2,08

Таблица 8

Эффект времени экстракции (30 мин по сравнению с 60 мин) на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, бромида лития (LiBr) при 140°C и растворения в печи при 140°C (время в печи/растворения меняли)

Образец	Время кипения	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
30 мин, 4 час	30	4	9024,5	1102	4493	18127	2,00865
60 мин, 4 час	60	4	15548		6954	34762	2,2358
30 мин, 6 час	30	6	13021		5987	28319	2,1749
60 мин, 6 час	60	6	10888		5364	22100	2,0298

Проводили эксперименты для определения эффекта изменения температуры экстракции. **Фиг. 71** представляют собой график, показывающий эти результаты, и в **таблице 9** обобщены результаты. Ниже приведено обобщение:

- Экстракция серицина при 90°C приводила к большей MW, чем экстракция серицина при 100°C

- Как для 90°C, так и для 100°C показано уменьшение MW с течением времени в печи

Таблица 9

Эффект температуры экстракции (90°C по сравнению с 100°C) на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях времени экстракции 60 мин, бромида лития (LiBr) при 100°C и растворения в печи при 100°C (время в печи/растворения меняли)

Образец	Время кипения	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
90C, 4 час	60	4	37308	4204	13368	104119	2,79
100C, 4 час	60	4	25082	1248	10520	59804	2,38
90C, 6 час	60	6	34224	1135	12717	92100	2,69
100C, 6 час	60	6	20980	1262	10073	43694	2,08

Проводили эксперименты для определения эффекта изменения температуры бромида лития (LiBr) при добавлении к шелку. **Фиг. 72-73** представляют собой графики, показывающие эти результаты, и в **таблицах 10-11** обобщены результаты. Ниже приведено обобщение:

Отсутствует влияние на MW или доверительный интервал (все CI ~10500-6500 Да)

Исследования показали, что температура при растворении LiBr-шелка, при добавлении LiBr и начале растворения, быстро падает ниже исходной температуры LiBr, из-за того что основная часть массы представляет собой шелк комнатной температуры

Таблица 10

Эффект температуры бромида лития (LiBr) на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях времени экстракции 60 мин, температуры экстракции 100°C и растворения в печи при 60°C (время в печи/растворения меняли).

Образец	Температура LiBr (°C)	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
60C LiBr, 1 час	60	1	31700		11931	84223	2,66
100C LiBr, 1 час	100	1	27907	200	10735	72552	2,60
RT LiBr, 4 час	RT	4	29217	1082	10789	79119	2,71
60C LiBr, 4 час	60	4	25578	2445	9978	65564	2,56
80C LiBr, 4 час	80	4	26312	637	10265	67441	2,56
100C LiBr, 4 час	100	4	27681	1729	11279	67931	2,45
Кипящий LiBr, 4 час	Boil	4	30042	1535	11183	80704	2,69
RT LiBr, 6 час	RT	6	26543	1893	10783	65332	2,46
80C LiBr, 6 час	80	6	26353		10167	68301	2,59
100C LiBr, 6 час	100	6	27150	916	11020	66889	2,46

Таблица 11

Эффект температуры бромида лития (LiBr) на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях времени экстракции 30 мин, температуры экстракции 100°C и растворения в печи при 60°C (время в печи/растворения меняли).

Образец	Температура LiBr (°C)	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
60C LiBr, 4 час	60	4	61956	13336	21463	178847	2,89
80C LiBr, 4 час	80	4	59202	14027	19073	183760	3,10
100C LiBr, 4 час	100	4	47853		19757	115899	2,42
80C LiBr, 6 час	80	6	46824		18075	121292	2,59
100C LiBr, 6 час	100	6	55421	8991	19152	160366	2,89

Проводили эксперименты для определения эффекта температуры в печи/растворения. **Фиг. 74-78** представляют собой графики, показывающие эти результаты, и в **таблицах 12-16** обобщены результаты. Ниже приведено обобщение:

Температура в печи оказывала меньший эффект на экстрагированный 60 мин шелк, чем на экстрагированный 30 мин шелк. Без желания быть связанными с теорией, полагают, что шелк через 30 мин меньше деградирует в ходе экстракции и таким образом, температура в печи оказывает больший эффект на менее деградированную часть шелка с большей MW.

Для шелка, экстрагированного 30 мин в печи при 60°C по сравнению с 140°C, показан очень значимый эффект более низкой MW при более высокой температуре печи, в то время как на экстрагированный 60 мин шелк эффект оказан, но намного меньший.

При 140°C в печи получали в результате нижний уровень доверительного интервала ~6000 Да

Таблица 12

Эффект температуры в печи/растворения на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, времени экстракции 30 мин и бромида лития (LiBr) при 100°C (время в печи/растворения меняли).

Время кипения	Температура в печи (°C)	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
30	60	4	47853		19758	115900	2,42
30	100	4	40973	2632	14268	117658	2,87
30	60	6	55421	8992	19153	160366	2,89
30	100	6	25604	1405	10252	63943	2,50

Таблица 13

Эффект температуры в печи/растворения на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, времени экстракции 60 мин и бромида лития (LiBr) при 100°C (время в печи/растворения меняли)

Время кипения	Температура в печи (°C)	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
60	60	1	27908	200	10735	72552	2,60
60	100	1	31520	1387	11633	85407	2,71
60	60	4	27681	1730	11279	72552	2,62
60	100	4	25082	1248	10520	59803	2,38
60	60	6	27150	916	11020	66889	2,46
60	100	6	20980	1262	10073	43695	2,08

Таблица 14

Эффект температуры в печи/растворения на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, времени экстракции 60 мин и бромида лития (LiBr) при 140°C (время в печи/растворения меняли)

Время кипения	Температура в печи (°C)	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
60	60	4	30042	1536	11183	80705	2,69
60	140	4	15548		7255	33322	2,14

Таблица 15

Эффект температуры в печи/растворения на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, времени экстракции 30 мин и бромида лития (LiBr) при 140°C (время в печи/растворения меняли).

Время кипения	Температура в печи (°C)	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
30	60	4	49656	4580	17306	142478	2,87
30	140	4	9025	1102	4493	18127	2,01
30	60	6	59383	11640	17641	199889	3,37
30	140	6	13021		5987	28319	2,17

Таблица 16

Эффект температуры в печи/растворения на молекулярную массу шелка, переработанного в условиях температуры экстракции 100°C, времени экстракции 60 мин и бромида лития (LiBr) при 80°C (время в печи/растворения меняли)

Время кипения	Температура в печи (°C)	Время в печи	Средняя Mw	Стандартное отклонение	Доверительный интервал		PD
60	60	4	26313	637	10266	67442	2,56

60	80	4	30308	4293	12279	74806	2,47
60	60	6	26353		10168	68302	2,59
60	80	6	25164	238	9637	65706	2,61

В одном из вариантов осуществления способы, описываемые в настоящем документе, приводят к раствору с характеристиками, которые можно контролировать в ходе изготовления, включая в качестве неограничивающих примеров: MW – можно менять посредством изменения времени и температуры экстракции и/или растворения (например, температуры LiBr), давления и фильтрации (например, эксклюзионной хроматографии); структуру – удаление или отщепление тяжелой или легкой цепи белкового полимера фиброина; чистоту – промывка водой высокой температуры для улучшения удаления серицина или фильтрующей способности для улучшенного удаления частиц, оказывающих неблагоприятное влияние на стабильность при хранении раствора смеси фрагментов белков шелка; цвет – цвет раствора можно контролировать, например, с помощью температуры и времени для LiBr; вязкость; прозрачность; и стабильность раствора. Полученный pH раствора, как правило, составляет приблизительно 7, и его можно изменять с использованием кислоты или основания при необходимости для требований хранения.

Описанные выше растворы смеси SPF можно использовать для получения пленки из чистых фрагментов белков шелка или геля из чистых фрагментов белков шелка для множества применений (например, доставки лекарственного средства, витамина, противоокислительного средства и т.д. к коже). **Фиг. 33** представляет собой блок-схему, показывающую вариант осуществления для получения шелковой пленки по настоящему описанию из раствора шелка по настоящему описанию. На **стадии A** выбирают раствор шелка по настоящему описанию, а затем по меньшей мере одну молекулу или терапевтическое средство добавляют непосредственно в раствор шелка до переработки в гель или пленку, **стадия B.** При получении шелковой пленки, раствор шелка с добавкой(добавками) можно заливать непосредственно в форму определенной конфигурации для получения уникальной формы

пленки (например, силиконовую форму), или раствор шелка можно заливать в форме листа, а затем нарезать или штамповать в множество форм, с помощью множества способов нарезки, включая в качестве неограничивающих примеров нарезку с помощью ротационного ножа или нарезку с помощью лазера (**фиг. 83A** и **83B**), в зависимости от желательного применения, **стадия C.** При заливке в форму, например, из силикона, силиконовую форму можно нагревать на поверхности с нанесенными лазером гравировкой/рисунком для получения оттиска, который можно перенести на конечную пленку. Например, на пленку можно перенести логотип продукта, видимый, но не прощупываемый вручную, и использовать, чтобы показать аутентичность продукта. Концентрацию и/или массу конечной пленки из фрагментов белков шелка можно менять для контроля степени гибкости пленки и соответствия различной анатомической топографии. Изменение способа сушки шелковой пленки также приводит к различным характеристикам конечной пленки. Применение потока воздуха и/или нагревания вносит вклад в свойства пленки (например, хрупкость, количество пузырей, закручивание, растворимость, внешний вид поверхности), **стадия D.** Кроме того, процент влажности пленки на время упаковки влияет на стабильность с течением времени, где слишком большая влажность приводит к пожелтению пленок с течением времени (**фиг. 82A-82C**). В некоторых вариантах осуществления пленки в идеале могут обладать содержанием воды между приблизительно 2 и приблизительно 20% по завершению сушки. Наблюдали, что содержание влажности более 20% в пленках уменьшает срок хранения. Если пленки недостаточно сухие (то есть они обладают содержанием воды более 20%) перед упаковкой, они могут желтеть с течением времени (2+ недели). Рекомендовано сушить пленки в инкубаторе, пока относительная влажность в инкубаторе не станет менее относительной влажности окружающей среды и не более 36%. Влажность окружающей среды может оказывать эффект на возможность удаления влажности и таким образом, сенсорный/звуковой тест можно использовать для определения того, готовы ли пленки для упаковки. В одном из вариантов осуществления тест включает в себя удаление пленки из системы

для сушки, небольшое сгибание одного конца пленки и освобождение его. Если пленка на ощупь и по звуку является сходной с куском бумаги или тонкого пластика, ее считают сухой. Если пленка не высохла полностью, она является пластичной и не издает звуков при сгибании и высвобождении. В одном из вариантов осуществления пленка является гибкой без необходимости технологических добавок, таких как глицерин, так что пленку, составляющую 2,5 см в ширину на 10 см в длину, можно согнуть пополам, так что противоположные концы пленки могут коснуться друг друга без разлома или растрескивания пленки. Пленку такого же размера можно согнуть пополам по длине пленки для получения 45-градусного угла без разлома или растрескивания пленки.

Конечная пленка из фрагментов белков шелка является чистой с не поддающимися детекции уровнями дебриса из макрочастиц и/или технологических примесей, включая LiBr и Na_2CO_3. Альтернативно, конечный раствор смеси SPF обладает менее 500 м.д. технологических примесей. **Фиг. 56** и **фиг. 57** представляют собой таблицы, обобщающие концентрации LiBr и Na_2CO_3 в пленках (пленки 2% шелка, высушенные на воздухе при RT) по настоящему описанию. На фиг. **56** условия переработки включали в себя экстракцию при 100°C в течение 20 мин, промывку при RT, LiBr в печи при 60°C в течение 4-6 часов. На фиг. **57** условия переработки включали в себя экстракцию при 100°C в течение 20 мин, промывку при RT, LiBr в печи при 60°C в течение 4-6 часов.

В одном из вариантов осуществления при получении шелкового геля кислоту используют, чтобы способствовать облегчению гелеобразования. В одном из вариантов осуществления при получении шелкового геля, содержащего нейтральную или основную молекулу и/или терапевтическое средство, кислоту можно добавлять для облегчения гелеобразования. В одном из вариантов осуществления при получении шелкового геля, увеличение pH (делающее гель более основным) увеличивает стабильность при хранении геля. В одном из вариантов осуществления при получении шелкового геля, увеличение pH (делающее гель более основным) позволяет загрузить в гель большее количество кислой молекулы.

В одном из вариантов осуществления природные добавки можно добавлять в шелковый гель в качестве дополнительно стабилизирующих добавок. Например, можно использовать микроэлементы, такие как селен или магний, или L-метионин. Кроме того, можно добавлять светонепроницаемые контейнеры для дополнительного увеличения стабильности.

На **фиг. 34** обобщен вариант осуществления параметров для исследования высыхания пленки из фрагментов шелка по настоящему описанию. **Фиг. 35** представляет собой график, показывающий периоды времени высыхания пленки из фрагментов шелка (в различных условиях потока воздуха и температуры) на основании исследования высыхания пленки из фрагментов шелка из **фиг. 34.** Эти исследования показывают, что поток воздуха является важным параметром, который следует принимать во внимание при высушивании (т.е., образцы в накрытых контейнерах не высыхали), температуру можно изменять для изменения скорости высыхания (т.е., увеличенная температура приводит к большей скорости удаления воды) и что статическое состояние содержания влажности в пленках можно получать со множеством параметров (т.е., от 24 до 48 часов масса согласуется в непокрытых образцах вне зависимости от температуры). Следует отметить, что конечные свойства пленки, например, хрупкость, могут меняться с условиями высыхания. Альтернативно, скорость высыхания пленки можно ускорять посредством использования добавки в раствор SPF, такой как поверхностно-активное вещество или масло. Эти добавки можно использовать с нагреванием или без нагревания для изменения скорости высыхания и физических свойств конечной пленки.

В одном из вариантов осуществления условия сушки пленки SFP представляют собой 24°C в инкубаторе с принудительным потоком воздуха в течение 12-48 часов в зависимости от количества пленок и влажности окружающей среды. В этих условиях сушки получают пленку, которая не усаживается более чем на 5 процентов с течением времени при хранении в пакете из фольги. Дополнительно, пленка является гомогенной по составу и физической структуре, без разницы сторон и с равномерным распределением добавки,

например, витамина С, на всем протяжении.

В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может стабилизировать витамин С и его производные при комнатной температуре при хранении на свету с сохранением от приблизительно 30% до приблизительно 100% их активности через 30 суток хранения. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может стабилизировать витамин С и его производные при комнатной температуре при хранении на свету, с сохранением от приблизительно 35% до приблизительно 95% их активности через 30 суток хранения. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может стабилизировать витамин С и его производные при комнатной температуре при хранении на свету, с сохранением от приблизительно 40% до приблизительно 90% их активности через 30 суток хранения. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может стабилизировать витамин С и его производные при комнатной температуре при хранении на свету, с сохранением от приблизительно 45% до приблизительно 85% их активности через 30 суток хранения. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может стабилизировать витамин С и его производные при комнатной температуре при хранении на свету, с сохранением от приблизительно 50% до приблизительно 80% их активности через 30 суток хранения. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может стабилизировать витамин С и его производные при комнатной температуре при хранении на свету, с сохранением от приблизительно 55% до приблизительно 75% их активности через 30 суток хранения. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может стабилизировать витамин С и его производные при комнатной температуре при хранении на свету, с сохранением от приблизительно 60% до приблизительно 70% их активности через 30 суток хранения. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может стабилизировать витамин С и его производные при комнатной температуре при хранении в герметично закрытом воздухонепроницаемом контейнере или пакете,

предотвращающем контакт света с пленкой, с сохранением от приблизительно 80% до приблизительно 100% их активности через 3-24 месяца хранения. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может стабилизировать витамин С и его производные при комнатной температуре при хранении в герметично закрытом воздухонепроницаемом контейнере или пакете, предотвращающем контакт света с пленкой, с сохранением от приблизительно 80% до приблизительно 100% их активности через от приблизительно 3 до приблизительно 60 месяцев хранения. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать между 50% и 90% активного витамина С и его производных в пределах 20 мин при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 50% активного витамина С и его производных в пределах 20 мин при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 60% активного витамина С и его производных в пределах 20 мин при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 70% активного витамина С и его производных в пределах 20 мин при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 80% активного витамина С и его производных в пределах 20 мин при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 90% активного витамина С и его производных в пределах 20 мин при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать между 10% и 100% активного витамина С и его производных в пределах от 5 мин до 8 часов при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 10% активного витамина С и его производных в пределах от 5 мин до 8 часов при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может

высвобождать по меньшей мере 20% активного витамина С и его производных в пределах от 5 мин до 8 часов при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 30% активного витамина С и его производных в пределах от 5 мин до 8 часов при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 40% активного витамина С и его производных в пределах от 5 мин до 8 часов при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 50% активного витамина С и его производных в пределах от 5 мин до 8 часов при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 60% активного витамина С и его производных в пределах от 5 мин до 8 часов при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 70% активного витамина С и его производных в пределах от 5 мин до 8 часов при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 80% активного витамина С и его производных в пределах от 5 мин до 8 часов при адгезии к смоченной коже. В одном из вариантов осуществления пленка из фрагментов белков шелка может высвобождать по меньшей мере 90% активного витамина С и его производных в пределах от 5 мин до 8 часов при адгезии к смоченной коже. Полагают, что воздействие более высоких температур в течение более длительного периода времени может разбивать белок шелка на смеси более разнообразных фрагментов белков шелка и/или разрушать любую третичную структуру белков шелка и/или вторичную структуру белков шелка, что может оказывать неблагоприятное воздействие на стабильность при хранении и/или активность полученных в результате структур (например, гелей, пленок, пен и т.д.), а также уменьшает количество тяжелых цепей в белках шелка.

На **фиг. 36А** и **36В** показаны две хроматограммы ВЭЖХ для

образцов, содержащих витамин С. На хроматограмме слева показаны пики для (1) химически стабилизированного образца витамина С в условиях окружающей среды и (2) образца витамина С, отобранного через 1 час в условиях окружающей среды без химической стабилизации для предотвращения окисления, где продукты деградации являются видимыми. На хроматограмме справа показаны пики для двух различных вариантов осуществления шелковых пленок по настоящему описанию, состаренных в течение по меньшей мере 30 суток при комнатной температуре. Продукты разрушения не являлись видимыми. **Фиг. 59** представляет собой таблицу, обобщающую концентрацию витамина С в пленках из фрагментов белков шелка (пленки с 2% шелка, высушенные на воздухе при RT) по настоящему описанию. На фиг. **59** условия переработки включали в себя экстракцию при 100°С в течение 20 мин, промывку при RT, LiBr в печи при 60°С в течение 4-6 часов. **Фиг. 60** представляет собой таблицу, обобщающую стабильность витамина С в химически стабилизированных растворах. **Фиг. 89А-89В** представляют собой таблицы, обобщающие стабильность витамина С в гелях SPF без стабилизаторов по сравнению с химически стабилизированным витамином С в антивозрастных продуктах конкурентов для ухода за кожей. При заливке геля при общей концентрации добавки витамина С 20% не происходило гелеобразования. Без желания быть связанными теорией, по-видимому существует связь между концентрацией витамина С, концентрацией шелка и гелеобразованием. Увеличение количества витамина С при данной концентрации шелка приводит к более длительному времени до гелеобразования или ингибирует гелеобразование. Это может быть обусловлено тем, что молекула витамина С физически блокирует взаимодействие между фрагментами белков шелка или перекрестно сшивает белки шелка.

В одном из вариантов осуществления молекула или молекулы являются стабильными и могут высвобождаться в течение продленного периода времени. В одном из вариантов осуществления скорость высвобождения контролируют посредством конкретной средневзвешенной молекулярной массы использованных белковых

фрагментов на основе фиброина шелка. В другом варианте осуществления скорость высвобождения контролируют посредством получения многослойной структуры. Например, множество пленок можно заливать и сушить друг над другом. Дополнительно, каждый слой можно формировать с использованием композиций с одной и той же или различной молекулярной массой. В одном из вариантов осуществления степень кристалличности белковой структуры изменяют посредством условий сушки пленки, таким образом контролируя скорость высвобождения. Молекулу или молекулы можно высвобождать местно на кожу, подкожно после имплантации, или местно или системно посредством перорального введения или имплантации. В одном из вариантов осуществления молекула или молекулы высвобождаются между 1 минутой и 20 минутами. В одном из вариантов осуществления молекула или молекулы высвобождаются между 20 минутами и 60 минутами. В одном из вариантов осуществления молекула или молекулы высвобождаются между 1 часом и 4 часами. В одном из вариантов осуществления молекула или молекулы высвобождаются между 4 часами и 8 часами. В одном из вариантов осуществления молекула или молекулы высвобождаются между 8 часами и 24 часами. В одном из вариантов осуществления молекула или молекулы высвобождаются между 1 сутками и 7 сутками. В одном из вариантов осуществления молекула или молекулы высвобождаются между 1 неделей и 4 неделями. В одном из вариантов осуществления молекула или молекулы высвобождаются между 1 месяцем и 3 месяцами. В одном из вариантов осуществления молекула или молекулы высвобождаются между 3 месяцами и 6 месяцами. В одном из вариантов осуществления молекула или молекулы высвобождаются между 20 минутами и 6 месяцами. В одном из вариантов осуществления молекула или молекулы являются стабильными в условиях экстремальной температуры и влажности.

Пленки по настоящему описанию, содержащие белковые фрагменты на основе фиброина шелка со средней средневзвешенной молекулярной массой приблизительно 20 кДа и содержащие приблизительно 20% витамина С по массе, хранили индивидуально в пакетах из фольги и подвергали воздействию экстремальных температур. Пакеты из фольги, содержащие пленки, подвергали

воздействию:

Условия окружающей среды (пленки на время 0)

«Экстремально холодные» (-29°C±2°C в течение 72 часов), затем «горячие влажные» (38°C±2°C при влажности 85%±5% в течение 72 часов) и затем «экстремально горячие, умеренная влажность» (60°C±2°C при 30% влажности ±5% в течение 6 часов)

Количество активного витамина С измеряли с использованием ВЭЖХ. Все пленки наблюдали для поддержания сохранения активности витамина С при экстремальных воздействиях, как обобщено в таблице **17.**

Таблица 17

Количество активного витамина С в пленках в различных условиях

N	Условия	Средняя концентрация витамина С в образце (мг/г)	Стандартное отклонение
4	Время 0, условия окружающей среды	184,90	15,15
16	1) -29°C±2°C в течение 72 часов	193,97	10,25
	2) 38°C±2°C при 85% влажности ± 5% в течение 72 часов		
	3) 60°C±2°C при 30% влажности ± 5% в течение 6 часов		

Фиг. 37-45 представляют собой фотографии, показывающие пленки из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, высушенные в различных условиях температуры, времени и сушки.

Фиг. 46-54 представляют собой фотографии, показывающие растворение, в воде, сформированных пленок из фрагментов белков шелка по настоящему описанию, в различных условиях температуры, времени и сушки. Растворимость в воде пленок по настоящему

описанию можно менять посредством изменения условий сушки. Например, сушка пленки до 20% влажности в инкубаторе с принудительной вентиляцией, а затем увеличение влажности окружающей среды до 50% на период нескольких часов и затем сушка пленки опять до 20% влажности приводит к нерастворимой пленке. При обычных условиях, когда влажность непрерывно уменьшают, получают водорастворимую шелковую пленку. Предполагают, что увеличение влажности позволяет дальнейшую мобилизацию и дальнейшую кристаллизацию структуру белков в пленке, приводящие в результате к нерастворимой пленке. Альтернативные способы в данной области для получения нерастворимых пленок включают в себя введение метанола. Пленки по настоящему описанию явно отличаются от этих пленок из-за их растворимости в воде. Изделия из геля SFP, описываемые в настоящем документе, лежат в диапазоне от гидрогеля, который можно инъецировать или распределять местно, до изделия пленки-геля, которое выглядит как пленка и содержит минимальное, но контролируемое содержание воды, таким образом, предотвращая кристалличность и позволяя растворимость в воде.

В некоторых вариантах осуществления композиция по настоящему описанию может дополнительно содержать усилители впитывания в кожу, включая в качестве неограничивающих примеров, сульфоксиды (такие как диметилсульфоксид), пирролидоны (такие как 2-пирролидон), спирты (такие как этанол или деканол), азоны (такие как лаурокапрам и 1-додецилазациклогептан-2-он), поверхностно-активные вещества (включая алкилкарбоксилаты и их соответствующие кислоты, такие как олеиновая кислота, фторалкилкарбоксилаты и их соответствующие кислоты, алкилсульфаты, алкилэфирсульфаты, докузаты, такие как диоктилсульфосукцинат натрия, алкилбензолсульфонаты, алкилэфирфосфаты и алкиларилэфирфосфаты), гликоли (такие как пропиленгликоль), терпены (такие как лимонен, п-цимен, гераниол, фарнезол, эвгенол, ментол, терпинеол, карвеол, карвон, фенхон и вербенон) и диметилизосорбид.

Ниже следуют неограничивающие примеры подходящих диапазонов для различных параметров в получении и для получения растворов

шелка по настоящему описанию. Растворы шелка по настоящему описанию могут включать один или несколько, но не обязательно все, из этих параметров, и их можно получать с использованием различных комбинаций диапазонов таких параметров.

В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 30%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 25%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 20%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 19%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 18%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 17%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 16%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 15%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 14%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 13%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 12%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 11%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 10%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 9%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 8%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 7%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 6%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 4%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 3%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 2%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 1%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 0,9%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 0,8%. В

одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 0,7%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 0,6%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 0,5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 0,4%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 0,3%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 0,2%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет менее 0,1%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 0,1%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 0,2%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 0,3%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 0,4%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 0,5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 0,6%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 0,7%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 0,8%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 0,9%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 1%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 2%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 3%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 4%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 6%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 7%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 8%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 9%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 10%. В одном из

вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 11%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 12%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 13%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 14%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 15%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 16%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 17%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 18%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 19%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 20%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет более 25%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 30%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 25%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 20%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 15%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 10%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 9%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 8%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 7%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 6,5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 6%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 5,5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 4,5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 4%. В одном из вариантов осуществления процент

шелка в растворе составляет между 0,1% и 3,5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 3%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 2,5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 2,0%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 2,4%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,5% и 5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,5% и 4,5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,5% и 4%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,5% и 3,5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,5% и 3%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,5% и 2,5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 1 и 4%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 1 и 3,5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 1 и 3%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 1 и 2,5%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 1 и 2,4%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 1 и 2%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 20% и 30%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 0,1% и 6%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 6% и 10%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 6% и 8%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 6% и 9%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 10% и 20%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 11% и 19%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 12% и 18%. В одном из вариантов осуществления

процент шелка в растворе составляет между 13% и 17%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет между 14% и 16%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет 2,4%. В одном из вариантов осуществления процент шелка в растворе составляет 2,0%.

В одном из вариантов осуществления процент серицина в растворе составляет от не поддающегося детекции до 30%. В одном из вариантов осуществления процент серицина в растворе составляет от не поддающегося детекции до 5%. В одном из вариантов осуществления процент серицина в растворе составляет 1%. В одном из вариантов осуществления процент серицина в растворе составляет 2%. В одном из вариантов осуществления процент серицина в растворе составляет 3%. В одном из вариантов осуществления процент серицина в растворе составляет 4%. В одном из вариантов осуществления процент серицина в растворе составляет 5%. В одном из вариантов осуществления процент серицина в растворе составляет 10%. В одном из вариантов осуществления процент серицина в растворе составляет 30%.

В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 0 до 1 года. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 0 до 2 лет. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 0 до 3 лет. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 0 до 4 лет. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 0 до 5 лет. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 1 до 2 лет. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 1 до 3 лет. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 1 до 4 лет. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 1 до 5 лет. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 2 до 3 лет. В одном из вариантов

осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 2 до 4 лет. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 2 до 5 лет. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 3 до 4 лет. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 3 до 5 лет. В одном из вариантов осуществления стабильность раствора LiBr-фрагментов шелка составляет от 4 до 5 лет.

В одном из вариантов осуществления стабильность композиции по настоящему описанию составляет от 10 суток до 6 месяцев. В одном из вариантов осуществления стабильность композиции по настоящему описанию составляет от 6 месяцев до 12 месяцев. В одном из вариантов осуществления стабильность композиции по настоящему описанию составляет от 12 месяцев до 18 месяцев. В одном из вариантов осуществления стабильность композиции по настоящему описанию составляет от 18 месяцев до 24 месяцев. В одном из вариантов осуществления стабильность композиции по настоящему описанию составляет от 24 месяцев до 30 месяцев. В одном из вариантов осуществления стабильность композиции по настоящему описанию составляет от 30 месяцев до 36 месяцев. В одном из вариантов осуществления стабильность композиции по настоящему описанию составляет от 36 месяцев до 48 месяцев. В одном из вариантов осуществления стабильность композиции по настоящему описанию составляет от 48 месяцев до 60 месяцев.

В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 6 кДа до 16 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 17 кДа до 38 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 39 кДа до 80 кДа. В одном из вариантов

осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 1 до 5 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 5 до 10 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 10 до 15 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 15 до 20 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 20 до 25 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 25 до 30 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 30 до 35 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 35 до 40 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 40 до 45 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 45 до 50 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему

описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 50 до 55 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 55 до 60 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 60 до 65 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 65 до 70 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 70 до 75 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 75 до 80 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 80 до 85 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 85 до 90 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 90 до 95 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 95 до 100 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина

шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 100 до 105 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 105 до 110 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 110 до 115 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 115 до 120 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 120 до 125 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 125 до 130 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 130 до 135 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 135 до 140 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 140 до 145 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 145 до 150 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в

диапазоне от 150 до 155 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 155 до 160 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 160 до 165 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 165 до 170 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 170 до 175 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 175 до 180 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 180 до 185 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 185 до 190 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 190 до 195 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 195 до 200 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 200 до 205 кДа. В одном из вариантов осуществления

композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 205 до 210 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 210 до 215 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 215 до 220 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 220 до 225 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 225 до 230 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 230 до 235 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 235 до 240 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 240 до 245 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 245 до 250 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 250 до 255 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на

основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 255 до 260 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 260 до 265 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 265 до 270 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 270 до 275 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 275 до 280 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 280 до 285 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 285 до 290 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 290 до 295 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 295 до 300 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 300 до 305 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней

средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 305 до 310 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 310 до 315 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 315 до 320 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 320 до 325 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 325 до 330 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 330 до 335 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 35 до 340 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 340 до 345 кДа. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию включает белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от 345 до 350 кДа.

В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладает полидисперсностью в диапазоне от приблизительно 1 до приблизительно 5,0. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладает

полидисперсностью в диапазоне от приблизительно 1,5 до приблизительно 3,0. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладает полидисперсностью в диапазоне от приблизительно 1 до приблизительно 1,5. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладает полидисперсностью в диапазоне от приблизительно 1,5 до приблизительно 2,0. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладает полидисперсностью в диапазоне от приблизительно 2,0 до приблизительно 2,5. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладает полидисперсностью в диапазоне от приблизительно 2,0 до приблизительно 3,0. В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, обладает полидисперсностью в диапазоне от приблизительно 2,5 до приблизительно 3,0.

В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, содержит не поддающиеся детекции уровни остатков LiBr. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет между 10 м.д. и 1000 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет между 10 м.д. и 300 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет менее 25 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет менее 50 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет менее 75 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет менее 100 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию

составляет менее 200 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет менее 300 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет менее 400 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет менее 500 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет менее 600 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет менее 700 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет менее 800 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет менее 900 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет менее 1000 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 500 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 450 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 400 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 350 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 300 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 250 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 200 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до

150 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 100 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от 100 м.д. до 200 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от 200 м.д. до 300 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от 300 м.д. до 400 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков LiBr в композиции по настоящему описанию составляет от 400 м.д. до 500 м.д.

В одном из вариантов осуществления композиция по настоящему описанию, содержащая белковые фрагменты на основе чистого фиброина шелка, содержит не поддающиеся детекции уровни остатков Na_2CO_3. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет менее 100 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет менее 200 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет менее 300 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет менее 400 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет менее 500 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет менее 600 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет менее 700 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет менее 800 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет менее 900 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет менее 1000 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков

Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 500 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 450 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 400 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 350 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 300 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 250 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 200 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 150 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от не поддающегося детекции до 100 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от 100 м.д. до 200 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от 200 м.д. до 300 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от 300 м.д. до 400 м.д. В одном из вариантов осуществления количество остатков Na_2CO_3 в композиции по настоящему описанию составляет от 400 м.д. до 500 м.д.

В одном из вариантов осуществления растворимость в воде белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка по настоящему описанию составляет от 50 до 100%. В одном из вариантов осуществления растворимость в воде белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка по настоящему описанию

составляет от 60 до 100%. В одном из вариантов осуществления растворимость в воде белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка по настоящему описанию составляет от 70 до 100%. В одном из вариантов осуществления растворимость в воде белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка по настоящему описанию составляет от 80 до 100%. В одном из вариантов осуществления растворимость в воде составляет от 90 до 100%. В одном из вариантов осуществления фрагменты на основе фиброина шелка по настоящему описанию являются нерастворимыми в водных растворах.

В одном из вариантов осуществления растворимость белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка по настоящему описанию в органических растворах составляет от 50 до 100%. В одном из вариантов осуществления растворимость белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка по настоящему описанию в органических растворах составляет от 60 до 100%. В одном из вариантов осуществления растворимость белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка по настоящему описанию в органических растворах составляет от 70 до 100%. В одном из вариантов осуществления растворимость белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка по настоящему описанию в органических растворах составляет от 80 до 100%. В одном из вариантов осуществления растворимость белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка по настоящему описанию в органических растворах составляет от 90 до 100%. В одном из вариантов осуществления фрагменты на основе фиброина шелка по настоящему описанию являются нерастворимыми в органических растворах.

В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 20% до 99,9%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 20% до 25%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 25% до 30%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 30% до 35%. В одном из

вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 35% до 40%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 40% до 45%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 45% до 50%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 50% до 55%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 55% до 60%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 60% до 65%. В одном из вариантов осуществления процент вода в косметических гелях по настоящему описанию составляет от 65% до 70%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 70% до 75%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 75% до 80%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 80% до 85%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 85% до 90%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 90% до 95%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в гелях по настоящему описанию составляет от 95% до 99%.

В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в пленках по настоящему описанию составляет 20%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в пленках по настоящему описанию составляет менее 20%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в пленках по настоящему описанию составляет менее 18%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в пленках по настоящему описанию составляет менее 16%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в пленках по настоящему описанию составляет менее 14%. В одном из вариантов

осуществления процентное содержание воды в пленках по настоящему описанию составляет менее 12%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в пленках по настоящему описанию составляет менее 10%. В одном из вариантов осуществления процентное содержание воды в пленках по настоящему описанию составляет между приблизительно 2% и приблизительно 20%.

В одном из вариантов осуществления температура экстракции в способе получения композиции по настоящему описанию составляет более 84°C. В одном из вариантов осуществления температура экстракции в способе получения композиции по настоящему описанию составляет менее 100°C. В одном из вариантов осуществления температура экстракции в способе получения композиции по настоящему описанию составляет от 84°C до 100°C. В одном из вариантов осуществления температура экстракции в способе получения композиции по настоящему описанию составляет от 84°C до 94°C. В одном из вариантов осуществления температура экстракции в способе получения композиции по настоящему описанию составляет от 94°C до 100°C.

Следующие примеры предложены, чтобы предоставить специалистам в данной области полное раскрытие и описание того, как получать и использовать описанные варианты осуществления, и как не предназначены для ограничения объема того, что авторы настоящего изобретения рассматривают как свое изобретение, так и не предназначены для представления того, что эксперименты ниже представляют собой все или единственные проведенные эксперименты. Предприняты попытки для обеспечения точности в отношении использованных количеств (например, количества, температуры и т.д.), но следует предусматривать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иначе, части представляют собой массовые части, молекулярная масса представляет собой средневзвешенную молекулярную массу, температура представлена в градусах Цельсия, и давление составляет атмосферное или близкое к атмосферному.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Разработка шелковой пленки по настоящему описанию для применения для подтягивания мелких морщин

Таблица 18

Рецептура пленки для пленки для применения для подтягивания мелких морщин - **Фиг. 82А**

% смеси SPF в растворе по настоящему описанию	2,4%
Количество витамина С	4:1 (шелк:витамин С) (0,006 г/мл 2,4% раствор) 20%
мл на пленку (2,5 см на 10 см)	7,08 мл
Масса шелка на пленку:	170 мг
Масса l-аскорбиновой кислоты на пленку	42,5 мг
pH	4,0 (при использовании воды)

Шелковые пленки (2,5 см × 10 см) изготавливали способами, описанными в настоящем документе, изменяя параметры процесса, так чтобы получать в результате пленки, подтягивающие мелкие морщинки. Шелковым пленкам присвоили наименование «пленка PureProC™», и их можно упаковывать в упаковку на основе фольги, которая является воздухонепроницаемой и светонепроницаемой. В **таблице 18** представлены детали пленок PureProC™, использованных в исследовании 32 индивидуумов с использованием пленок в течение четырех (4) недель. Наблюдали биосовместимость и гипоаллергенность пленок. Кроме того, не наблюдали сенсибилизации, токсичности или иммунного ответа. **Фиг. 84** представляет собой график, обобщающий количество витамина С в суточной дозе (т.е., среднем количестве продукта, используемом для покрытия 25 см^2 площади кожи) PureProC™ и продуктов конкурентов в течение периода 30 суток. На **фиг. 85** и **86** обобщены полученные данные для простоты использования и наблюдаемых преимуществ в пределах первого месяца использования.

В одном из вариантов осуществления пленки PureProC™ удаляли посредством отшелушивания пленок. В одном из вариантов осуществления пленки PureProC™ удаляли с использованием влажного

хлопкового шарика или сходной подушечки для удаления. В одном из вариантов осуществления пленки PureProC™ удаляли посредством промывки области, куда помещена пленка, с помощью салфетки для промывки. В одном из вариантов осуществления пленки PureProC™ удаляли с использованием воды. Пленкам PureProC™ можно придавать форму полосок для множества областей лица или более крупные куски можно нарезать в соответствии с намеченными областями. В одном из вариантов осуществления можно включать захваты или подкладку(подкладки) на пленках PureProC™ для простоты нанесения. В одном из вариантов осуществления пленка PureProC™ по настоящему описанию содержит шелк и витамин С (20%).

В одном из вариантов осуществления пленка по настоящему описанию является растворимой в воде (с нерастворимым краем). В одном из вариантов осуществления пленка по настоящему описанию является неокрашенной/прозрачной. В одном из вариантов осуществления пленка по настоящему описанию имеет pH=4 при применении воды. Пленки по настоящему описанию можно получать с различными комбинациями % шелка и объема для получения пленок с количеством шелка от 3 мг/см^2 до 10 мг/см^2. Пленки по настоящему описанию можно получать с от приблизительно 1% до приблизительно 50% l-аскорбиновой кислоты. Пленки по настоящему описанию могут проявлять адгезию к коже с помощью воды. Пленки по настоящему описанию можно распределять на коже при применении воды. Пленки по настоящему описанию могут высыхать, когда влажность оборудования для сушки составляет 16-40% и ниже влажности в лаборатории.

Пример 2. Разработка шелковых гелей по настоящему описанию

Таблица 19

Образцы геля – составы шелкового геля, включая добавки, концентрацию шелка и добавок, условия гелеобразования и время гелеобразования

Наименование образца	мл 2% раствора шелка	Масса витамина С (г)	Соотношение шелк: витамин С	Добавка	Количество добавки	Температура /обработка	Суток до гелеобразования
1	10	0,04	5:01	Нет	Нет	RT	8
2	10	0,08	2,5:1	Нет	Нет	RT	8
3	10	0,2	1:01	Нет	Нет	RT	8
4	10	0,4	1:02	Нет	Нет	RT	14
5	10	0,8	1:04	Нет	Нет	RT	Нет
6	10	0,04	5:01	Нет	Нет	Холодильник	~39
7	10	0,08	2,5:1	Нет	Нет	Холодильник	~39
8	10	0,2	1:01	Нет	Нет	Холодильник	~39
9	10	0,4	1:02	Нет	Нет	Холодильник	Нет
10	10	0,8	1:04	Нет	Нет	Холодильник	Нет
11	10	0,2	1:01	Нет	Нет	RT/интенсивное встряхивание	8
O-1	10	0,04	5:01	Нет	Нет	Печь при 37С	3
O-2	10	0,04	5:01	Нет	Нет	Печь при 50С	2
O-3	10	0,2	1:01	Нет	Нет	Печь при 37С	4
O-4	10	0,2	1:01	Нет	Нет	Печь при 50С	3
M	40	0,16	5:01	Нет	Нет	RT	5
D	40	0,16	5:01	Нет	Нет	RT	5
E1	10	0,04	5:01	Витамин Е	1 капля	RT	7
E2	10	0,04	5:01	Витамин Е	3 капли	RT	7
E3	10	0	Нет	Витамин Е	1 капля	RT	Нет
E4	10	0	Нет	Витамин Е	3 капли	RT	Нет

L1	10	0,04	5:01	Лимон	300 мкл	RT	6
L2	10	0,04	5:01	Лимон-ный сок	300 мкл	RT	6
L3	10	0,04	5:01	Лимон-ный сок	1000 мкл	RT	5
L4	10	0	Нет	Лимон	300 мкл	RT	6
L5	10	0	Нет	Лимон-ный сок	300 мкл	RT	7
Jar 1	20	0,08	5:01	Лимон-ный сок	2000 мкл	RT	5-7
Jar 2	5	0,02	5:01	Лемон-грас-совое масло	1 капля	RT	2-3
R-1	10	0,04	5:01	Розма-риновое масло	1 капля	RT	7
T-1	10	0,04	5:01	Нет	Нет	RT/трубка	7
RO-1	10	0,04	5:01	Розовое масло	1 капля	RT	6
RO-2	10	Нет	Нет	Розовое масло	1 капля	RT	Нет

Соотношение шелка к витамину С

Образцы 1-10 использовали для исследования эффекта соотношения шелка к витамину С на гелеобразование в сыворотке. В образцах 1-3 с меньшим количеством витамина С гелеобразование происходило быстрей, чем в образцах 4 и 5. Все другие условия поддерживали постоянными. В образцах 6-8 с меньшим количеством витамина С гелеобразование происходило быстрей, чем в образцах 9 и 10. Все другие условия поддерживали постоянными. Заключили, что уменьшение соотношения шелка к витамину С (увеличение количества витамина С), может удлинять время до образования геля. Для всех соотношений с небольшими количествами витамина С, количество суток до образования геля сильно не изменялось.

Физическая стимуляция

Образцы 3 и 11 использовали для исследования эффекта физической стимуляции на гелеобразование в сыворотке. Каждый образец получали в таких же условиях. Образец 11 интенсивно встряхивали в течение приблизительно 3 минут после добавления

витамина С. Обработка 3 и 11 в других отношениях являлась одинаковой. Встряхивание приводило к пузырям, но значительно не меняло время образования геля.

Температурная обработка

Образцы 1, 3, 6, 8, O-1, O-2, O-3, и O-4 использовали для исследования эффекта температурной обработки на время гелеобразования в сыворотке. Образцы 1, 6, O-1, и O-2 являлись идентичными, за исключением температурной обработки. Образцы 3, 8, O-3 и O-4 являлись идентичными, за исключением температурной обработки. Две группы отличались по соотношению шелка к витамину С. Время до гелеобразования в сыворотке было напрямую связано с температурной обработкой, где более высокая температура приводила к более быстрому гелеобразованию в сыворотке.

Объем раствора

Образцы 1, M и D использовали для исследования эффекта объема раствора на время гелеобразования в сыворотке. Образцы M и D отличались от образца 1 только по увеличению объема раствора. В образцах M и D гелеобразование происходило за 5 суток, в то время как в образце 1 гелеобразование происходило за 8 суток. Гелеобразование в образцах M и D было определенно отмечено на сутки гелеобразования, в то время как гелеобразование в образце 1 произошло в выходные.

Добавки

Образцы E1, E2, E3, E4, L1, L2, L3, L4, L5, Jar 2, R1, RO-1 и RO-2 использовали для исследования эффекта добавок на время гелеобразования в сыворотке. Образцы E1-4 содержали витамин Е. Только образцы E1 и E2 содержали витамин С, и только в этих двух образцах происходило гелеобразование. Витамин Е можно добавлять в раствор, который должен стать гелем, но по-видимому, другая добавка может потребоваться для получения геля. Образцы L1-5 содержали одну из форм лимонного сока. Образцы L1 и L4 содержали сок непосредственно из лимона, в то время как образцы L2, L3 и L5 содержали лимонный сок из пластикового контейнера с лимонным соком. Образцы L4 и L5 не содержали витамин С, в то время как все другие содержали. Во всех образцах происходило гелеобразование, показывающее, что лимонный сок может вызывать

образование геля сам по себе. Количество лимонного сока и тип лимонного сока оказывали небольшой эффект на время гелеобразования. Образец Jar 2 содержал лемонграссовое масло, которое формировало альбуминоподобное вещество при первоначальном добавлении. Этот образец также содержал витамин С, но время гелеобразования являлось значительно более быстрым, чем для других образцов с витамином С. Образец R1 содержал розмариновое масло, которое, по-видимому, являлось растворимым, также как витамин С. Гелеобразование в образце происходило в сходные временные рамки с другими образцами только с витамином С. Образцы RO-1 и RO-2 содержали розовое масло, в то время как только RO-1 содержал витамин С. Только в RO-1 происходило гелеобразование, показывая, что розовое масло не образует гель быстро само по себе. В обоих случаях розовое масло являлось несмешиваемым и видимым как желтые пузыри.

Водный раствор фрагментов на основе фиброина шелка и эфирные масла являются несмешиваемыми жидкостями. В одном из вариантов осуществления для увеличения аромата раствора фрагментов на основе фиброина шелка, без захвата масел раствором, раствор смешивают с эфирным маслом с использованием магнитной мешалки. Магнитную мешалку вращают с такой скоростью, что некоторую турбулентность наблюдают в смеси, таким образом, вызывая контакт между ароматным эфирным маслом и молекулами в растворе, добавляющий запах раствору. Перед заливкой продукта из раствора, перемешивание можно останавливать и позволять маслу отделиться поверх раствора. Распределение нижней фракции раствора в конечный продукт обеспечивает аромат в отсутствие видимого эфирного масла в конечном продукте.

Альтернативно, раствор на основе фиброина шелка и эфирное масло можно комбинировать в присутствии или в отсутствие дополнительных ингредиентов и/или эмульгатора для получения композиции, содержащей оба ингредиента.

В одном из вариантов осуществления перемешивание раствора, как описано выше, может уменьшать время гелеобразования, если раствор используют для получения состава геля.

Сосуд

Образцы T1 и Jar 1 использовали для исследования эффекта сосуда для заливки на время гелеобразования в сыворотке. Jar 1 заливали в стеклянную банку, в то время как T1 заливали в алюминиевую трубку. В обоих образцах происходило гелеобразование, и не присутствовало влияния на время гелеобразования в сыворотке.

Обобщение

Все обработки раствора шелка для раствора геля проводили в конической пробирке при комнатной температуре, если не указано иначе. Соотношение шелка к витамину С влияло на способность раствора к гелеобразованию, поскольку при соотношениях выше 1:2 гелеобразования не происходило, и при соотношении 1:2 гелеобразование занимало в два раза больше времени, чем при других более низких соотношениях (5:1, 2,5:1, 1:1). Температура влияла на время гелеобразования, где более высокие температуры приводили к более короткому времени гелеобразования. Обработка при 50°С приводила к гелеобразованию, настолько быстрому, как за 2 суток, обработка при 37°С приводила к гелеобразованию, настолько быстрому, как за 3 суток, обработка при комнатной температуре приводила к гелеобразованию за 5-8 суток, и при хранении в холодильнике гелеобразование занимало по меньшей мере 39 суток. Эффекты добавок на гелеобразование зависели от добавки. Витамин Е, розмариновое масло и розовое масло все не оказывали эффекта на гелеобразование. Каждая из этих добавок не предотвращала гелеобразование или не влияла на время гелеобразования. Каждая требовала также присутствия витамина С для гелеобразования. Лимонный сок из свежего лимона, предварительно выжатый лимонный сок из пластикового контейнера с лимонным соком и лемонграссовое масло влияли на гелеобразование. Без желания быть связанными с теорией, полагают, что более низкий pH в результате этих добавок является причиной того, что добавки оказывали влияние на уменьшение времени гелеобразования. Оба типа лимонного сока являлись способными вызывать гелеобразование без присутствия витамина С. Это происходило за такое же количество суток, как с витамином С. Лемонграссовое

масло являлось способным уменьшать количество суток до гелеобразования до 2-3 суток. Все добавки выглядели растворимыми, в отличие от лемонграссового масла и розового масла. Розовое масло оставалось в желтых пузырях, в то время как лемонграссовое масло являлось частично растворимым и формировало альбуминоподобный комок. В одном из вариантов осуществления масла, которые не являются полностью растворимыми, еще можно суспендировать в геле в качестве добавки. Физическая стимуляция посредством встряхивания, раствор заливали в сосуд, и объем раствора не влияли на время гелеобразования. **Фиг. 81** представляет собой график, представляющий % активности витамина С в гелях по настоящему описанию.

Таблица 20

Концентрация витамина С в различных составах геля.

Информация об образце	Масса образца (мг)	Концентрация витамина С (мг/г)	
		В образце	Среднее
Розмарин (хранение при комнатной температуре)	685,7	3,2511	3,2657
		3,2804	
	638	3,3336	3,3334
		3,3332	
Лемонграсс (хранение при комнатной температуре)	646	2,8672	2,877
		2,8868	
	645,5	2,9051	2,9051
		2,9052	
Розмарин (комнатная температура; хранение с покрытием фольгой)	645,2	3,9063	3,9147
		3,923	
	649	3,9443	3,9374
		3,9305	
Лемонграсс (комнатная температура; хранение с покрытием фольгой)	630,1	3,8253	3,8274
		3,8295	
	660,4	3,8283	3,8253
		3,8222	
Розмарин (холодильник,	672,4	5,1616	5,1484

хранение с покрытием фольгой)		5,1352	
	616,5	5,1984	5,201
		5,2036	
Лемонграсс (холодильник, хранение с покрытием фольгой)	640,5	5,1871	5,1824
		5,1776	
	627,7	5,2098	5,2126
		5,2154	

Пример 3. Разработка шелковых гелей по настоящему описанию для применения в качестве геля для выравнивания

Таблица 21

Лемонграссовый гель

% раствора шелка	2%
Количество витамина С	100 мг/15 мл раствора
Количество лемонграссового масла	20 мкл/15 мл раствора

Таблица 22

Розмариновый гель

% раствора шелка	2%
Количество витамина С	100 мг/15 мл раствора
Количество розмаринового масла	20 мкл/50 мл раствора

Таблица 23

Лемонграссовый Гель (50 мл)	
% раствора шелка (кипячение 60 минут, 25 кДа)	2%
Количество витамина С (аскорбилглюкозида)	12,82 мг/мл раствора (всего 641 мг)
Количество лемонграссового масла	1,33 мкл/мл раствора
pH	4

Таблица 24

Розмариновый гель (50 мл)

% раствора шелка (кипячение 60 минут, 25 кДа)	2%
Количество витамина С (аскорбилглюкозида)	12,82 мг/мл раствора (всего 641 мг)
Количество розмаринового масла	0,8 мкл/мл раствора
pH	4

Гели по настоящему описанию можно получать с от приблизительно 0,5% до приблизительно 8% растворами шелка. Гели по настоящему описанию можно получать с аскорбилглюкозидом в концентрациях от приблизительно 0,67% до приблизительно 15% масс./об. Гели по настоящему описанию могут являться прозрачными/белыми по цвету. Гели по настоящему описанию могут иметь консистенцию, которая легко распределяется и абсорбируется кожей. Гели по настоящему описанию могут не образовывать видимого остатка или ощущения жирности после нанесения. Гели по настоящему описанию не становятся коричневыми с течением времени.

Шелковые гели с эфирными маслами получали посредством разведения раствора шелка по настоящему описанию до 2%. Витамин С добавляли в раствор и позволяли раствориться. Эфирное масло добавляли, перемешивали и разводили. Аликвоты раствора отбирали в банки.

Проводили исследование с 44 людьми для двух составов по настоящему описанию, PureProC™ розмаринового геля и PureProC™ лемонграссового геля (**фиг. 87** и **88**). Опрашиваемых субъектов просили использовать каждый образец один раз в сутки в течение недели каждый. Большинство опрашиваемых субъектов наносили гель на все лицо. Другие области, куда его наиболее часто наносили, включали в себя лоб, область под глазами и вокруг рта.

Большинство опрашиваемых субъектов наносили гель утром (67%), где оставшиеся 33% наносили гель вечером. Девяносто восемь (98%) участников использовали гель один раз в сутки в ходе теста. Опрашиваемых субъектов просили описывать своими

словами, каково ощущение от геля, когда его наносят, и каково ощущение в течение 24 часов до следующего нанесения. Гладкий, прохладный и мягкий являлись наиболее часто упоминаемыми прилагательными, используемыми для описания ощущения от геля. Восемьдесят процентов (80%) участников теста выразили высокую степень заинтересованности в продолжении использования геля.

Опрашиваемых субъектов спрашивали, что они делали с другими продуктами, которые они обычно использовали для лица, в ходе испытания. Большинство наносили гель первым, а затем добавляли другие продукты, или наносили гель на ночь без дополнительных продуктов. Только 14% участников указали, что они исключали один из своих нормальных продуктов при тестировании геля. PureProC™ можно использовать в сочетании с другими продуктами или вместо других продуктов. Дополнительно, солнцезащитное средство можно добавлять в гель, или его можно распределять из насоса-дозатора, а не из банки. При повторяющемся местном использовании, не наблюдали раздражения кожи, сыпи или признаков несовместимости. Наблюдали биосовместимость и гипоаллергенность гелей. Кроме того, не наблюдали сенсибилизации, токсичности или иммунного ответа.

Пример 4. Изделия из шелка по настоящему описанию, изготовленные из растворов шелка по настоящему описанию

Растворы шелка с различной молекулярной массой и/или комбинацией молекулярных масс можно оптимизировать для конкретных применений. Далее приведен пример этого процесса, но он не предназначен, чтобы являться ограничивающим для применения или состава.

Три (3) раствора шелк использовали в стандартных шелковых структурах в соответствии со стандартными способами из литературы со следующими результатами:

Раствор #1 обладает концентрацией шелка 5,9%, средней MW 19,8 кДа и PD 2,2 (получен с помощью 60 мин экстракции при кипении, растворения в LiBr при 100 градусах в течение 1 час)

Раствор #2 обладает концентрацией шелка 6,4% (получен с помощью 30 мин экстракции при кипении, растворения в LiBr при 60 градусах в течение 4 час)

Раствор #3 обладает концентрацией шелка 6,17% (получен с помощью 30 экстракции при кипении, растворения в LiBr при 100С в течение 1 часа)

Пленки: Пленки получали в соответствии с Rockwood et al (Nature Protocols; Vol. 6; No. 10; опубликовано онлайн 9/22/2011; doi:10,1038/nprot.2011,379). Кратко, 4 мл 1% или 2% (масс./об.) водного раствора шелк помещали в 100 мм чашку Петри (объем шелка можно менять для более толстых или более тонких пленок, и он не является критическим) и позволяли высыхать в течение ночи без крышки. Низ вакуумного эксикатора заполняли водой. Сухие пленки помещали в эксикатор и подключали вакуум, позволяя закаливание пленок водой в течение 4 часов до удаления из чашек. Для пленок, залитых из раствора #1, не получали в результате структурно однородной пленки; пленка разламывалась на несколько кусков. Эти куски пленки растворялись в воде несмотря на обработку закаливания водой.

Egel: «Egel» представляет собой способ электрогелеобразования, как описано в Rockwood et al. Кратко, 10 мл водного раствора шелка помещали в 50 мл коническую пробирку, и пару электродов из платиновой проволоки погружали в раствор шелка. Потенциал 20 вольт прилагали к платиновым электродам на 5 минут, источник питания отключали и собирали гель. Раствор #1 не формировал EGEL в течение 5 минут приложенного электрического тока.

Гелеобразование: В растворах #2 и #3 гелеобразование проводили в соответствии с опубликованными протоколом с использованием пероксидазы хрена (HRP). Поведение выглядело типичным для опубликованных растворов.

Обработанные ультразвуком гели: Гели получали, следуя способу в Rockwood et al. Кратко, 5 мл раствора шелка помещали в 15 мл коническую пробирку. Ультразвуковой горн погружали в раствор, и раствор облучали ультразвуком с 50% амплитудой (21 Вт). Шелковые гели получали из 2%, 4% и 6% растворов шелка. По сравнению со стандартным описанным в литературе шелком, растворы #2 и #3 формировали гели после более длительного времени, например:

Стандартный описанный в литературе шелк: 5-8 мин

Раствор #2: 20 мин

Раствор #3: 120 мин

Пористые 3D каркасы: Обессоленные каркасы на основе воды получали в соответствии с опубликованными способами Rockwood. Соль с представляющими интерес размерами частиц получали посредством укладки штабелем сит с наибольшим значением меш сверху, и с наименьшим значением меш снизу. Добавляли соль, и сита интенсивно встряхивали, собирая соль. С помощью 5-мл шприца, 6% (масс./об.) раствор фиброина разделяли на аликвоты в пластиковые контейнеры, 2 мл на форму, и частицы соли 5-600 микрон медленно добавляли поверх раствора фиброина в форме, с вращением в то же время контейнера, так что соль распределялась равномерно. Соотношение соли к шелку в растворе поддерживали 25:1.

Контейнером осторожно постукивали по поверхности стола для удаления пузырей воздуха, крышку закрывали и раствору позволяли оседать в течение ночи при комнатной температуре. После гелеобразования крышки удаляли, и формы помещали в 2-литровый стакан с ультрачистой водой (по три контейнера на 2 литра воды). Стаканы переносили на плиту смесителя и перемешивали, заменяя воду 2-3 раза в сутки в течение 2 суток (всего 4-6 промывок). Каркасы вынимали из форм и помещали в свежую воду на дополнительные сутки.

Раствор #1 не формировал каркас; в нем не происходило гелеобразования. Растворы #2 и #3 оба формировали каркасы. Каркасы, полученные из раствора #3, выглядели более мягкими, чем каркасы, полученные из раствора #2, но оба каркаса являлись однородными.

Пример 5. Фильтрование тангенциальным потоком (TFF) для удаления растворителя из растворов растворенного шелка по настоящему описанию

Множество % концентраций шелка получали с использованием фильтрования тангенциальным потоком (TFF). Во всех случаях 1% раствор шелка использовали в качестве исходного сырья. Диапазон 750-18000 мл 1% раствора шелка использовали в качестве исходного

объема. Раствор подвергали диафильтрации в TFF для удаления бромида лития. Сразу после понижения ниже указанного уровня остаточного LiBr, раствор подвергали ультрафильтрации для увеличения концентрации посредством удаления воды. См. примеры ниже.

7,30% раствор шелка: 7,30% раствор шелка получали, начиная с партий после экстракции в течение 30 минут 100 г шелковых коконов на партию. Затем экстрагированные волокна шелка растворяли с использованием 9,3M LiBr при 100C в печи при 100C в течение 1 часа. Растворяли 100 г волокон шелка на партию для получения 20% шелка в LiBr. Затем растворенный в LiBr шелк разводили до 1% шелка и фильтровали через фильтр 5 мкм для удаления крупного дебриса. 15500 мл 1%, фильтрованного раствора шелка использовали в качестве исходного объема/объема диафильтрации для TFF. После удаления LiBr, раствор подвергали ультрафильтрации до объема около 1300 мл. Затем собирали 1262 мл 7,30% шелка. Воду добавляли в подающее устройство, чтобы способствовать удалению оставшегося раствора, и затем собирали 547 мл 3,91% шелка.

6,44% раствор шелка: 6,44% раствор шелка получали, начиная с партий после экстракции в течение 60 минут из смеси 25, 33, 50, 75 и 100 г шелковых коконов на партию. Затем экстрагированные волокна шелка растворяли с использованием 9,3M LiBr при 100C в печи при 100C в течение 1 часа. Растворяли 35, 42, 50 и 71 г волокон шелка на партию для получения 20% шелка в LiBr, и объединяли. Затем растворенный в LiBr шелк разводили до 1% шелка и фильтровали через фильтр 5 мкм для удаления крупного дебриса. 17000 мл 1%, фильтрованного раствора шелка использовали в качестве исходного объема/объема диафильтрации для TFF. После удаления LiBr, раствор подвергали ультрафильтрации до объема около 3000 мл. Затем собирали 1490 мл 6,44% шелка. Воду добавляли в подающее устройство, чтобы способствовать удалению оставшегося раствора, и затем собирали 1454 мл 4,88% шелка

2,70% раствор шелка: 2,70% раствор шелка получали, начиная с партий после экстракции в течение 60 минут 25 г шелковых коконов на партию. Затем экстрагированные волокна шелка

растворяли с использованием 9,3M LiBr при 100C в печи при 100C в течение 1 часа. Растворяли 35,48 г волокон шелка на партию для получения 20% шелка в LiBr. Затем растворенный в LiBr шелк разводили до 1% шелка и фильтровали через фильтр 5 мкм для удаления крупного дебриса. 1000 мл of 1%, фильтрованного раствора шелка использовали в качестве исходного объема/объема диафильтрации для TFF. После удаления LiBr, раствор подвергали ультрафильтрации до объема около 300 мл. Затем собирали 312 мл 2,7% шелка.

Пример 6. Гели с производными витамина C по настоящему описанию

Наиболее чистой формой витамина C является L-аскорбиновая кислота. Существует ряд других производных витамина C, которые функционируют подобно чистому витамину C после их превращения в L-аскорбиновую кислоту в организме. Производные витамина C использовали для продления срока хранения. Производные представляют собой стабильные формы L-аскорбиновой кислоты и не окисляются или не теряют стабильность. В **таблице 25** ниже обобщены некоторые производные витамина C, тестированные в продуктах для ухода за кожей по настоящему описанию:

Таблица 25

Исследованные производные

Аскорбилфосфат натрия (Aromantic)
Аскорбилфосфат натрия (DSM)
Аскорбилфосфат магния
2-глюкозид аскорбиновой кислоты
Аскорбилтетраизопальмитат

В таблицах на **фиг. 89A-89B** обобщены варианты осуществления гелей по настоящему описанию. 2-глюкозид аскорбиновой кислоты являлся наиболее успешным производным витамина C для формирования геля, где гель формировался в 2% растворе шелка за 3 суток. С аскорбилфосфатом натрия от поставщика DSM гель формировался в 2% растворе шелка через 28 суток, в то время как с такой же молекулой от Aromantic не удалось получить гель. Во всех случаях 100 мг производного витамина C смешивали с 15 мл 2%

раствора шелка, и все гели имели такой же внешний вид, как гели, полученные с аскорбиновой кислотой.

Гели заливали также с комбинациями двух вариантов витамина С. В каждом случае, по меньшей мере один из вариантов витамина С был известен, как вызывающий гелеобразование (L-аскорбиновая кислота или 2-глюкозид аскорбиновой кислоты). Все комбинированные гели являлись способными к гелеобразованию при общей концентрации добавок витамина С 1%. В геле, залитом при общей концентрации добавок витамина С, не происходило гелеобразования. Без желания быть связанными теорией, по-видимому, существует взаимосвязь между концентрацией витамина С, концентрацией шелка и гелеобразованием. Увеличение концентрации витамина С при данной концентрации шелка приводит к более длительному времени до гелеобразования или ингибирует гелеобразование. Это может быть обусловлено тем, что молекула витамина С физически блокирует взаимодействие между фрагментами белков шелка или перекрестно сшивает белки шелка. Модификация pH может позволять добавление дополнительных концентраций витамина С и его производных.

Аскорбилтетраизопальмитат не использовали в каком-либо образующем гель составе, поскольку его невозможно было растворить или диспергировать в водном растворе шелка. Аскорбилтетраизопальмитат представляет собой очень вязкую, растворимую в масле жидкость, которой может понадобиться помощь эмульгатора для возможного растворения в водном растворе шелка.

Пример 7. Пленки с производными витамина С по настоящему описанию

Фиг. 90 представляет собой таблицу, обобщающую варианты осуществления пленок по настоящему описанию. Аскорбилфосфат натрия, аскорбилфосфат магния и 2-глюкозид аскорбиновой кислоты можно заливать в пленки различного внешнего вида. Пленки с аскорбилфосфатом натрия являлись непрозрачными и белыми с текстурированной верхней поверхностью, сходной с пластиком. Пленки с аскорбилфосфатом магния являлись прозрачными и с помутнениями, с текстурированной верхней поверхностью, сходной с пластиком. Пленки с 2-глюкозидом аскорбиновой кислоты являлись

наиболее сходными с пленками с L-аскорбиновой кислотой, хотя немного менее пластичными и слабо текстурированными. Все пленки являлись растворимыми с нерастворимым краем. В одном из вариантов осуществления пленку с нерастворимым краем можно сделать полностью легко распределяемой посредством вырубки формы из области, содержащейся внутри растворимой секции.

Пример 8. Пленки с кофеином и витамином С по настоящему описанию

Фиг. 91А-91В представляют собой таблицы, обобщающие варианты осуществления пленок с кофеином по настоящему описанию. Пленки заливали с 0,5%, 1%, 2,5%, 5%, 10%, 15% и 20% кофеина и 20% или 25% витамина С. Все комбинации формировали пленки. Пленки с 20% кофеином обладали выпавшим в осадок кофеином. Пленки с 0,5%-2,5% являлись растворимыми. В одном из вариантов осуществления пленку с кофеином по настоящему описанию используют для уменьшения припухлости в области глаз.

Пример 9. Гели с кофеином и витамином С по настоящему описанию

Шелковый гель с 2% шелка и 100 мг L-аскорбиновой кислоты/15 мл раствора получали с добавлением 50 мг кофеина/15 мл раствора. Гель выглядел так же, как стандартные гели с L-аскорбиновой кислотой. В одном из вариантов осуществления гель с кофеином по настоящему описанию используют для уменьшения припухлости в области глаз. Можно использовать ряд эфирных масел, включая в качестве неограничивающих примеров, лемонграссовое, ванильное, гераниевое масло и масло из зеленого чая.

Пример 10. Гели с зеленым чаем и витамином С по настоящему описанию

Стадии:

Приготовление зеленого чая	Нагреть 250 мл воды до кипения Замочить пакет чая на 2-3 минуты с перемешиванием время от времени Удалить пакет чая и дать остыть

Получение раствора геля	Использовать TFF-10-0047 (3,71% шелк) развести до 3% шелка водой развести до 2% зеленым чаем добавить L-аскорбиновую кислоту
Гель	Гелеобразование происходило как в стандартном геле при комнатной температуре Зеленый/желтый цвет Запах зеленого чая
Спецификации раствора:	2% раствор шелка 65 мл (35 мл 3,71% шелка, 8,3 мл воды, 21,66 мл зеленого чая) 0,43 г L-аскорбиновой кислоты

Фиг. 92 представляет собой таблицу, обобщающую вариант осуществления геля с кофеином по настоящему описанию. Получали шелковый гель с 2% шелком и 100 мг L-аскорбиновой кислоты/15 мл раствора с добавлением 50 мг кофеина/15 мл раствора. Гель обладал точно таким же внешним видом, как стандартные гели с L-аскорбиновой кислотой.

Пример 11. Гели с консервантом и витамином С по настоящему описанию

Фиг. 93 представляет собой таблицу, обобщающую варианты осуществления гелей с консервантами по настоящему описанию. Шелковые гели заливали из стандартного 2% раствор шелка и 100 мг L-аскорбиновой кислоты/15 мл раствора с добавлением консерванта и хелатирующего средства. Добавленный консервант представлял собой Verstatil SL от Kinetic (вода, левулинат натрия, сорбат калия) при 1,5% и хелатирующее средство представляло собой Dermofeel-PA3 от Kinetic (фитат натрия) при 0,1%. Добавление консервантов продлевало время гелеобразования до 7 суток. Гель обследовали по обесцвечиванию и целостности по сравнению с

гелями с L-аскорбиновой кислотой и 2-глюкозидом аскорбиновой кислоты.

Пример 12. Химические отшелушивающие средства по настоящему описанию

Первичной исследованной переменной являлась концентрация молочной кислоты и/или гликолевой кислоты, необходимая для получения раствора шелка желательного pH. Для определения взаимосвязи между концентрацией в шелке и pH, 2% растворы шелка (кипячение 60 минут, 25 кда) титровали с гликолевой и молочной кислотой, и тестировали pH с помощью полосок для измерения pH. См. следующие титрования/составы ниже:

Таблица 26

Отшелушивающее средство с молочной кислотой 1: Исходный раствор: 25 мл 2% раствора шелка, pH=7-8

Количество добавленной молочной кислоты	Всего молочной кислоты	pH
100 мкл	100 мкл	3
100 мкл	200 мкл	2
100 мкл	300 мкл	1-2

Время до гелеобразования: 3 суток

Таблица 27

Отшелушивающее средство с молочной кислотой 2: Исходный раствор: 25 мл 2% раствора шелка, pH=7-8

Количество добавленной молочной кислоты	Всего молочной кислоты	pH
25 мкл	25 мкл	4

Время до гелеобразования: >5 суток

Таблица 28

Отшелушивающее средство с гликолевой кислотой 1: Исходный раствор: 25 мл 2% раствора шелка, pH=7-8

Количество добавленной гликолевой кислоты	Всего гликолевой кислоты	pH
41 мг	41 мг	4
43,25 мг	84,25 мг	3
30,7 мг	114,95 мг	3

56,4 мг	171,35 мг	2-3
91,66 мг	263,01 мг	2
171,35 мг	434,4 мг	1-2

Время до гелеобразования: 3 суток

Таблица 29

Отшелушивающее средство с гликолевой кислотой 2: Исходный раствор: 25 мл 2% раствора шелка, pH=7-8

Количество добавленной молочной кислоты	Всего молочной кислоты	pH
41 мг	41 мг	4

Время до гелеобразования: >5 суток

Таблица 30

Отшелушивающее средство с молочной/гликолевой кислотой: Исходный раствор: 25 мл 2% раствора шелка, pH=7-8

Всего молочной кислоты	Всего гликолевой кислоты	Лемонграсс	pH
150 мкл	200 мг	33,3 мкл	2

Время до гелеобразования: 3 суток

Таблица 31

Отшелушивающее средство с молочной/гликолевой кислотой: Исходный раствор: 30 мл 2% раствора шелка, pH=7-8

% раствора шелка (кипячение 60 минут, 25 кДа)	2%
Концентрация молочной кислоты	6 мкл/мл
Концентрация гликолевой кислоты	8 мг/мл
pH	2
Концентрация лемонграсса	1,33 мкл/мл

Отшелушивающее средство по настоящему описанию может обладать % шелка в диапазоне от приблизительно 0,5% до приблизительно 8%. pH отшелушивающего средства по настоящему описанию можно доводить с помощью меняющихся количеств молочной и гликолевой кислоты. Отшелушивающие средства можно также получать только с молочной кислотой или только с гликолевой

кислотой. Отшелушивающее средство по настоящему описанию может являться прозрачным/белым по цвету Отшелушивающее средство по настоящему описанию может обладать консистенцией геля, которая легко распределяется и абсорбируется кожей. Отшелушивающее средство по настоящему описанию не становится коричневым или не изменяет цвета.

В одном из вариантов осуществления химическое отшелушивающее средство по настоящему описанию можно наносить еженедельно для получения здоровой, яркой кожи. В одном из вариантов осуществления химическое отшелушивающее средство по настоящему описанию можно наносить еженедельно для уменьшении мелких морщин. В одном из вариантов осуществления химическое отшелушивающее средство по настоящему описанию можно наносить еженедельно для укрепления кожи.

Каждый состав (после титрования, при необходимости) наносили в форме жидкости и в форме геля, и наблюдали внешний вид и ощущение. Отшелушивающие средства с pH=4 (отшелушивающее средство с молочной кислотой 2, отшелушивающее средство с гликолевой кислотой 2) приводили к минимальному ощущению жжения через несколько минут после нанесения, в то время как отшелушивающие средства с pH=~2 (отшелушивающее средство с молочной кислотой 1, отшелушивающее средство с гликолевой кислотой 1, отшелушивающее средство с молочной/гликолевой кислотой) вызывали чувство жжения немного большей интенсивности. Небольшое различие чувствовали в степени жжения между жидкостью и гелем, где ощущение жжения являлось более поздним для формы геля. PH поддерживали в форме геля и подтверждали с использованием полоски для определения pH.

Гликолевая кислота и молочная кислота обе являются альфа-гидроксикислотами (АНА), которые присутствуют среди наиболее широко используемых отшелушивающих средств для поверхностного отшелушивания (отшелушивания самого верхнего слоя кожи). Химические отшелушивающие средства предназначены для ожога верхних слоев кожи контролируемым образом, для удаления поверхностных слоев кожи и мертвой кожи для улучшения внешнего вида. АНА являются общепринятыми в химических отшелушивающих

средствах из-за низкого риска неблагоприятных реакций и высокого контроля силы (контроля действующих pH и времени). Гликолевая кислота является наиболее широко используемой и обладает очень небольшим размером молекулы, что позволяет глубокое проникновение в эпидермис. Молочная кислота является другой широко используемой АНА и обеспечивает более мягкое отшелушивание с более высоким контролем благодаря большему размеру ее молекулы. Любое количество химических веществ, известных в данной области, которые снижают pH и обеспечивают физическое отшелушивание, можно использовать вместо АНА.

Пример 13. Гидратирующие сыворотки по настоящему описанию

Переменные включают в себя: концентрацию шелка в растворе, концентрацию НА, добавление витамина С и способ получения сыворотки. **Таблица 32** представляет собой список образцов, которые оценивали:

Таблица 32

Варианты осуществления сывороток по настоящему описанию, содержащих НА и Шелк (кипячение 60 минут, 25 кДа), в присутствие или в отсутствие витамина С, и в присутствиии 20 мкл/15 мл лемонграсосвого эфирного масла (30 мл раствора)

Способ	НА (%)	Шелк (%)	Витамин С (мг)	Наблюдение
НА добавляют в воду перед растворением шелка	0,5	2	0	Белая, немного мутная, вязкая жидкость
	1			Белая/желтая, немного мутная, вязкая жидкость
	0,5	2	0	Низкая вязкость, прозрачная-мутная белая с пленкой сверху, некоторое коичество белого осадка при местном нанесении на кожу
	1			Немного вязкая, прозрачная жидкость с пленкой сверху
	0,5	1	0	Немного вязкая, прозрачная

				жидкость с пленкой сверху
	1			Гладкая вязкая жидкость, без белого осадка при местном нанесении на кожу
	0,5	0,5	0	Умеренно вязкая жидкость, прозрачная
	1			Гладкая, прозрачная, без белого осадка при местном нанесении на кожу
	0,5	2	35	Негомогенная смесь плотного геля и вязкой жидкости
	1			Негомогенная смесь плотного геля и вязкой жидкости
	1	1	35	Негомогенная смесь плотного геля и вязкой жидкости
		0,5		Мутная, белая жидкость/не вязкая
	1	4	35	Разделенная смесь плотного геля и вязкой жидкости
			0	Негомогенная смесь плотного геля и вязкой жидкости
	5	2	0	Желтый гель
НА добавляют в воду перед растворением шелка, интенсивно перемешивают	10	2	0	Вязкий коллоид при перемешивании с нерастворенным НА
	5			Очень вязкий коллоид при перемешивании
	1			Вязкий коллоид при перемешивании
	0,5			
НА добавляют в воду перед	1	2	0	Негомогенный густой, вязкий коллоид/гель
	5	1	0	

растворением шелка, встряхивают				
НА добавляют в воду и позволяют осаждение в течение 1 суток перед растворением шелка	1	1	0	Прозрачная/немного мутная, вязкая жидкость, гладкая на ощупь, от небольшого количества до отсутствия белого осадка при местном нанесении на кожу
НА добавляют в раствор растворенного шелка, перемешивают	0,5	2	0	Вязкая, прозрачная/белая жидкость с различной консистенцией
	1			
	0,5	1		Прозрачная вязкая жидкость с различной консистенцией
	1			
	0,5	6		Белый, мутный коллоид с различной консистенцией
	1			
НА добавляют в раствор растворенного шелка, перемешивают	0,5	3,9	0	Белая, немного мутная, вязкая жидкость
	1			
	0,5	2	35	Белый гель с различной консистенцией
	1			

В одном из вариантов осуществления гидратирующая сыворотка по настоящему описанию защищает кожу и удерживает влажность с помощью активности белковых фрагментов на основе фиброина шелка. В одном из вариантов осуществления гидратирующая сыворотка по настоящему описанию доставляет влагу для немедленной и длительной гидратации на всем протяжении суток с помощью концентрированной гиалуроновой кислота. Ряд эфирных масел можно использовать в гидратирующей сыворотке по настоящему описанию включая в качестве неограничивающих примеров, масло лемонграсса, ванили, герани и зеленого чая. В одном из вариантов осуществления одна или две капли гидратирующей сыворотки по настоящему описанию могут смягчать лицо и шею. В одном из

вариантов осуществления гидратирующая сыворотка по настоящему описанию содержит воду, водный раствор фрагментов на основе фиброина шелка, гиалуроновую кислоту и лемонграссовое масло. В одном из вариантов осуществления белковый фрагмент на основе фиброина шелка в гидратирующей сыворотке по настоящему описанию обладает способностью стабилизировать и защищать кожу, удерживая в то же время влажность, все без использования агрессивных химических консервантов или синтетических добавок. В одном из вариантов осуществления гиалуроновая кислота в гидратирующей сыворотке по настоящему описанию питает кожу и доставляет влажность для длительной гидратации. В одном из вариантов осуществления лемонграссовое эфирное масло в гидратирующей сыворотке по настоящему описанию придает противоокислительные и противовоспалительные свойства, поддерживающие омоложение кожи. В одном из вариантов осуществления гидратирующая сыворотка по настоящему описанию обладает pH приблизительно 6,0.

Раствор фрагментов на основе фиброина шелка

Поскольку раствор фрагментов на основе фиброина шелка является как водным, так и способным захватывать и доставлять низкомолекулярные соединения, раствор является способным доставлять как воду, так и гигроскопичные молекулы HA, к коже для гидратации. Диапазон концентраций композиций фрагментов на основе фиброина шелка в растворе от 0,5%-6,0% тестировали по осуществимости и выходу продукта. Обнаружено, что все тестированные концентрации являются осуществимыми.

Гиалуроновая кислота

Гиалуроновую кислоту (гиалуронат натрия) тестировали в качестве ингредиента в гидратирующей сыворотке из-за ее гигроскопических свойств и способности обеспечивать мягкую, гидратированную кожу. Диапазон концентраций гиалуроновой кислоты в растворе 0,5%-10,0% тестировали по осуществимости и выходу продукта. Обнаружено, что все тестированные концентрации, за исключением 10,0%, являются осуществимыми. Осуществимость определяли на основании способности растворения гиалуроновой кислоты.

Витамин С и его производные

Витамин С (L-аскорбиновую кислоту) тестировали в качестве ингредиента в гидратирующей сыворотке. Исходные образцы витамина С становились негомогенной смесью геля и жидкости. В последующем исследовании с использованием витамина С получали гомогенную, белую, непрозрачную, невязкую жидкость, которая не быстро абсорбировалась кожей. В одном из вариантов осуществления производное витамина С, которое быстро не вызывает гелеобразования, такое как аскорбилфосфат натрия, можно добавлять вплоть до концентрации, при которой оно больше не является растворимым (например, от 0% до приблизительно 40%). В одном из вариантов осуществления можно добавлять 20% аскорбилфосфата натрия. Варианты витамина С, которые действительно вызывают гелеобразование (L-аскорбиновую кислоту и аскорбилглюкозид), можно добавлять в высоких концентрациях (например, от более чем приблизительно 10% вплоть до приблизительно 50%), при которых гелеобразование ингибировано.

Способ получения сыворотки

Исходные сыворотки получали посредством добавления НА в раствор фрагментов на основе фиброина шелка с последующим перемешиванием. НА, по-видимому, слипалась и не растворялась без усиленного перемешивания. Затем способ смешивания изменили, так что НА сначала растворяли в воде, а затем немедленно использовали для разведения раствора фрагментов на основе фиброина шелка высокой концентрация (>4%) до желательных концентраций. Полученные сыворотки являлись более гомогенными и обладали желательными гладкостью, прозрачным внешним видом и ощущением. При нанесении на кожу, ненадолго появлялся белый осадок, который можно было втирать. По альтернативному способу составы получали посредством растворения НА в воде и обеспечивали выстаивание в течение 1 суток, пока не наблюдали полного растворения. Затем раствор НА и воды использовали для разведения раствора фрагментов на основе фиброина шелка высокой концентрации до желательных концентраций. Полученная сыворотка являлась прозрачной, гладкой, гомогенной и оставляла при применении от небольшого количества до отсутствия белого осадка.

Пример 14. Гидратирующие сыворотки против УФ по настоящему

описанию

Тестированные переменные включают в себя: концентрацию НА, концентрацию оксида цинка, концентрацию диоксида титана, добавление витамина С и способ получения сыворотки.

Фиг. 94А-94С представляют собой таблицы, обобщающие варианты осуществления косметических сывороток по настоящему описанию с различными добавками и концентрациями компонентов, подходящих для защиты против ультрафиолетового облучения (УФ). В **таблице 33** представлены варианты осуществления гидратирующей сыворотки по настоящему описанию с витамином С.

Таблица 33

Вариант осуществления гидратирующей сыворотки по настоящему описанию с витамином С

% Раствор шелка (кипячение 60 минут, 25 кДа)	1,0% масс./об.
Гиалуроновая кислота (гиалуронат натрия)	0,75% масс./об.
Лемонграссовое масло	20 мкл/15 мл раствор шелка
Аскорбилфосфат натрия	6 г
Молочная кислота	1,2 мл

Сыворотку по настоящему описанию можно получать с от приблизительно 0,25% до приблизительно 10% гиалуроната натрия (увеличение % приводит к более вязкой сыворотке). Растворы шелка от 0,5% до приблизительно 10% можно использовать для получения сыворотки по настоящему описанию. Сыворотка по настоящему описанию может являться прозрачной и обладает цветом желтого оттенка. Сыворотка по настоящему описанию может обладать pH=6. Сыворотка по настоящему описанию может обладать скользкой структурой, так что легко втирается без остатка.

Концентрация НА:

Гиалуроновую кислоту (гиалуронат натрия) тестировали в качестве ингредиента в шелковой сыворотке против УФ из-за ее гигроскопических свойств и широко распространенного использования в косметических продуктах, чтобы способствовать гидратации кожи. Тестировали 1%, 2,5% и 5% растворы НА. С

увеличением % НА, сыворотка становилась более вязкой и гелеобразной. 1% НА являлась неосуществимой для сыворотки против УФ из-за того факта, что добавки против УФ (оксид цинка, диоксид титана) не являются растворимыми в воде, и их необходимо диспергировать. 1% НА не являлась достаточно вязкой для диспергироваия, и добавки против УФ выпадали в осадок. 2,5% придавали наилучшую консистенцию на основании предпочтительных ощущений, текстуры и вязкости, и являлись способными диспергировать добавки против УФ. 5% представляли собой очень густую, вязкую сыворотку.

Концентрация минеральных фильтров: оксид цинка и диоксид титана:

Оксид цинка и диоксид титана исследовали в качестве добавок против УФ, которые считают безопасными. Эти добавки механически защищают от УФ облучения посредством формирования физического отражающего барьера на коже. Оба являются нерастворимыми в воде, и их необходимо диспергировать для рассматриваемого водного раствора. Концентрацию оксида цинка меняли от 2,5%, 3,75%, 5%, 5,625%, 10%, 12% и 15%. Концентрацию диоксида титана меняли от 1,25%, 1,875%, 3%, 5% и 10%. Увеличение концентраций добавок против УФ приводили к незначительному увеличению белого осадка и влияли на то, насколько хорошо диспергировались добавки, однако, при достаточно хорошем смешивании эффектами можно было пренебречь. Оксид цинка и диоксид титана смешивали вместе в сыворотках для достижения широкого спектра защиты. Оксид цинка представляет собой добавку против широкого спектра УФ, способную защищать против длинноволновых и коротковолновых лучей УФ А и УФ В. Однако, диоксид титана является лучшим для защиты против УФ В, и его часто добавляют к оксиду цинка для наилучшей защиты широкого спектра. Комбинации включали в себя 3,75%/1,25% ZnO/TiO_2, 5,625%/1,875% ZnO/TiO_2, 12%/3% ZnO/TiO_2, 15%/5% ZnO/TiO_2. С 3,75%/1,25% ZnO/TiO_2 получали spf 5, и с 5,625%/1,875% ZnO/TiO_2 получали spf 8.

Витамин С:

Аскорбилфосфат натрия использовали в качестве источника витамина С. Получали составы с концентрацией витамина С, равной

концентрации в шелковом геле (0,67%). Получали также составы с 20% аскорбилфосфатом натрия, который является растворимым в воде.

Получение сыворотки:

Витамин С (аскорбилфосфат натрия) необходимо первым растворять в воде. Затем гиалуронат натрия добавляют в воду, интенсивно смешивают и оставляют до полного растворения. Результатом является вязкая жидкость (в зависимости от % НА). Вязкость раствора НА позволяет равномерное диспергирование оксида цинка и диоксида титана и таким образом, НА необходимо смешивать перед добавлением добавок против УФ. Затем оксид цинка и диоксид титана добавляют в раствор и интенсивно смешивают с использованием электрического измельчителя. Затем добавляют раствор шелка и смешивают для завершения составления сыворотки.

Химические фильтры:

Сыворотка против УФ по настоящему описанию может включать в себя один или комбинацию двух или более, из этих активных химических фильтрующих ингредиентов: оксибензон, авобензон, октисалат, октокрилен, гомосалат и октиноксат. Сыворотка против УФ по настоящему описанию может включать комбинацию оксида цинка с химическими фильтрами.

В одном из вариантов осуществления сыворотку против УФ по настоящему описанию можно наносить приблизительно за 15 минут до воздействия солнечных лучей, на всю кожу, открытую для солнечных лучей, и можно наносить повторно по меньшей мере каждые 2 часа. В одном из вариантов осуществления сыворотка против УФ по настоящему описанию содержит воду, оксид цинка, гиалуронат натрия, диоксид титана, шелк и витамин С или производное витамина С, такое как аскорбилфосфат натрия. В одном из вариантов осуществления сыворотка против УФ по настоящему описанию защищает кожу и удерживает влагу с помощью активности белков шелка. В одном из вариантов осуществления сыворотка против УФ по настоящему описанию улучшает оттенок кожи, стимулирует продукцию коллагена и уменьшает внешние проявления морщин и мелких морщин с помощью противоокислительной активности витамина С. В одном из вариантов осуществления сыворотка против

УФ по настоящему описанию доставляет влажность для немедленной и длительной гидратации на всем протяжении суток с помощью концентрированной гиалуроновой кислоты. В одном из вариантов осуществления сыворотка против УФ по настоящему описанию помогает предотвращать солнечный ожог с помощью комбинированного действия оксида цинка и диоксида титана. В одном из вариантов осуществления сыворотка против УФ по настоящему описанию разработана для защиты, гидратации и уменьшения мелких морщин с экранированием в то же время кожи от жестких лучей УФА и УФВ. В одном из вариантов осуществления белок шелка в сыворотке против УФ по настоящему описанию стабилизирует и защищает кожу, удерживая в то же время влажность, без необходимости использовать агрессивных химических консервантов или синтетических добавок. В одном из вариантов осуществления витамин С/производное в сыворотке против УФ по настоящему описанию действует как мощное противоокислительное средство, способствующее омоложению кожи. В одном из вариантов осуществления гиалуронат натрия в сыворотке против УФ по настоящему описанию питает кожу и доставляет влажность для длительной гидратации. В одном из вариантов осуществления оксид цинка и диоксид титана в сыворотке против УФ по настоящему описанию экранирует кожу от опасных лучей УФА и УФВ. Стабилизирующая матрица белков шелка в сыворотке против УФ по настоящему описанию защищает активные ингредиенты от воздуха, для получения их полных преимуществ без использования агрессивных химических веществ или консервантов. Шелковая матрица также удерживает влажность в коже, способствуя гидратирующему эффекту гиалуроната натрия.

Пример 15. Пленки против темных пятен по настоящему описанию

Для уменьшения внешних проявлений темных пятен, высокая концентрация витамина С может являться необходимой для обращения сверхпродукции меланина. В этом примере исследовали 40% витамин С (1,5:1 шелка к витамину С). Размер и форму пленки можно делать соответствующими намеченной области, например, небольшая круглая пленка диаметром 1 дюйм (2,54 см).

Пленку против темных пятен или сходную пленку по настоящему описанию, с различной концентрацией (0-50%) витамина С можно наносить в форме гидропленки. Кожу можно смачивать водой. Затем пленку наносят на влажную область. Затем воду наносят на верхнюю поверхность пленки, чтобы превратить ее в гель. Затем гель можно распределять и осторожно массировать в области нанесения. В **таблице 34** представлены детали варианта осуществления гидропленки по настоящему описанию (без нерастворимого края).

Таблица 34

Вариант осуществления гидропленки по настоящему описанию

% раствора шелка (кипячение 60 минут, 25 кДа)	2,56%
Количество витамина С (l-аскорбиновой кислоты)	Всего 15,62 мг (10 мг в круглой вырубке 1 дюйм)
Объем раствора на форму	2,44 мл
Размер пленки	Круг диаметром 1,25 дюймов (7,917 см^2)

Пленку по настоящему описанию можно изготавливать с различными комбинациями % шелка и объема для получения пленок с количествами шелка от 3 мг/см^2 до 10 мг/см^2. Пленку по настоящему описанию можно получать с от приблизительно 1% до приблизительно 50% l-аскорбиновой кислоты. Пленка по настоящему описанию является растворимой в воде (нерастворимую границу удаляют посредством вырубки центра пленки). Пленки по настоящему описанию могут проявлять адгезию к коже с помощью воды. Пленки по настоящему описанию можно распределять на коже при применении воды. Пленки по настоящему описанию могут высыхать, когда влажность оборудования для сушки составляет 16-40% и ниже влажности в лаборатории. Пленка по настоящему описанию может являться неокрашенной/прозрачной.

В одном из вариантов осуществления пленка против темных пятен по настоящему описанию содержит воду, шелк и витамин С (L-аскорбиновую кислоту). В одном из вариантов осуществления пленка против темных пятен по настоящему описанию содержит 40% витамин С. В одном из вариантов осуществления пленка против темных пятен

по настоящему описанию уменьшает пигментацию кожи и выравнивает оттенок кожи в намеченной области при ежесуточном использовании. Витамин С может ингибировать перенос пигмента от продуцирующих пигмент клеток, называемых меланоцитами, к клеткам поверхности кожи при непрерывном применении. В одном из вариантов осуществления пленку против темных пятен по настоящему описанию можно наносить на чистую, смоченную кожу на 20 минут. В одном из вариантов осуществления дополнительную воду можно наносить на адгезировавшую пленку. Стабилизирующая матрица белков шелка в пленке против темных пятен по настоящему описанию защищает активные ингредиенты от воздуха, для предоставления их полных преимуществ без использования агрессивных химических веществ или консервантов, таких как парабен и фталат. Таким образом, пленка против темных пятен по настоящему описанию является свободной от парабена и фталата. В **таблице 35** представлены детали вариантов осуществления пленки по настоящему описанию.

Таблица 35

Вариант осуществления пленки по настоящему описанию

% раствора шелка (кипячение 60 минут, 25 кДа)	2,2%
Площадь поверхности	5,07 см^2
Объем раствора шелка для заливки	1,56 мл
Масса шелка на пленку:	34 мг
Масса l-аскорбиновой кислоты на пленку:	23 мг
Концентрация l-аскорбиновой кислоты в пленке:	40%
pH	3

От 2,1% раствор шелка по настоящему описанию (0,321 мл/см^2) до 2,4% раствора шелка по настоящему описанию (0,282 мл/см^2) можно использовать для получения пленок против темных пятен по настоящему описанию с 34 мг шелка (6,7 мг/см^2). В одном из вариантов осуществления 2,2% раствор шелка по настоящему описанию (кипячение 60 минут, 25 кДа) используют для получения пленки по настоящему описанию. % шелка и объем раствора можно менять для получения эквивалентных пленок. Пленку против темных пятен по настоящему описанию можно изготавливать с различными комбинациями % шелка и объема для получения пленок с

количествами шелка 3 мг/см^2 до 10 мг/см^2. Пленку против темных пятен по настоящему описанию можно получать с от приблизительно 15 до приблизительно 50% l-аскорбиновой кислоты. Пленка против темных пятен по настоящему описанию является растворимой в воде (с нерастворимой границей). Пленка против темных пятен по настоящему описанию является неокрашенной/прозрачной. Пленка против темных пятен по настоящему описанию обладает pH=3 при применении воды. Пленки по настоящему описанию могут проявлять адгезию к коже с помощью воды. Пленка против темных пятен по настоящему описанию может высыхать, когда влажность оборудования для сушки составляет 16-40% и ниже влажности в лаборатории.

Пример 16. Гели по настоящему описанию с высокой концентрацией Витамина С

Гели с высокой концентрацией витамина С доводили до 20%. Тип витамина С, концентрацию витамина С, % шелка и pH меняли для увеличения количества витамина С в геле.

Фиг. 95A-95C представляют собой таблицы, обобщающие варианты осуществления гелей с высокой концентрацией витамина С по настоящему описанию. Гель с наивысшей концентрацией витамина С представлял собой гель с 15% 2-глюкозидом аскорбиновой кислоты с 3,8% раствора шелка через 12 суток. Во всех составах с 5 и 10% 2-глюкозида аскорбиновой кислоты с 2, 3 и 3,8% шелка происходило гелеобразование. Для каждой группы % витамина С, гелеобразование сначала происходило в 3,8% шелке, затем в 3% и наконец в 2%. Полагают, что существует взаимосвязь между концентрацией витамина С, концентрацией шелка и гелеобразованием. Если раствор содержит слишком много витамина С по отношению к шелку, гелеобразование можно предотвращать. Таким образом, для получения гелей с высокой концентрацией витамина С, необходима более высокая концентрация шелка. Один образец заливали при 5,5% шелка и 20% витамина С, однако гелеобразование не происходило, и более высокий % шелка может являться необходимым. Образцы также доводили до pH 2 с помощью молочной кислоты, чтобы способствовать индукции гелеобразования в 3% растворах шелка с 10 или 20% витамина С, однако гелеобразование не происходило за 12 суток.

Пример 17. Микробиологическое исследование гелей по настоящему описанию

Контаминация косметических средств микроорганизмами может вызывать порчу продукта и, если являются патогенными, микроорганизмы представляют серьезный риск для здоровья потребителей по всему миру. Анализ микробиологической чистоты Фармакопеи Соединенных Штатов (USP) обеспечивает несколько способов для определения общего количества микроорганизмов для бактерий, дрожжей и плесени. Различные гели по настоящему описанию тестировали для оценки возможной контаминации микроорганизмами в трех различных состояниях их использования (интактный, при использовании, конечный продукт). **Фиг. 96** представляет собой таблицу, обобщающую результаты такого тестирования.

Образцы геля и бутылей воды анализировали для определения КОЕ/мл (колониеобразующих единиц на миллилитр) аэробных бактерий, а также дрожжей и плесени. Образцы подвергали воздействию среды для выращивания - триптического соевого агара (TSA) для бактерий и картофельно-декстрозного агара (PDA) для грибов (дрожжей/плесени) при воздействии температуры 23±3°C. Образцы инкубировали при 30,0±2°C в течение 3 суток (бактерии) и 5 суток (грибы). Затем образцы наблюдали для определения колониеобразующих единиц/мл.

Предел детекции для анализов составлял 10 КОЕ/мл или г для бактерий и грибов, и значения <10 указывают, что микроорганизмы невозможно было детектировать в образцах. Значения >1,00E+04 указывают, что колонии микроорганизмов являются слишком многочисленными для подсчета на чашках для разведения.

Пример 18. Шелковые пены и жидкости против УФ по настоящему описанию

В одном из вариантов осуществления производное витамина С аскорбилфосфат натрия (DSM) растворяли в воде. Затем гиалуронат натрия («НА») добавляли в воду, интенсивно смешивали и оставляли до полного растворения. Результатом является вязкая жидкость (в зависимости от % НА). Вязкость раствора НА позволяет равномерное

диспергирование оксида цинка и диоксида титана, и поэтому НА, как правило, смешивают перед добавлением добавок против УФ. Оксид цинка и диоксид титана добавляют в раствор НА и интенсивно перемешивают, например, с использованием электрического измельчителя. Затем добавляют прокипяченный 60 минут (~25 кДа) раствор шелка и перемешивают для получения состава с 1% шелком.

Два состава получали без добавления аскорбилфосфата натрия (образцы «HU2» и «HU4»). Для образца HU2, оксид цинка и диоксид титана добавляли и смешивали посредством измельчения с помощью электрического измельчителя и взбивателя. Результатом являлась вязкая белая жидкость (**фиг. 98** и **Фиг. 99**). Затем добавляли шелк и смешивали с помощью электрического измельчителя и взбивателя. Раствор становился кремообразной пеной, подобной крему для бритья (**фиг. 97** и **фиг. 100**). Витамин Е в форме dl-альфа-токоферилацетата можно добавлять в раствор для восстановления текстуры вязкой жидкости, которую можно наносить, с гладкой однородной текстурой (**фиг. 98**). С увеличением количества dl-альфа-токоферилацетата, состав становится менее похожим на пену и больше на текстуру гладкой жидкости или лосьона.

HU4 разделяли на две партии: **фиг. 99**, партия 2, и **фиг. 100**, партия 1. Для первой партии следовали тому же способу, как для HU2, и она становилась пеной. Для второй партии HU4, аскорбилфосфат натрия добавляли и растворяли перед добавлением любого из цинка, титана или шелка. Затем добавки против УФ добавляли посредством смешивания с помощью электрического измельчителя и взбивателя, и получали стандартную белую вязкую жидкость. Затем добавляли шелк с помощью электрического измельчителя и взбивателя. Результатом являлась немного более густая и вязкая жидкость, чем обычно наблюдали. Без желания быть связанными теорией, по-видимому, добавление аскорбилфосфата натрия ингибирует пеннообразование. Без желания быть связанными теорией, полагают, что взбивание, в отличие от смешивания или измельчения, создает шелковую пену.

Таблица 36

Варианты осуществления шелковых пен и жидкостей против УФ по настоящему описанию

Образец	Общий объем	% шелка	% HA (гиалуроната натрия)	Масса HA (г)	% ZnO	Масса ZnO (г)	% TiO_2	Масса TiO_2 (г)	Аскорбилфосфат натрия (г)
HU2	55	1	2,5	1,375	12	6,6	3	1,65	N/A
HU4, партия 1	27,5	1	3,5	0,9625	12	3,3	3	0,825	5,5
HU4, партия 2	27,5	1	3,5	0,9625	12	3,3	3	0,825	N/A

Пример 19. Лиофилизированные порошки шелка по настоящему описанию

Таблица 37

Варианты осуществления лиофилизированных порошков шелка

Раствор шелка	Обработка	Растворимость
Шелк~60 кДа, 6% шелк, pH=7-8	лиофилизация и нарезка с помощью измельчителя	нет
Шелк ~60 кДа, 6% шелк, pH=10	лиофилизация и нарезка с помощью измельчителя	нет
Шелк ~25 кДа, 6% шелк, pH=7-8	лиофилизация и нарезка с помощью измельчителя	да
Шелк ~25 кДа, 6% шелк, pH=10	лиофилизация и нарезка с помощью измельчителя	да

Вышеописанные растворы шелка трансформировали в порошок шелка посредством лиофилизации для удаления основного объема воды и нарезания на небольшие куски с помощью измельчителя. pH доводили с помощью гидроксида натрия. Низкомолекулярный шелк (~25 кДа) являлся растворимым, в то время как высокомолекулярный шелк (~60 кДа) не являлся.

Лиофилизированный порошок шелка может обеспечивать преимущества для улучшенного контроля хранения в диапазоне от 10

суток до 10 лет в зависимости от условий хранения и перевозки. Лиофилизированный порошок шелка также можно использовать в качестве необработанного ингредиента на фармацевтическом, медицинском, потребительском рынке и рынке электроники. Дополнительно, лиофилизированный порошок шелка можно ресуспендировать в воде, HFIP или органическом растворе после хранения для получения растворов шелка различных концентраций, включая растворы более высокой концентрации, чем полученные первоначально.

В одном из вариантов осуществления водные растворы белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка по настоящему описанию, содержащие 1%, 3% и 5% шелка по массе, каждый помещали в 1,8 л поддон Lyoguard, соответственно. Все 3 поддона помещали в лиофилизатор 12 фут^2 (1,1 м^2), и проводили однократный цикл. Продукт замораживали при температуре шкафа ≤ -40°C и выдерживали в течение 2 часов. Затем композиции лиофилизировали при температуре шкафа -20°C, с линейным изменением температуры за 3 час и выдержкой в течение 20 часов, и затем сушили при температуре 30°C, с линейным изменением температуры за 5 час и выдержкой в течение приблизительно 34 часов. Поддоны вынимали и хранили в условиях окружающей среды до дальнейшей переработки. Каждая из полученных лиофилизированных композиций фрагментов шелка являлась способной к растворению в водном растворителе и органическом растворителе для восстановления растворов фрагментов шелка между 0,1% масс. и 8% масс. Нагревание и перемешивание не являлись необходимыми, но их использовали для повышения скорости растворения. Все растворы являлись стабильными при хранении в условиях окружающей среды.

В одном из вариантов осуществления водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка по настоящему описанию, изготовленный с использованием способа по настоящему описанию с кипячением в течение 30 минут, обладает молекулярной массой приблизительно 57 кДа, полидисперсностью приблизительно 1,6, количеством неорганических и органических остатков менее 500 м.д., и светлым янтарным цветом.

В одном из вариантов осуществления водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка по настоящему описанию, изготовленный с использованием способа по настоящему описанию с кипячением в течение 60 минут, обладает молекулярной массой приблизительно 25 кДа, полидисперсностью приблизительно 2,4, количеством неорганических и органических остатков менее 500 м.д., и светлым янтарным цветом.

Способ получения водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, обладающего средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от приблизительно от 6 кДа до приблизительно 16 кДа включает в себя стадии: дегуммирования источника шелка посредством помещения источника шелка в кипящий (100°C) водный раствор карбоната натрия на время обработки между приблизительно 30 минут и приблизительно 60 минут; удаления серицина из раствора для получения экстракта фиброина шелка, содержащего не поддающиеся детекции уровни серицина; дренирования раствора из экстракта фиброина шелка; растворения экстракта фиброина шелка в растворе бромида лития, обладающего исходной температурой при помещении экстракта фиброина шелка в раствор бромида лития, лежащей в диапазоне от приблизительно 60°C до приблизительно 140°C; поддержания раствора фиброина шелка-бромида лития в печи, обладающей температурой приблизительно 140°C, в течение периода по меньшей мере 1 час; удаления бромида лития из экстракта фиброина шелка; и получения водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, где водный раствор содержит: фрагменты, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 6 кДа до приблизительно 16 кДа, и где водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка обладает полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0. Способ может дополнительно включать в себя сушку экстракта фиброина шелка перед стадией растворения. Водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка может содержать менее 300 м.д. остатков бромида лития, как измеряли с использованием анализа высокоэффективной жидкостной

хроматографии бромида лития. Водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка может содержать менее 100 м.д. остатков карбоната натрия, как измеряли с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии карбоната натрия. Способ может дополнительно включать в себя добавление терапевтического средства к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Способ может дополнительно включать в себя добавление молекулы, выбранной из одного из противоокислительного средства или фермента, к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Способ может дополнительно включать в себя добавление витамина к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Витамин может представлять собой витамин С или его производное. Водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка может являться лиофилизированным. Способ может дополнительно включать в себя добавление альфа-гидроксикслоты к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Альфа-гидроксикслота может быть выбрана из группы, состоящей из гликолевой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты и лимонной кислоты. Способ может дополнительно включать в себя добавление гиалуроновой кислоты или ее формы соли в концентрации от приблизительно 0,5% до приблизительно 10,0% к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Способ может дополнительно включать в себя добавление по меньшей мере одного из оксида цинка или диоксида титана. Пленку можно изготавливать из водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, полученных этим способом. Пленка может содержать от приблизительно 1,0% масс. до приблизительно 50,0% масс. витамина С или его производного. Пленка может обладать содержанием воды в диапазоне от приблизительно 2,0% масс. до приблизительно 20,0% масс. Пленка может содержать от приблизительно 30,0% масс. до приблизительно 99,5% масс. белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Гель можно изготавливать из водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, полученного этим способом. Гель может содержать от приблизительно 0,5% масс. до

приблизительно 20,0% масс. витамина С или его производного. Гель может обладать содержанием шелка по меньшей мере 2% и содержанием витамина по меньшей мере 20%.

Способ получения водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, обладающего средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 17 кДа до приблизительно 38 кДа, включает в себя стадии: помещения источника шелка в кипящий (100°С) водный раствор карбоната натрия на время обработки между приблизительно 30 минутами и приблизительно 60 минутами, что приводит в результате к дегуммированию; удаления серицина из раствора для получения экстракта фиброина шелка, содержащего не поддающиеся детекции уровни серицина; дренирования раствора из экстракта фиброина шелка; растворения экстракта фиброина шелка в растворе бромида лития, обладающего исходной температурой при помещении экстракта фиброина шелка в раствор бромида лития, лежащей в диапазоне от приблизительно 80°С до приблизительно 140°С; поддержания раствора фиброина шелка-бромида лития в сухой печи, обладающей температурой в диапазоне между приблизительно 60°С и приблизительно 100°С в течение периода по меньшей мере 1 час; удаления бромида лития из экстракта фиброина шелка; и получения водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, где водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка содержит между приблизительно 10 м.д. и приблизительно 300 м.д. остатков бромида лития, где водный раствор белковых фрагментов шелка содержит между приблизительно 10 м.д. и приблизительно 100 м.д. остатков карбоната натрия, где водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка содержит фрагменты, обладающие средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 17 кДа до приблизительно 38 кДа, и где водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка обладает полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0. Способ может дополнительно включать в себя сушку экстракта фиброина шелка перед стадией растворения. Водный раствор белковых фрагментов на

основе чистого фиброина шелка может содержать менее 300 м.д. остатков бромида лития, как измеряли с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии бромида лития. Водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка может содержать менее 100 м.д. остатков карбоната натрия, как измеряли с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии карбоната натрия. Способ может дополнительно включать в себя добавления терапевтического средства к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Способ может дополнительно включать в себя добавление молекулы, выбранной из одного из противоокислительного средства или фермента, к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Способ может дополнительно включать в себя добавление витамина к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Витамин может представлять собой витамин С или его производное. Водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка может являться лиофилизированным. Способ может дополнительно включать в себя добавление альфа-гидроксикслоты к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Альфа-гидроксикслота может быть выбрана из группы, состоящей из гликолевой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты и лимонной кислоты. Способ может дополнительно включать в себя добавление гиалуроновой кислоты или ее формы соли в концентрации от приблизительно 0,5% до приблизительно 10,0% к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Способ может дополнительно включать в себя добавление по меньшей мере одного из оксида цинка или диоксида титана. Пленку можно изготавливать из водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, полученного этим способом. Пленка может содержать от приблизительно 1,0% масс. до приблизительно 50,0% масс. витамина С или его производного. Пленка может обладать содержанием воды в диапазоне от приблизительно 2,0% масс. до приблизительно 20,0% масс. Пленка может содержать от приблизительно 30,0% масс. до приблизительно 99,5% масс. белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Гель можно

изготавливать из водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, полученного этим способом. Гель может содержать от приблизительно 0,5% масс. до приблизительно 20,0% масс. витамина С или его производного. Гель может обладать содержанием шелка по меньшей мере 2% и содержанием витамина по меньшей мере 20%.

В соответствии с аспектами, проиллюстрированными в настоящем документе, описан способ получения водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, обладающего средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 39 кДа до приблизительно 80 кДа, где способ включает в себя стадии: помещения источника шелка в кипящий (100°С) водный раствор карбоната натрия на время обработки приблизительно 30 минут, что приводит к дегуммированию; удаления серицина из раствора для получения экстракта фиброина шелка, содержащего не поддающиеся детекции уровни серицина; дренирования раствора из экстракта фиброина шелка; растворения экстракта фиброина шелка в растворе бромида лития, обладающего исходной температурой при помещении экстракта фиброина шелка в раствор бромида лития, лежащей в диапазоне от приблизительно 80°С до приблизительно 140°С; поддержания раствора фиброин шелка-бромида лития в сухой печи, обладающей температурой, лежащей в диапазоне между от приблизительно 60°С до приблизительно 100°С на период по меньшей мере 1 час; удаления бромида лития из экстракта фиброина шелка; и получения водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка содержит между приблизительно 10 м.д. и приблизительно 300 м.д. остатков бромида лития, между приблизительно 10 м.д. и приблизительно 100 м.д. остатков карбоната натрия, где фрагменты обладают средней средневзвешенной молекулярной массой в диапазоне от приблизительно 40 кДа до приблизительно 65 кДа, и где водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка обладает полидисперсностью между приблизительно 1,5 и приблизительно 3,0. Способ может дополнительно включать в

себя сушку экстракта фиброина шелка перед стадией растворения. Водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка может содержать менее 300 м.д. остатков бромида лития, как измеряли с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии бромида лития. Водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка может содержать менее 100 м.д. остатков карбоната натрия, как измеряли с использованием анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии карбоната натрия. Способ может дополнительно включать в себя добавление терапевтического средства к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Способ может дополнительно включать в себя добавление молекулы, выбранной из одного из противоокислительного средства или фермента, к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Способ может дополнительно включать в себя добавление витамина к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Витамин может представлять собой витамин С или его производное. Водный раствор белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка может являться лиофилизированным. Способ может дополнительно включать в себя добавление альфа-гидроксикслоты к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Альфа-гидроксикслота может быть выбрана из группы, состоящей из гликолевой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты и лимонной кислоты. Способ может дополнительно включать в себя добавление гиалуроновой кислоты или ее формы соли в концентрации от приблизительно 0,5% до приблизительно 10,0% к водному раствору белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Способ может дополнительно включать в себя добавления по меньшей мере одного из оксида цинка или диоксида титана. Пленку можно изготавливать из водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, полученного этим способом. Пленка может содержать от приблизительно 1,0% масс. до приблизительно 50,0% масс. витамина С или его производного. Пленка может обладать содержанием воды в диапазоне от приблизительно 2,0% масс. до приблизительно 20,0% масс. Пленка может содержать от приблизительно 30,0% масс. до приблизительно

99,5% масс. белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка. Гель можно изготавливать из водного раствора белковых фрагментов на основе чистого фиброина шелка, полученного этим способа. Гель может содержать от приблизительно 0,5% масс. до приблизительно 20,0% масс. витамина С или его производного. Гель может обладать содержанием шелка по меньшей мере 2% и содержанием витамина по меньшей мере 20%.

Полное содержание всех патентов, патентных заявок и опубликованных ссылок, процитированных в настоящем документе, включено, таким образом, в качестве ссылки. В то время как способы по настоящему описанию описаны в связи с конкретными вариантами его осуществления, следует понимать, что возможна их дополнительная модификация. Кроме того, эта заявка предназначена, чтобы включать любые варианты, применения или адаптации способов по настоящему описанию, включая такие отклонения от настоящего описания, которые входят в известную или общепринятую практику в области, к которой относятся способы по настоящему описанию.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая белковые фрагменты на основе фиброина шелка, которые являются в основном свободными от серицина, где белковые фрагменты на основе фиброина обладают средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от 5 кДа - 200 кДа, где белковые фрагменты на основе фиброина обладают полидисперсностью от 1 до 5.0, где композиция по существу гомогенная, где композиция включает от 0 м.д. до 500 м.д. неорганических остатков, и композиция включает от 0 м.д. до 500 м.д. органических остатков.

2. Композиция по п. 1, где неорганические остатки включают в себя бромид лития, и где органические остатки включают в себя карбонат натрия.

3. Композиция по п. 1, содержащая между 10 м.д. и 300 м.д. остатков бромида лития, и между 10 м.д. и 100 м.д. остатков карбоната натрия.

4. Композиция по п. 1, дополнительно содержащая менее чем 10% воды.

5. Композиция по п. 1, где белковые фрагменты на основе фиброина шелка составляют от приблизительно 0,1% масс. до приблизительно 30,0% масс.

6. Композиция по п. 1, где композиция находится в форме лиофилизированной формы или структуры.

7. Композиция по п. 1, где композиция находится в форме раствора.

8. Композиция по п. 7, где белковые фрагменты на основе фиброина шелка являются стабильными в растворе.

9. Композиция по п. 1, дополнительно содержащая одну или несколько молекул, выбранных из группы, состоящей из терапевтических средств, факторов роста, противоокислительных средств, белков, витаминов, углеводов, полимеров, нуклеиновых кислот, солей, кислот, оснований, биомолекул, гликозаминогликанов, полисахаридов, молекул внеклеточного матрикса, металлов, ионов

металла, оксидов металла, синтетических молекул, полиангидридов, клеток, жирных кислот, ароматизаторов, минералов, растений, экстрактов растений, консервантов и эфирных масел.

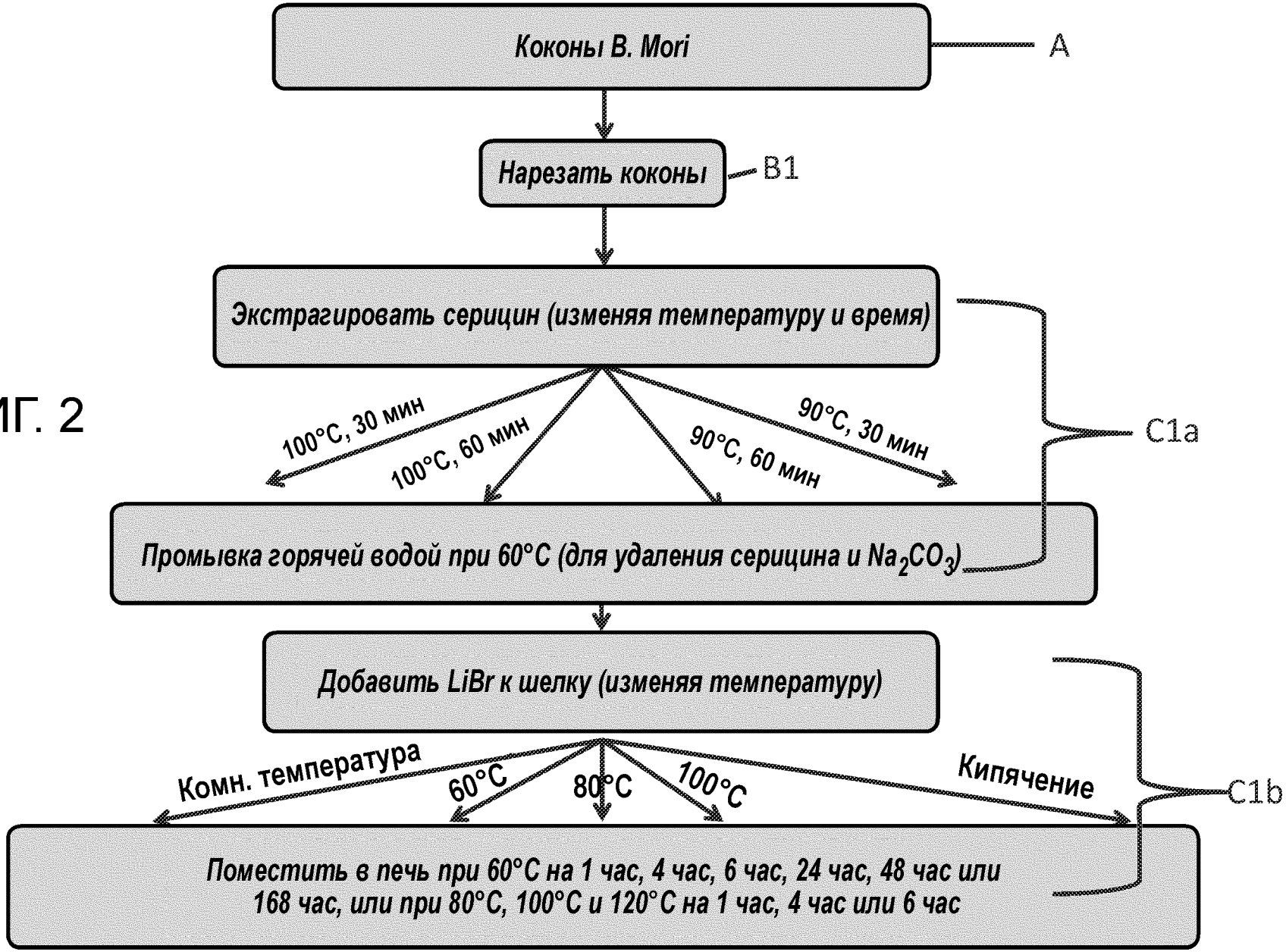
10. Композиция по п. 1, где белковые фрагменты на основе фиброина шелка обладают средней среднемассовой молекулярной массой в диапазоне от 6 кДа - 16 кДа или от 17 кДа до 38 кДа, или от 39 кДа до 80 кДа.

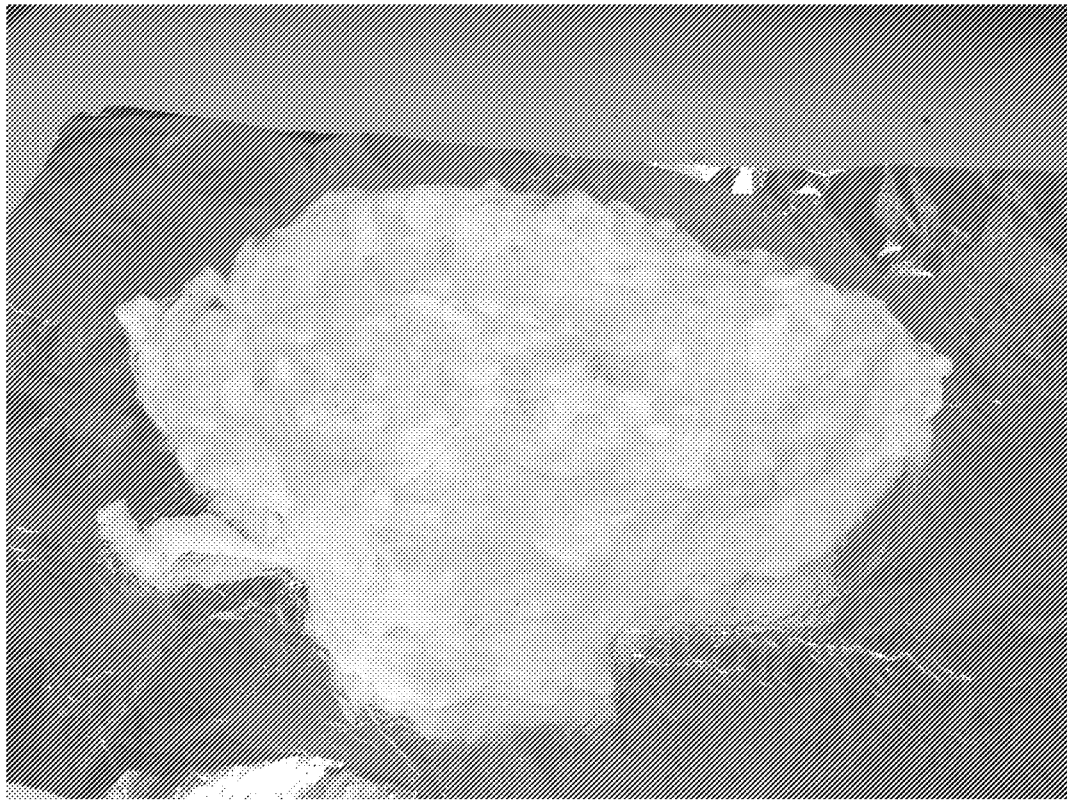
По доверенности

Начать с источника шелка, например, коконов B. Mori
A
Нарезать коконы B. Mori
B1
Экстрагировать серицин (время и температура) с помощью промывки горячей водой (для удаления серицина и Na2CO3)
C1a
Растворить шелк в LiBr (постоянная температура и всплытие с течением времени, диапазон температуры и времени)
C1b
Растворить цельные коконы в LiBr (диапазон температуры и времени)
B2
Использовать колонку для удаления серицина (адсорбционную, pH, ионную)
C2
Предварительно отфильтровать дебрис и растворить (в LiBr или H2O) (в любом порядке)
D
Диализ (менять порог отсечения MW, трубку, кассету)
E1
TFF (менять порог отсечения MW, рабочие параметры)
E2
Развести или концентрировать раствор с помощью TFF или испарителя
F

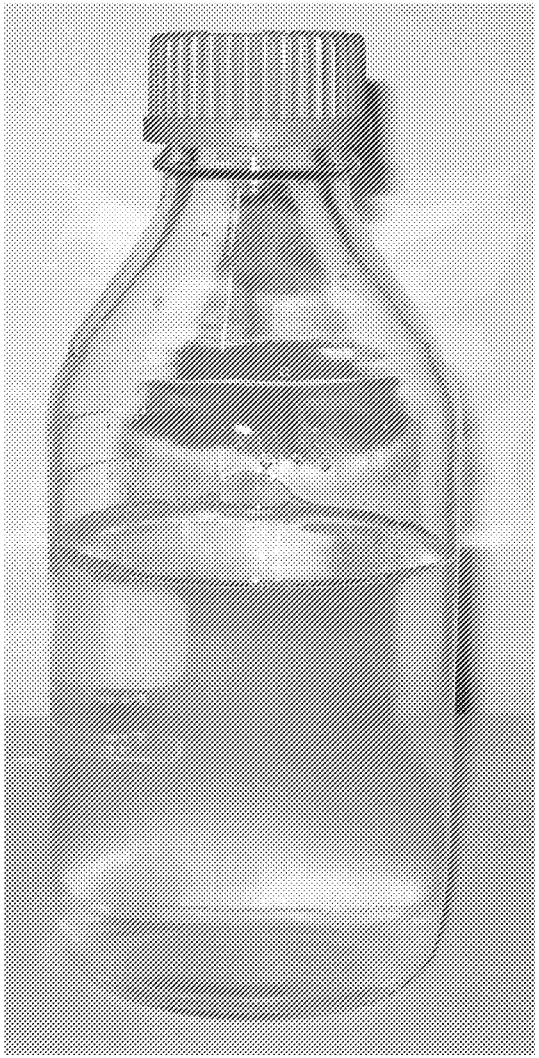
ФИГ.1

ФИГ. 2


Коконы B. Mori
A
Нарезать коконы
B1
Экстрагировать серицин (изменяя температуру и время)
100°C, 30 мин
100°C, 60 мин
90°C, 60 мин
90°C, 30 мин
C1a
Промывка горячей водой при 60°C (для удаления серицина и Na_2CO_3)
Добавить LiBr к шелку (изменяя температуру)
Комн. температура
60°C
80°C
100°C
Кипячение
C1b
Поместить в печь при 60°C на 1 час, 4 час, 6 час, 24 час, 48 час или 168 час, или при 80°C, 100°C и 120°C на 1 час, 4 час или 6 час



ФИГ. 3



ФИГ. 4

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
4 часа	Некоторое количество нерастворенного шелка	Некоторое количество нерастворенного шелка	Значительное количество нерастворенного шелка	Значительное количество нерастворенного шелка

ФИГ. 5A ФИГ. 5B ФИГ. 5C ФИГ. 5D

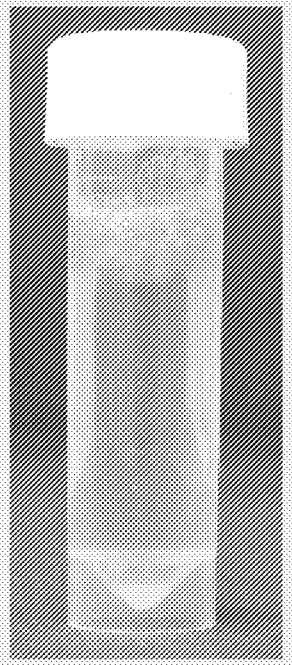
Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
6 часов	Некоторое количество нерастворенного шелка	Небольшое количество нерастворенного шелка	Значительное количество нерастворенного шелка	Некоторое количество нерастворенного шелка

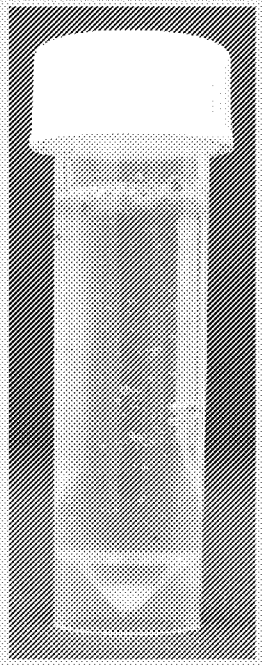
ФИГ. 6A ФИГ. 6B ФИГ. 6C ФИГ. 6D

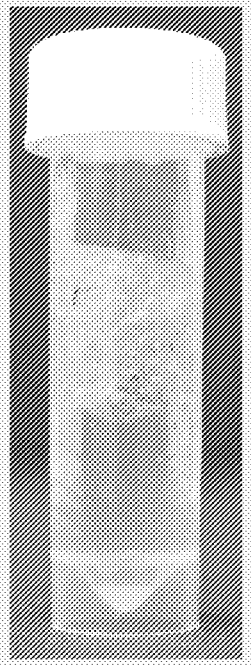
Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
8 часов	Небольшое количество нерастворенного шелка	От небольшого количества до отсутствия нерастворенного шелка	Значительное количество нерастворенного шелка	Некоторое количество нерастворенного шелка

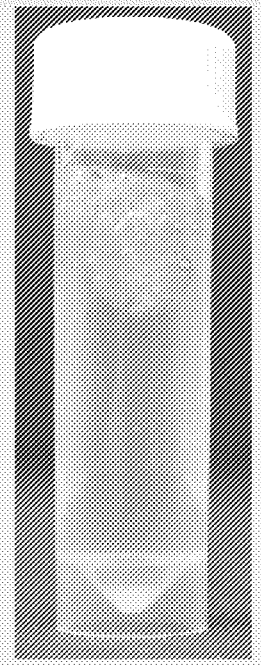
ФИГ. 7A ФИГ. 7B ФИГ. 7C ФИГ. 7D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
12 часов	Небольшое количество нерастворенного шелка	От небольшого количества до отсутствия нерастворенного шелка	Некоторое количество нерастворенного шелка	Весь шелк растворен, за исключением небольшого количества

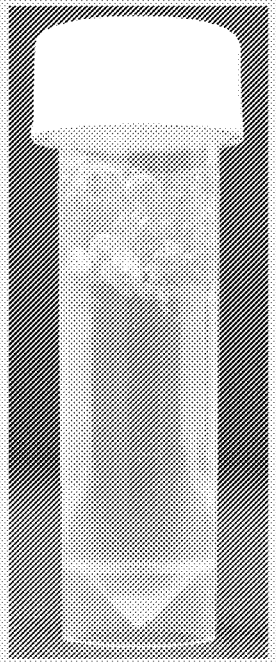
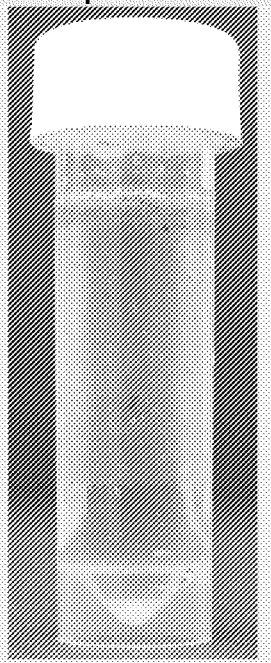
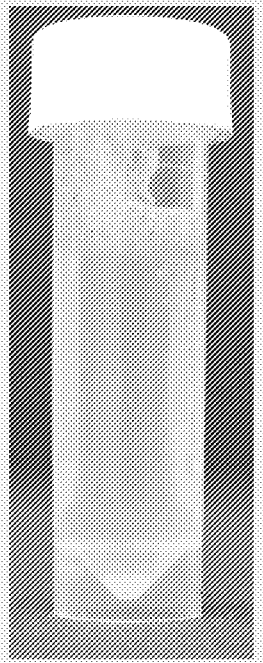
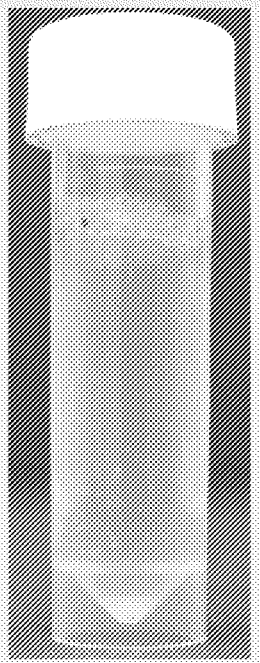






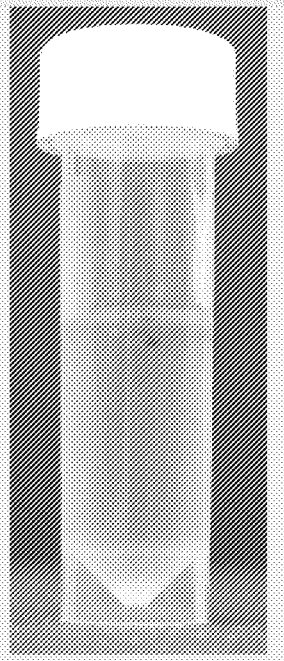


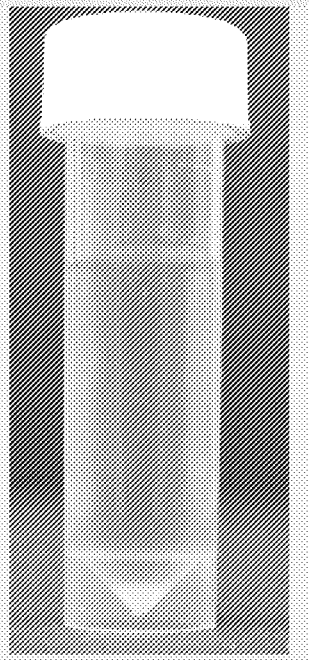
ФИГ. 8A ФИГ. 8B ФИГ. 8C ФИГ. 8D

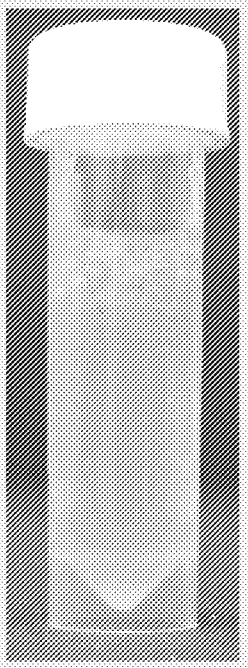
Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
24 часа	Небольшое количество нерастворенного шелка 	От небольшого количества до отсутствия нерастворенного шелка 	Некоторое количество нерастворенного шелка 	Весь шелк растворен, за исключением небольшого количества 

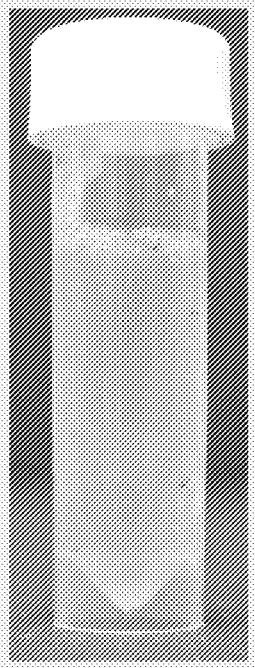
ФИГ. 9A ФИГ. 9B ФИГ. 9C ФИГ. 9D

Временная точка	1 Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	2 Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	3 Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	4 Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
168 часов (1 и 2) 192 часа (3 и 4)	Отсутствие нерастворенного шелка, только небольшое помутнение	Отсутствие нерастворенного шелка, полностью прозрачный	Некоторое количество нерастворенного шелка	Небольшое количество нерастворенного шелка

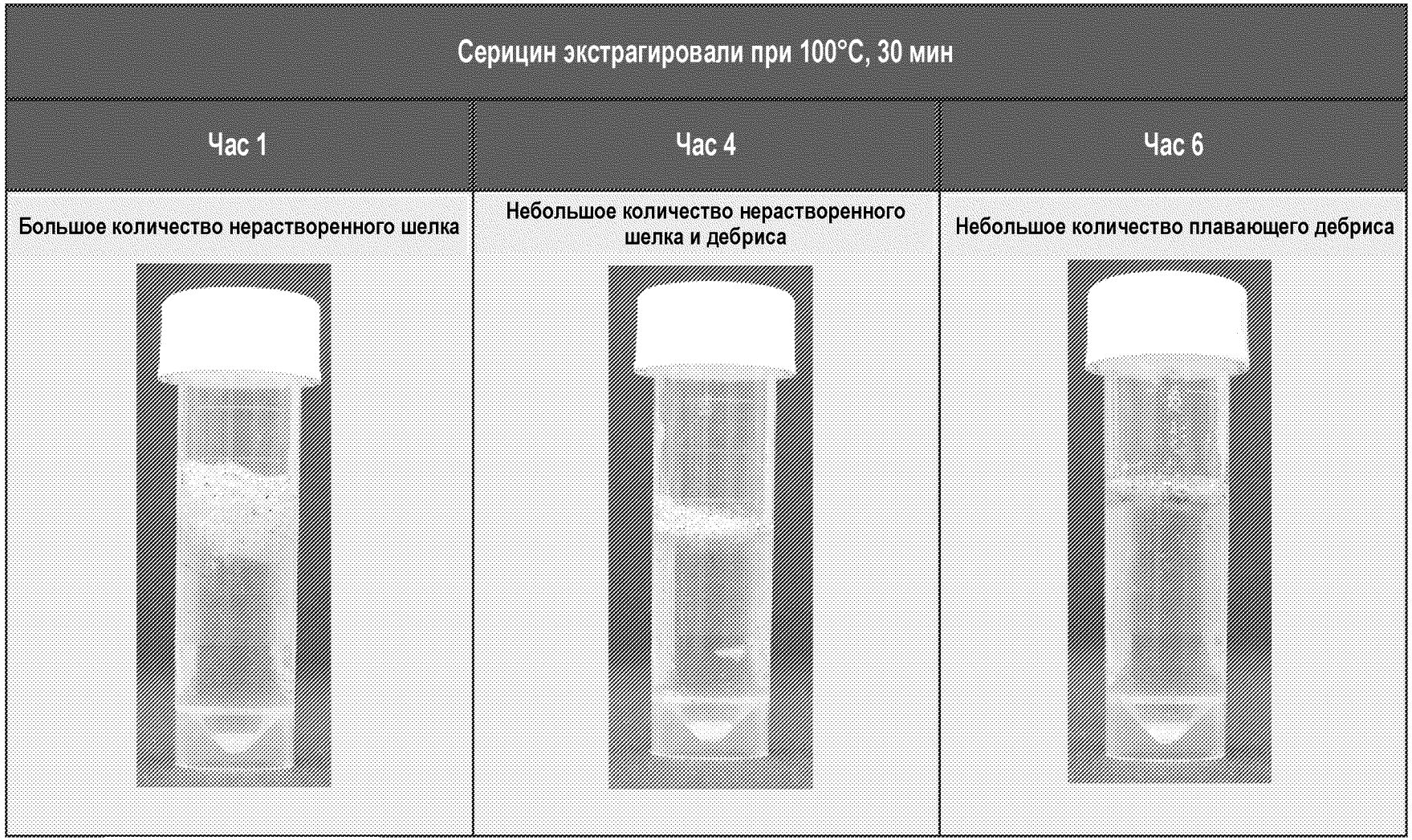




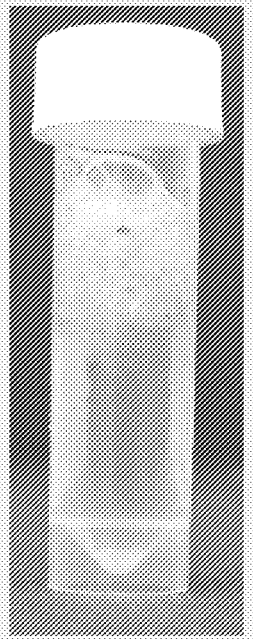
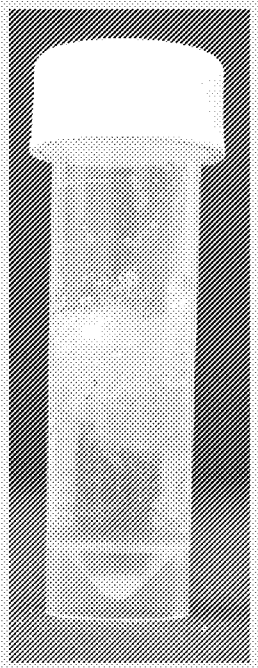
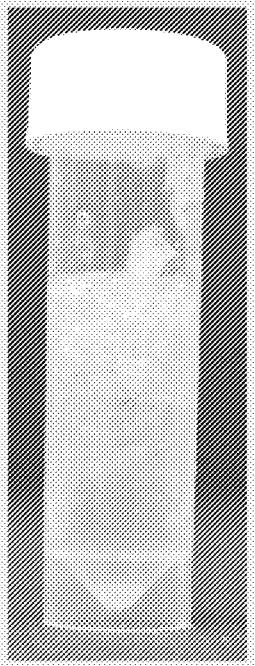
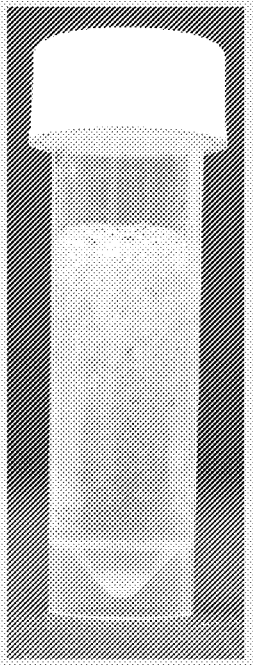




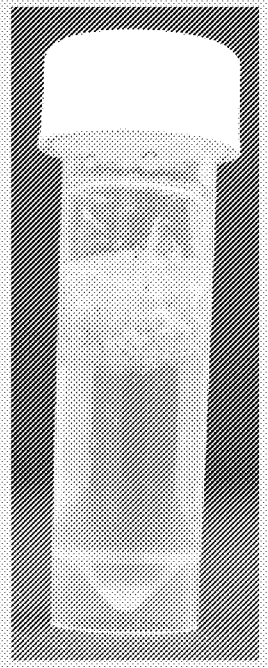
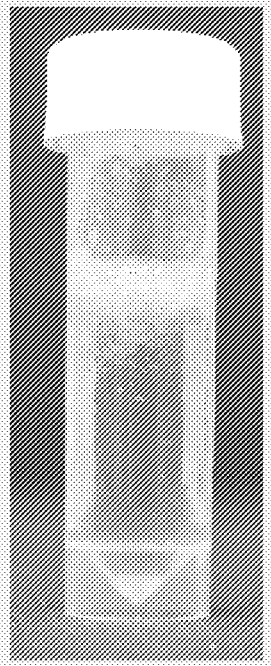
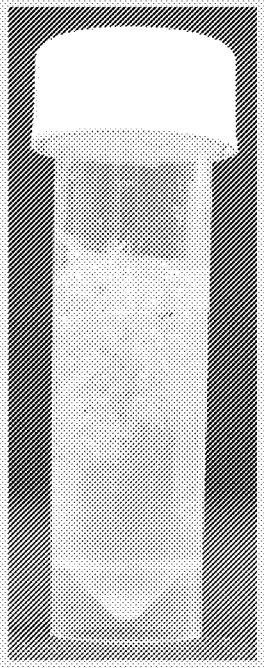
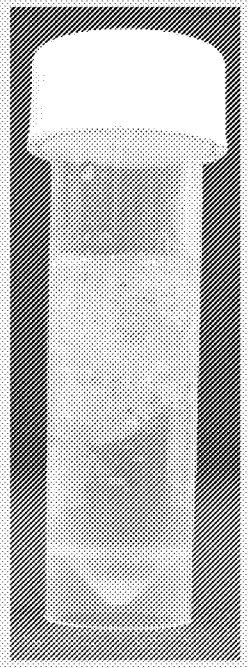
ФИГ. 10A ФИГ. 10B ФИГ. 10C ФИГ. 10D



ФИГ. 11A ФИГ. 11B ФИГ. 11C

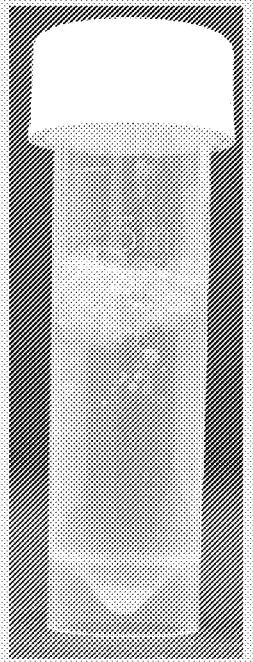
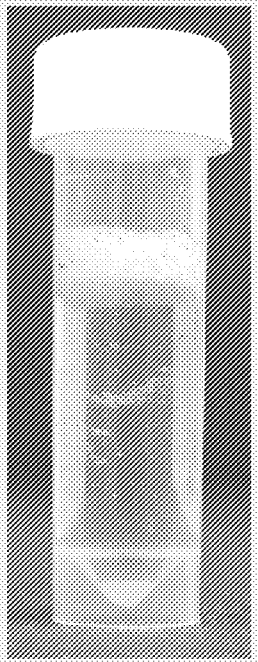
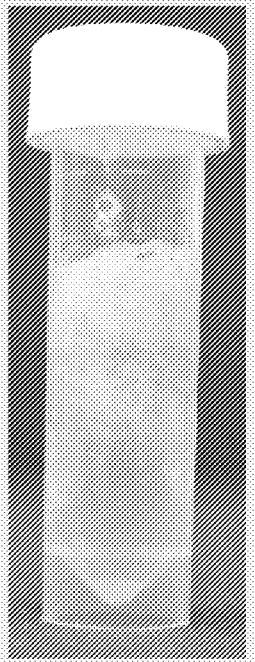
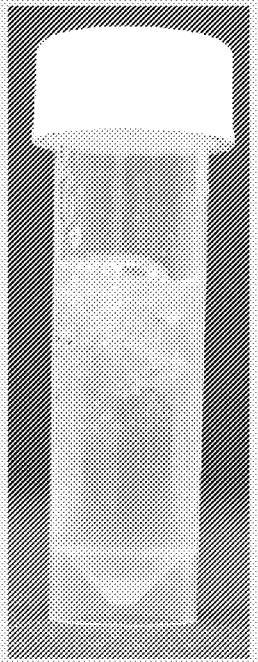
Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
1 час	Значительное количество нерастворенного шелка 	Значительное количество нерастворенного шелка и дебриса 	Значительное количество нерастворенного шелка, высокая вязкость 	Значительное количество нерастворенного шелка 

ФИГ. 12A ФИГ. 12B ФИГ. 12C ФИГ. 12D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
4 часа	Некоторое количество нерастворенного шелка 	Некоторое количество нерастворенного шелка 	Значительное количество нерастворенного шелка, высокая вязкость 	Некоторое количество нерастворенного шелка 

ФИГ. 13A ФИГ. 13B ФИГ. 13C ФИГ. 13D

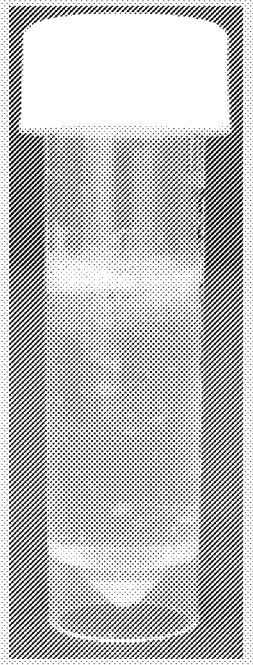
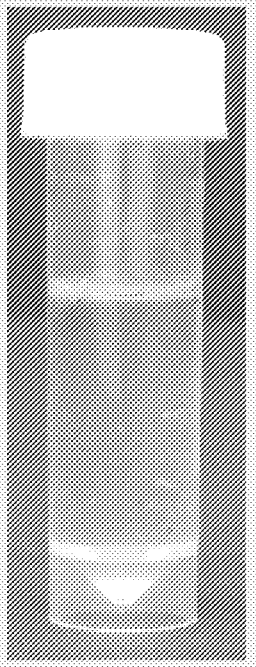
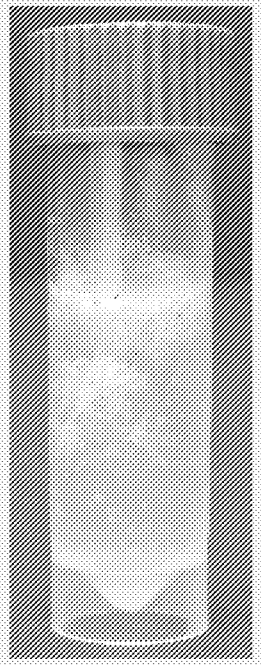
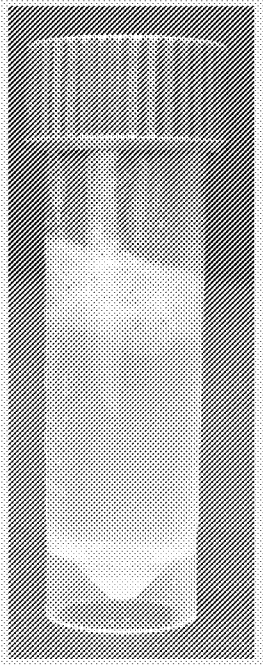
ФИГ. 14

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
6 часов	Небольшое количество нерастворенного шелка 	Небольшое количество нерастворенного шелка 	Некоторое количество нерастворенного шелка 	Некоторое количество нерастворенного шелка 

ФИГ. 14A ФИГ. 14B ФИГ. 14C ФИГ. 14D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
1 час	Очень небольшое количество нерастворенного шелка, довольно вязкий, преципитат сформирован из-за пузырей	Менее вязкий, чем партия 1, отсутствие нерастворенного шелка	Высокая вязкость, некоторое количество нерастворенного шелка	Менее вязкий, чем партия 3, некоторое количество нерастворенного шелка

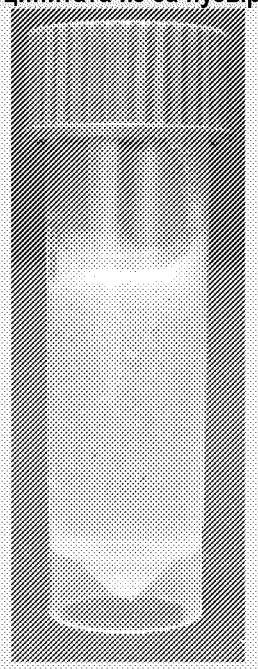
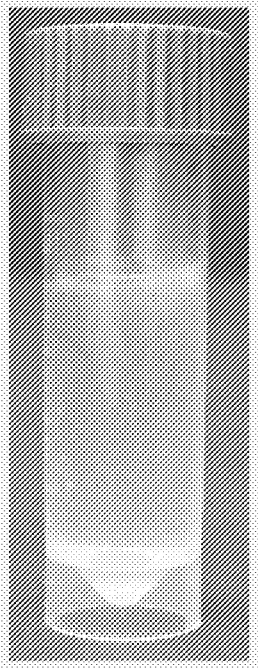
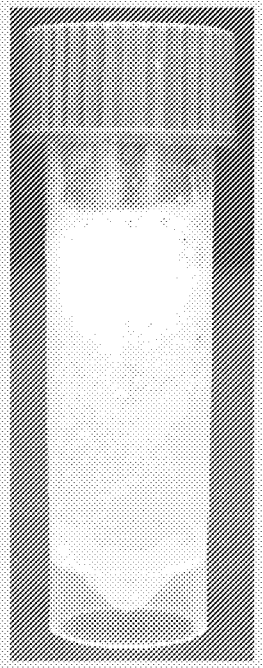
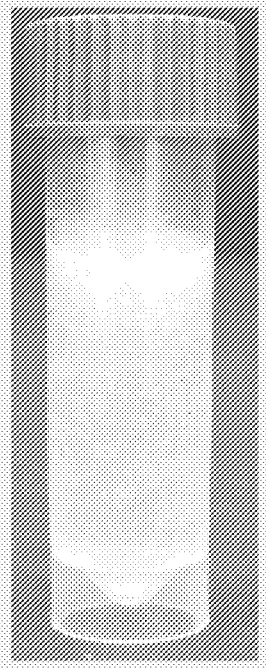
ФИГ. 15A ФИГ. 15B ФИГ. 15C ФИГ. 15D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
4 часа	Необычайно небольшое количество нерастворенного шелка 	Отсутствие нерастворенного шелка 	Высокая вязкость, некоторое количество нерастворенного шелка 	Некоторое количество нерастворенного шелка 

ФИГ. 16A ФИГ. 16B ФИГ. 16C ФИГ. 16D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
6 часов	Необычайно небольшое количество нерастворенного шелка	Отсутствие нерастворенного шелка	Высокая вязкость, некоторое количество нерастворенного шелка	Почти отсутствует нерастворенный шелк

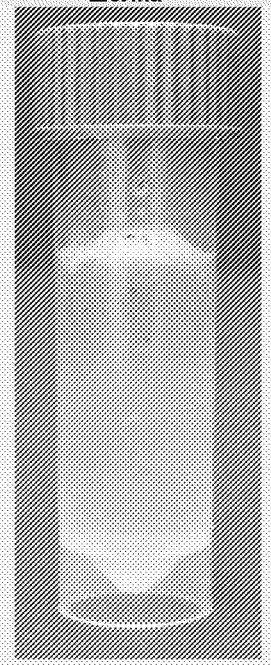
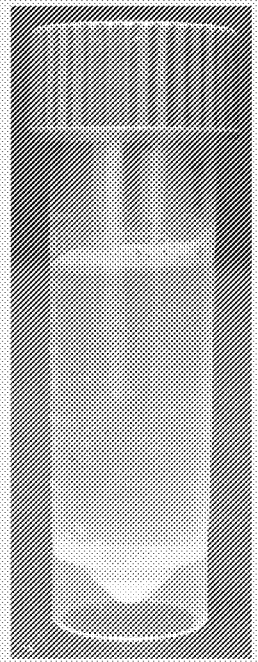
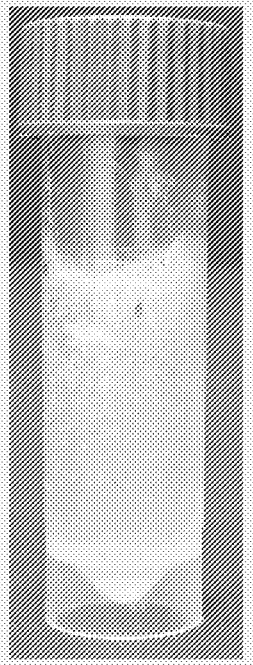
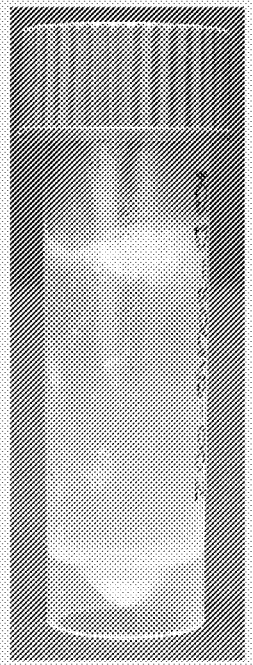
ФИГ. 17A ФИГ. 17B ФИГ. 17C ФИГ. 17D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
1 час	Небольшое количество нерастворенного шелка, некоторое количество преципитата из-за пузырей 	Весь шелк растворен, некоторое количество преципитата из-за пузырей 	Некоторое количество преципитата из-за пузырей и нерастворенного шелка 	Некоторое количество преципитата из-за пузырей и нерастворенного шелка 

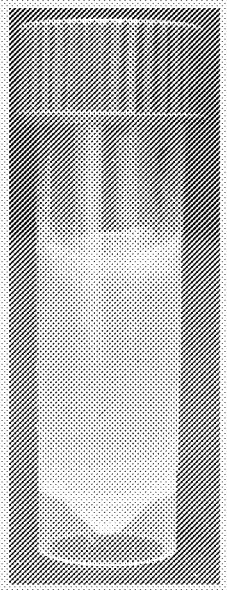
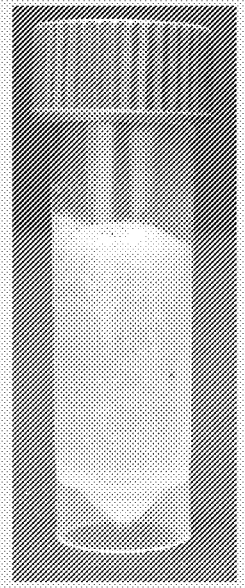
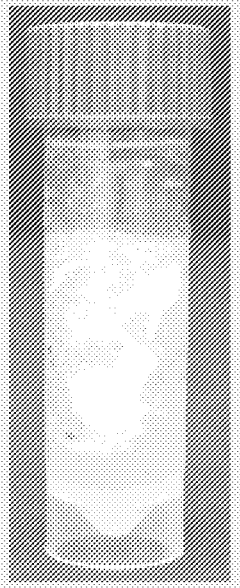
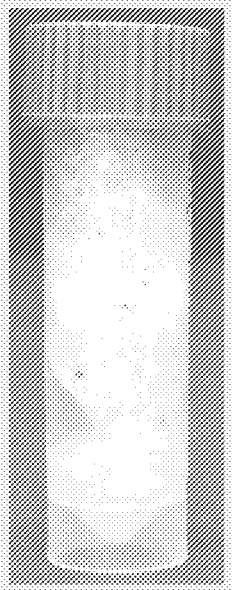
ФИГ. 18A ФИГ. 18B ФИГ. 18C ФИГ. 18D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
4 часа	Весь шелк растворен, некоторое количество преципитата из-за пузырей	Полностью прозрачный, без преципитата	Некоторое количество нерастворенного шелка	Некоторое количество преципитата из-за пузырей, в основном прозрачный раствор

ФИГ. 19A ФИГ. 19B ФИГ. 19C ФИГ. 19D

Time Point	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
6 часов	Некоторое количество преципитата из-за пузырей, отсутствие нерастворенного шелка 	Прозрачный, отсутствие преципитата или шелка 	Некоторое количество нерастворенного шелка 	Прозрачный и отсутствие нерастворенного шелка 

ФИГ. 20A ФИГ. 20B ФИГ. 20C ФИГ. 20D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
1 час	Большая часть шелка растворена, некоторое количество преципитата из-за пузырей 	Большая часть шелка растворена, некоторое небольшое количество преципитата из-за пузырей 	Некоторое количество преципитата из-за пузырей и значительное количество нерастворенного шелка 	Значительное количество нерастворенного шелка 

ФИГ. 21A ФИГ. 21B ФИГ. 21C ФИГ. 21D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
4 часа	Полностью прозрачный, отсутствие шелка или преципитата	Некоторое количество преципитата из-за пузырей	С помутнениями, с некоторым количеством нерастворенного шелка	Очень вязкий, с некоторым количеством нерастворенного шелка

ФИГ. 22A ФИГ. 22B ФИГ. 22C ФИГ. 22D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
6 часов	С небольшими помутнениями, с частицами шелка сверху	С помутнениями и некоторым количеством преципитата из-за пузырей	Высокая вязкость, с помутнениями, почти твердый	Высокая вязкость, с помутнениями, почти твердый

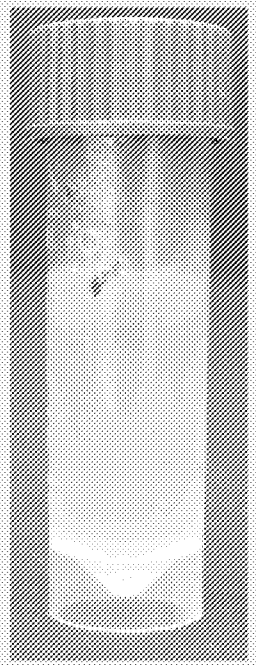
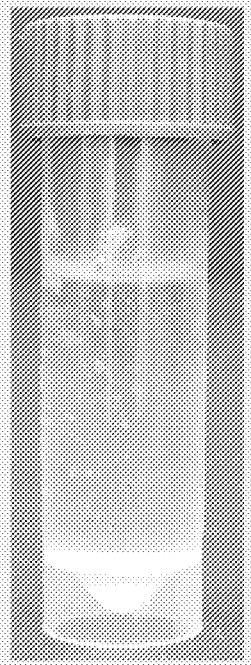
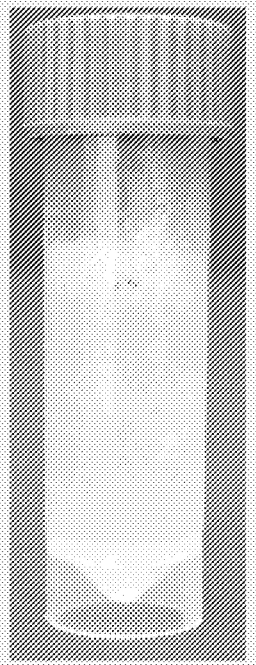
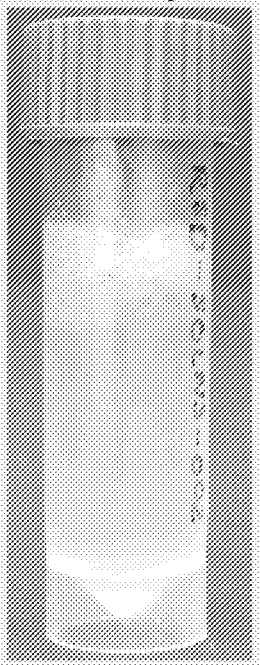
ФИГ. 23A ФИГ. 23B ФИГ. 23C ФИГ. 23D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
1 час	Некоторое количество нерастворенного шелка, вязкость немного выше, чем у партии 2	Вязкость, сходная с водой, почти весь шелк полностью растворен, и отсутствие преципитата, прозрачный оранжевый/желтый	Высокая вязкость, некоторое количество нерастворенного шелка и пузырей	Некоторое количество нерастворенного шелка, но не слишком вязкий

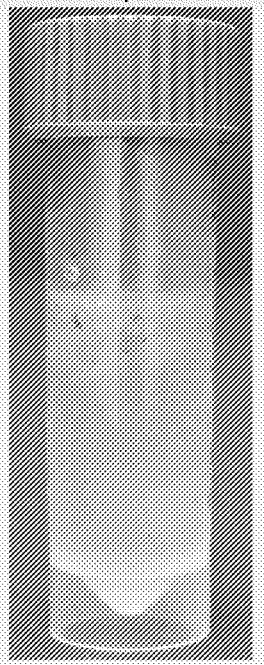
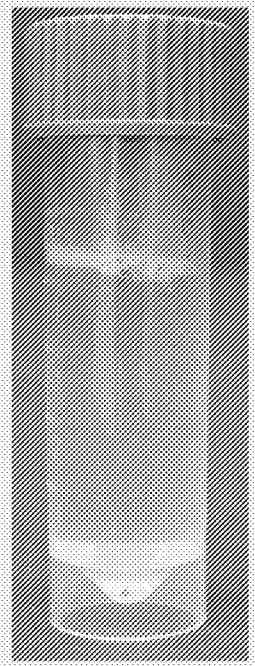
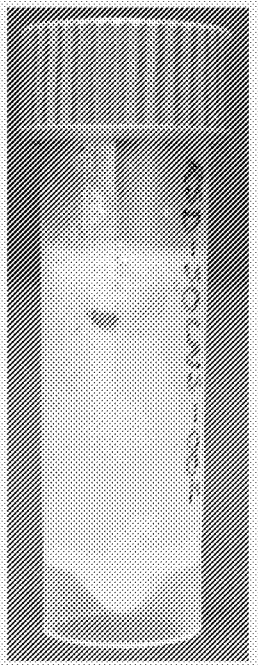
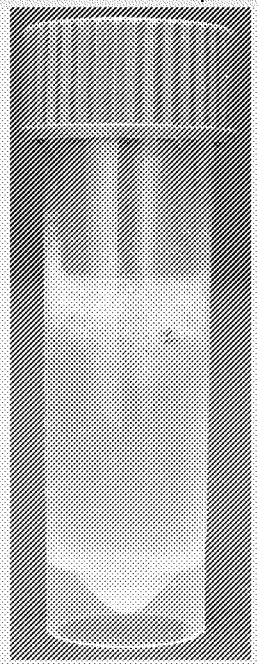
ФИГ. 24A ФИГ. 24B ФИГ. 24C ФИГ. 24D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
4 часа	Некоторое количество нерастворенного шелка, с помутнениями, немного вязкий	Очень небольшое количество нерастворенного шелка, прозрачный, более темного цвета	Некоторое количество нерастворенного шелка, высокая вязкость	Некоторое количество нерастворенного шелка, не слишком вязкий

ФИГ. 25A ФИГ. 25B ФИГ. 25C ФИГ. 25D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
6 часов	С небольшими помутнениями, с некоторым количеством нерастворенного шелка 	Прозрачный, более темного цвета 	Некоторое количество нерастворенного шелка, вязкий 	Более темный цвет, некоторое количество нерастворенного шелка, с небольшими помутнениями 

ФИГ. 26A ФИГ. 26B ФИГ. 26C ФИГ. 26D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
1 час	С некоторыми помутнениями, более темного цвета, с некоторым количеством частиц шелка 	Полностью прозрачный, темного цвета, с небольшим количеством частиц шелка 	С помутнениями, с некоторым количеством нерастворенного шелка, высокая вязкость 	Небольшое количество нерастворенного шелка, с частичными помутнениями, более темного цвета 

ФИГ. 27A ФИГ. 27B ФИГ. 27C ФИГ. 27D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
4 часа	Небольшое количество нерастворенного шелка, с сильными помутнениями	От отсутствия до небольшого количества нерастворенного шелка, темный красно-коричневый цвет	Некоторое количество нерастворенного шелка, с сильными помутнениями	Небольшое количество частиц шелка, темного цвета, менее вязкий

ФИГ. 28A ФИГ. 28B ФИГ. 28C ФИГ. 28D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
6 часов	Небольшие помутнения, небольшое количество нерастворенного шелка	Отсутствие нерастворенного шелка, темный красно-коричневый цвет	С помутнениями, вязкий, некоторое количество нерастворенного шелка	Небольшое количество нерастворенного шелка, с небольшими помутнениями

ФИГ. 29A ФИГ. 29B ФИГ. 29C ФИГ. 29D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
1 час	Весь шелк растворен, с помутнениями	Весь шелк растворен, прозрачный	Весь шелк растворен, вязкий, с помутнениями	Весь шелк растворен, вязкий, с помутнениями

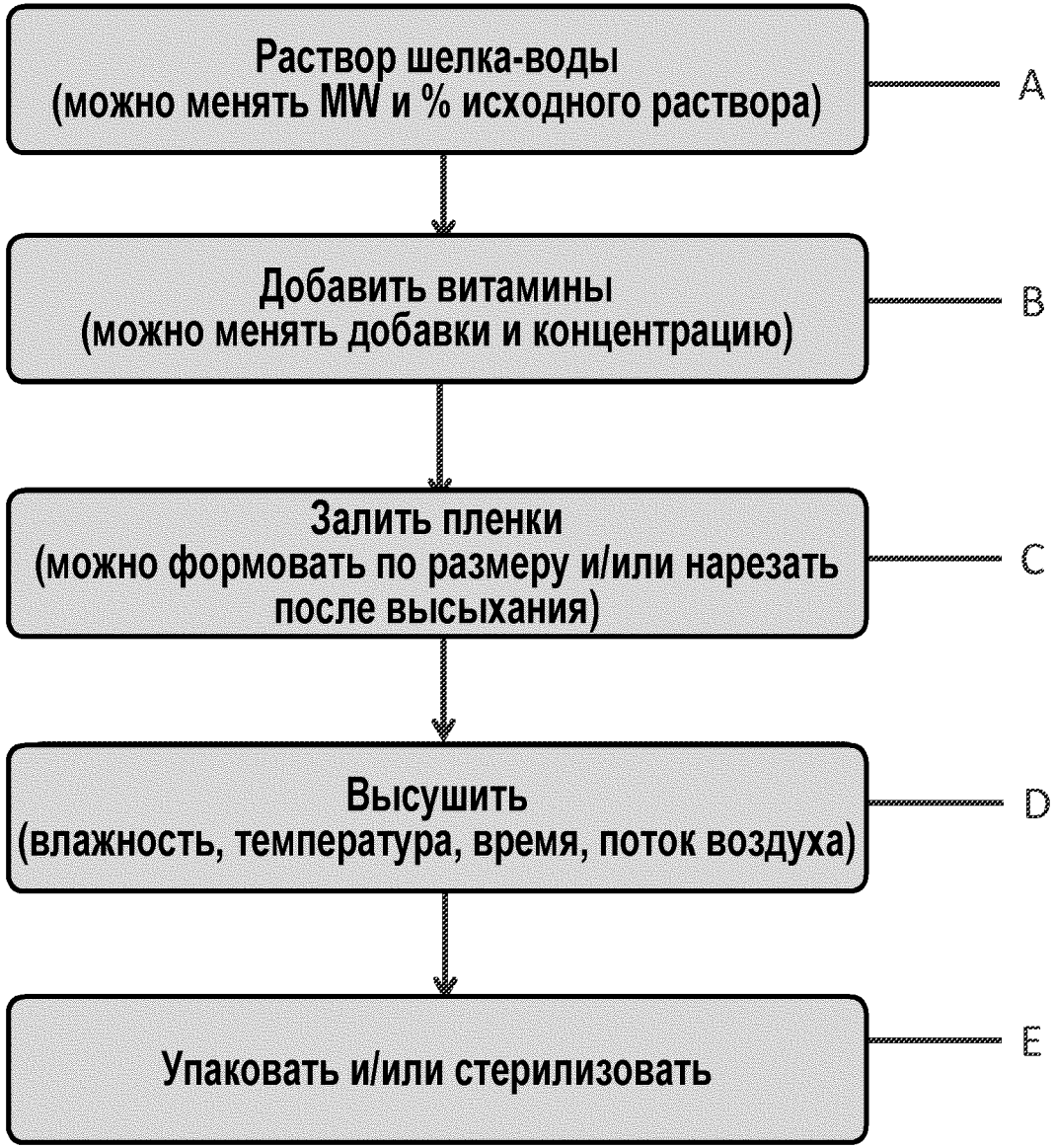
ФИГ. 30A ФИГ. 30B ФИГ. 30C ФИГ. 30D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
4 часа	Весь шелк растворен, с небольшими помутнениями, но в основном прозрачный	Весь шелк растворен, прозрачный, темный	Весь шелк растворен, с помутнениями	Весь шелк растворен, с помутнениями

ФИГ. 31A ФИГ. 31B ФИГ. 31C ФИГ. 31D

Временная точка	Серицин экстрагировали при 100°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 100°C, 60 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 30 мин	Серицин экстрагировали при 90°C, 60 мин
6 часов	Весь шелк растворен, с помутнениями	Весь шелк растворен, прозрачный	Весь шелк растворен, с помутнениями	Весь шелк растворен, только с небольшими помутнениями

ФИГ. 32A ФИГ. 32B ФИГ. 32C ФИГ. 32D


Раствор шелка-воды
(можно менять MW и % исходного раствора)
A
Добавить витамины
(можно менять добавки и концентрацию)
B
Залить пленки
(можно формовать по размеру и/или нарезать после высыхания)
C
Высушить
(влажность, температура, время, поток воздуха)
D
Упаковать и/или стерилизовать
E

ФИГ. 33

Методы исследования высыхания шелковой пленки

- Разводили раствор шелка до концентрации шелка 2% (масс./об.%)
- Витамин С добавляли в соотношении 5:1 шелк:витамин С

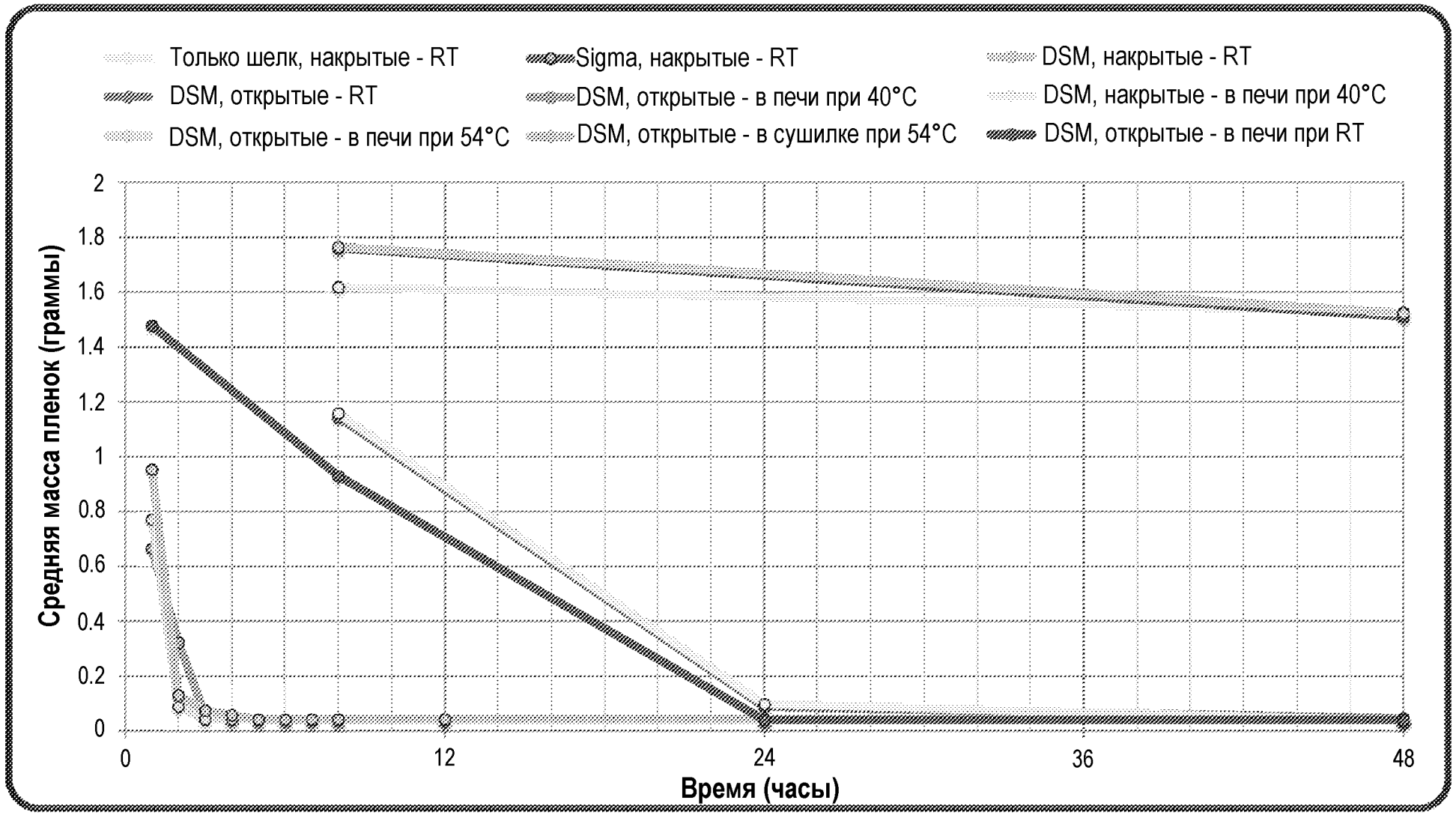
Заливка пленки

- Заливали 15 образцов для каждой партии с помощью 1,85 мл раствора, нанесенного пипеткой в силиконовую форму диаметром 1" (2,54 см)
- Пленки заливали на месте сушки и не двигали до тестирования

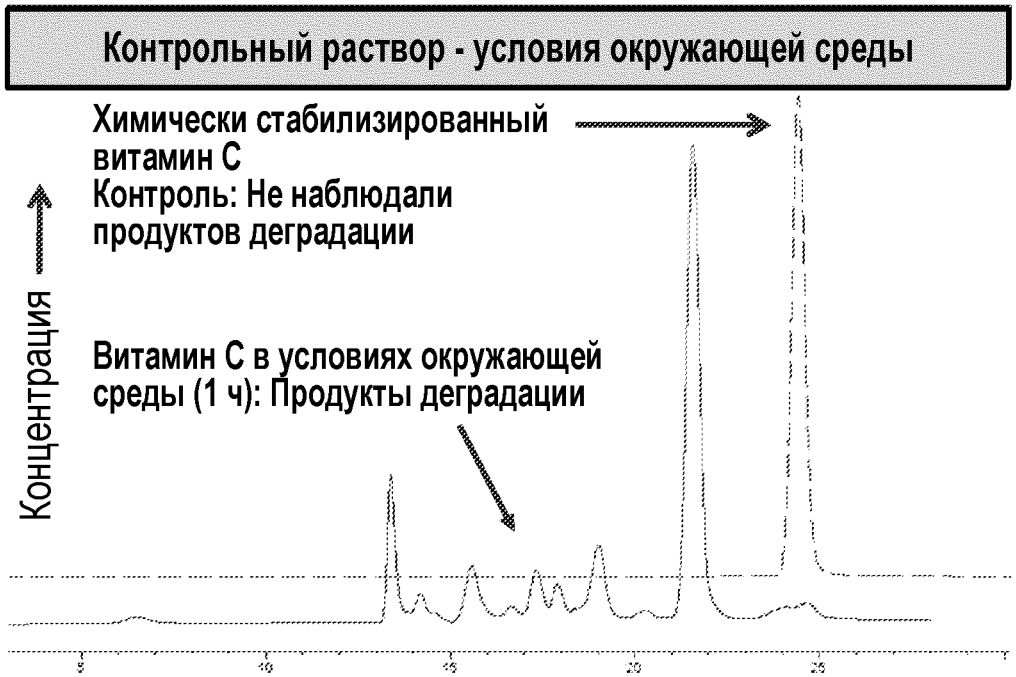
Наблюдения и тестирование

- Пленки наблюдали и взвешивали через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 24 и 48 часов после заливки
- Тестировали 5 пленок из каждой партии через 1, 8 и 48 часов после заливки
- Процедура тестирования состояла из взвешивания, фотографирования и растворения пленок

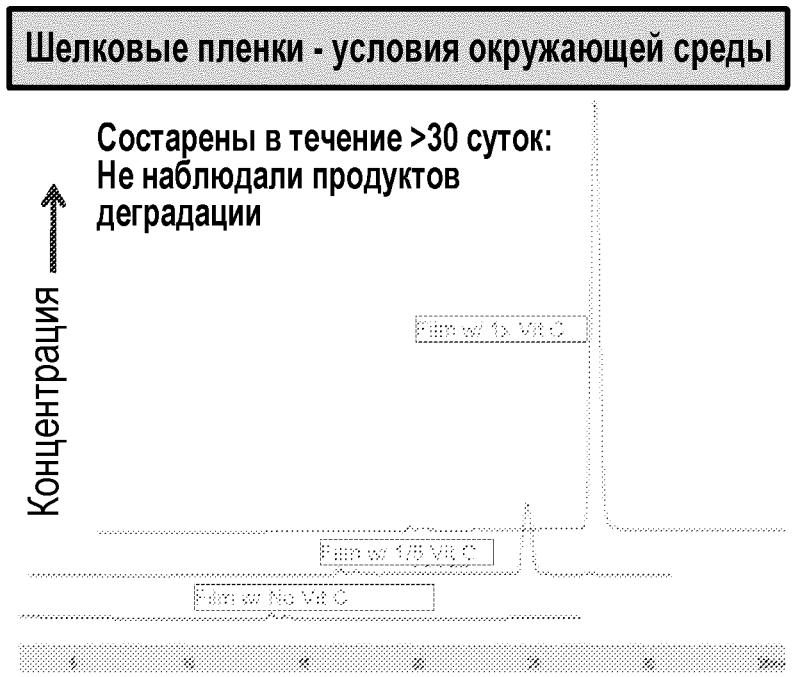
ФИГ. 34


Только шелк, накрытые - RT
Sigma, накрытые - RT
DSM, накрытые - RT
DSM, открытые - RT
DSM, открытые - в печи при 40°C
DSM, накрытые - в печи при 40°C
DSM, открытые - в печи при 54°C
DSM, открытые - в сушилке при 54°C
DSM, открытые - в печи при RT
Средняя масса пленок (граммы)
2
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
12
24
36
48
Время (часы)

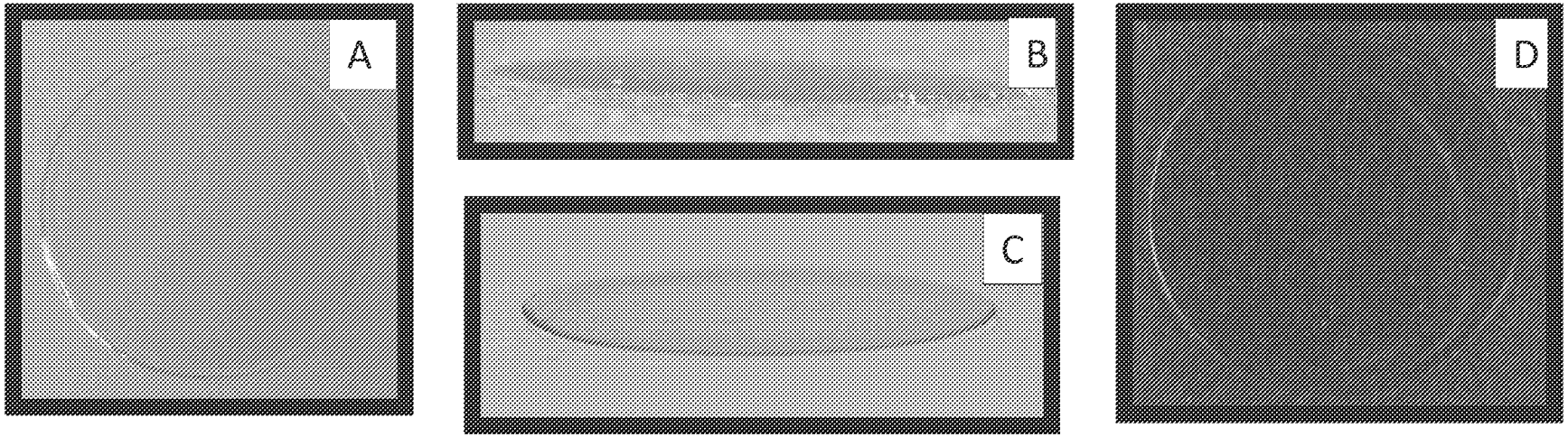
ФИГ. 35



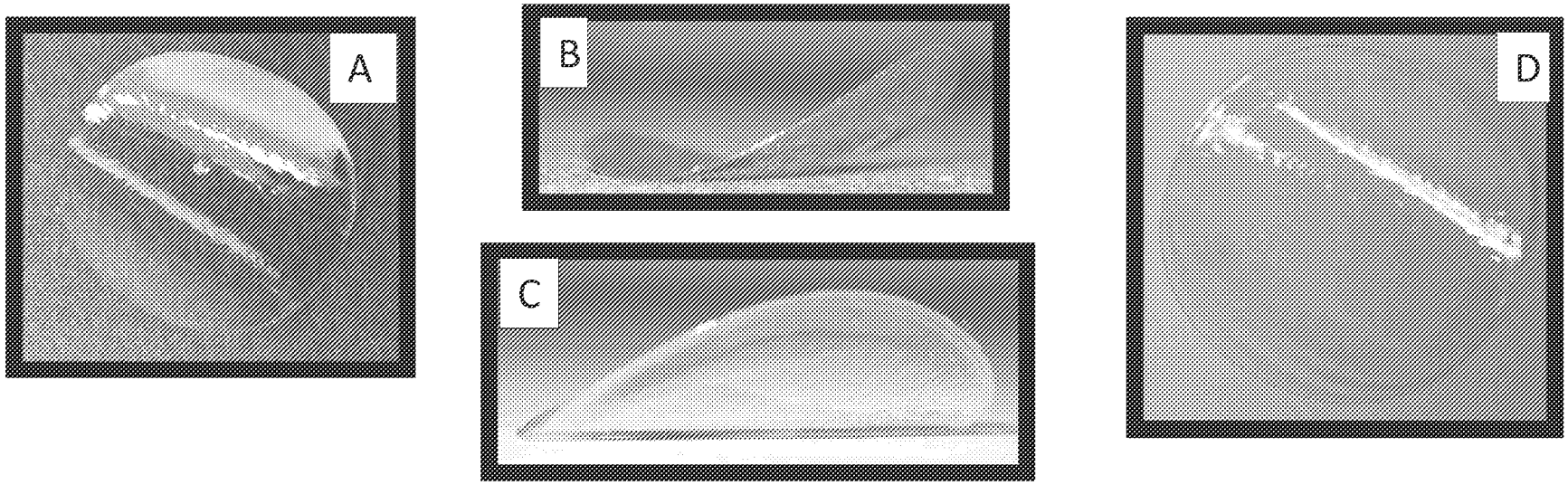
ФИГ. 36A



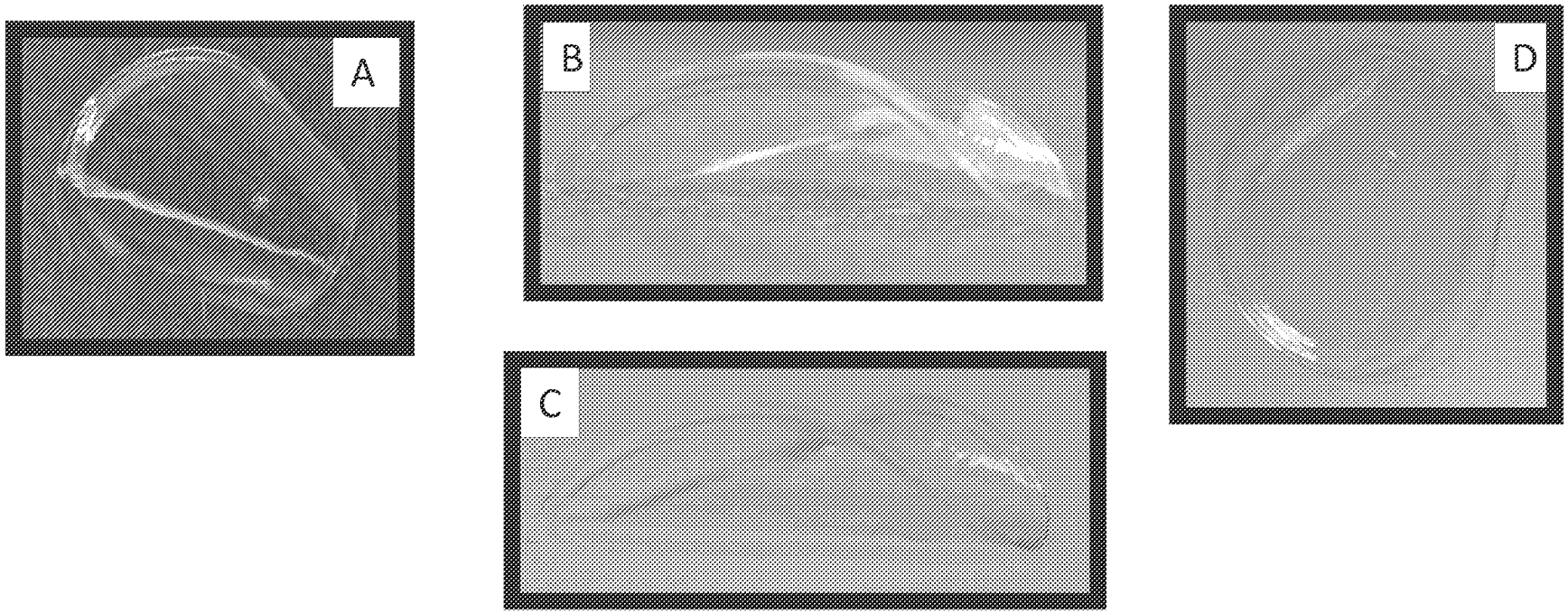
ФИГ. 36B



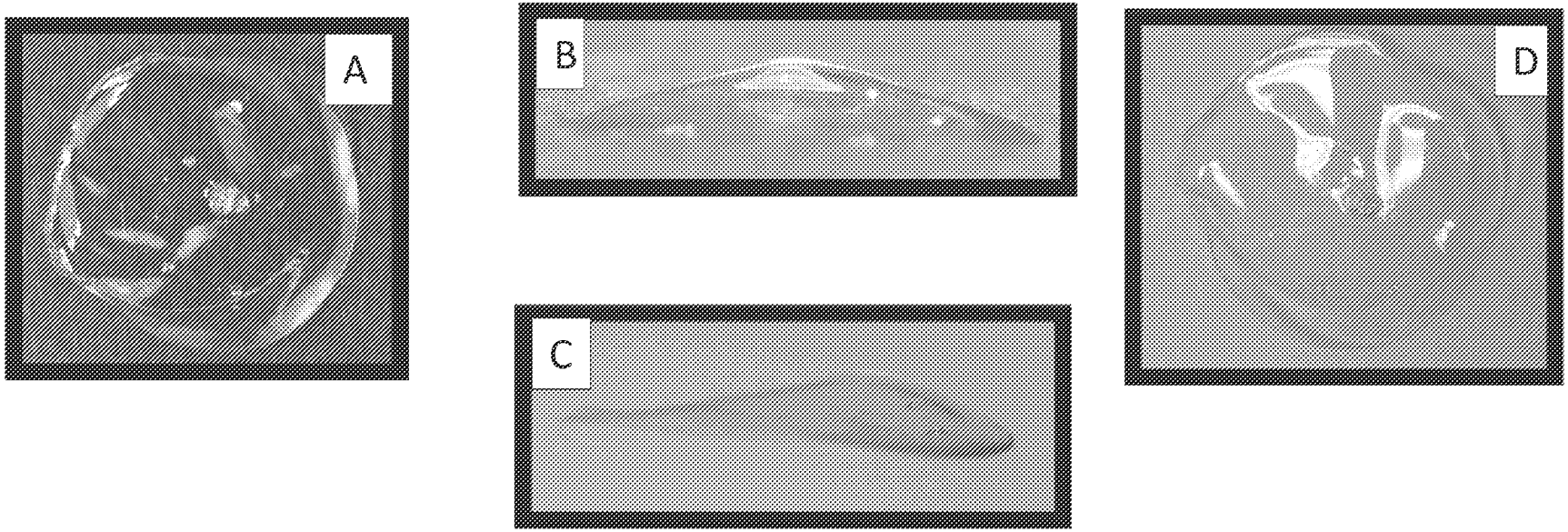
ФИГ. 37A-37D



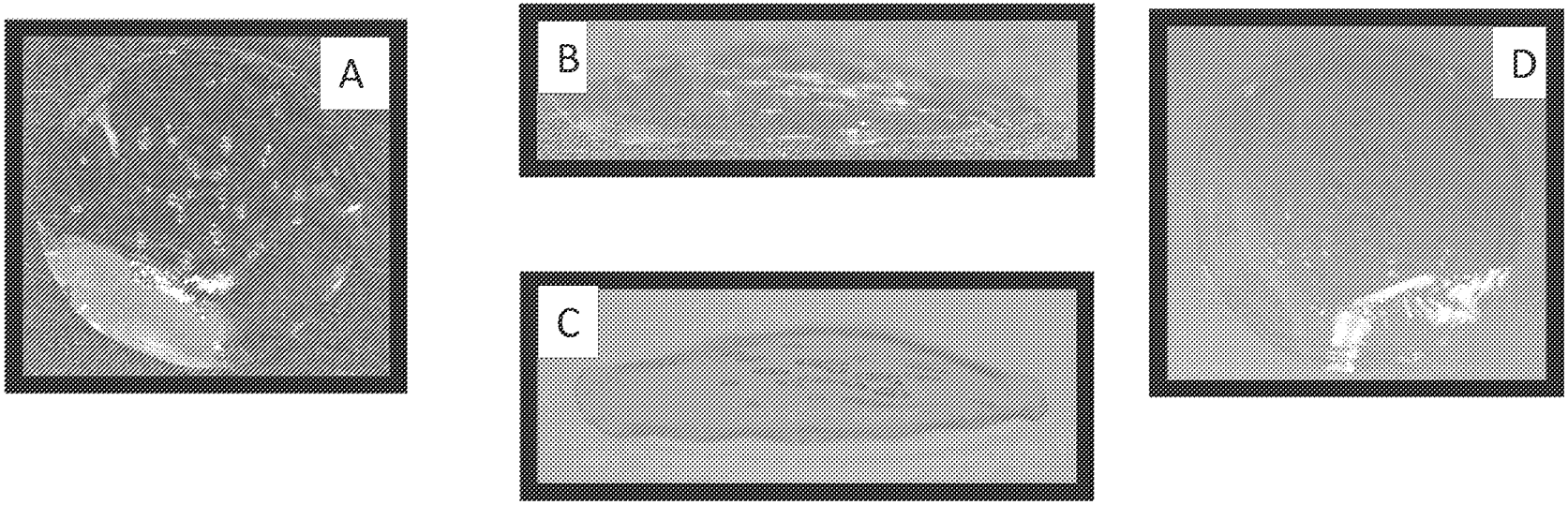
ФИГ. 38A-38D



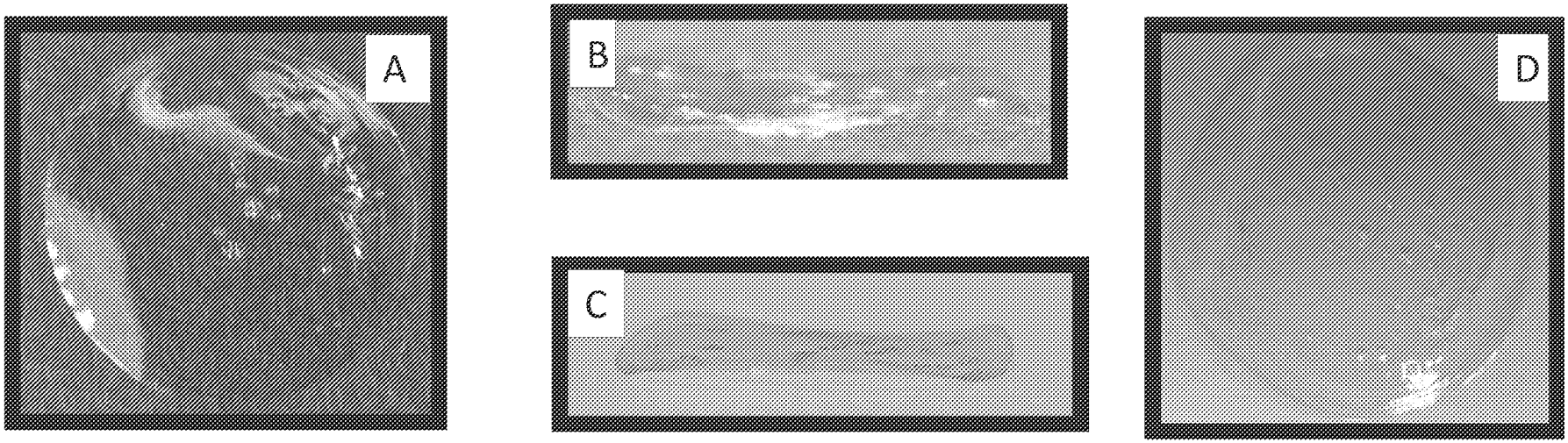
ФИГ. 39A-39D



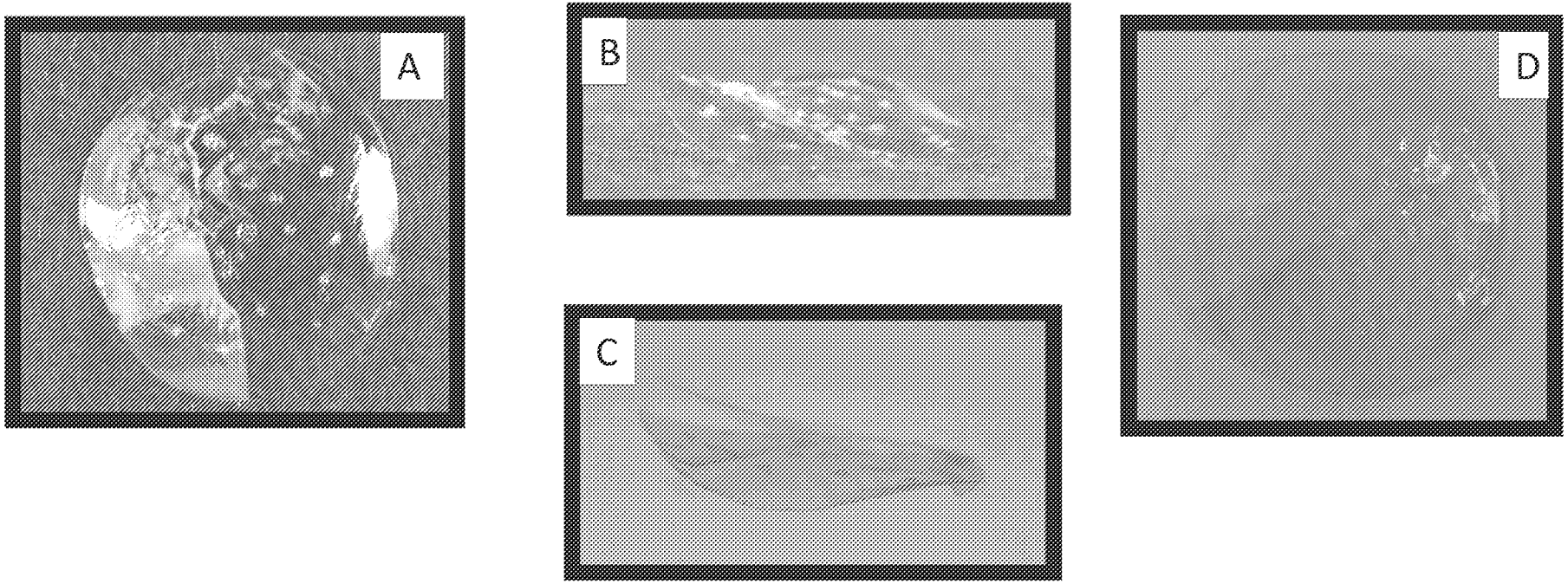
ФИГ. 40A-40D



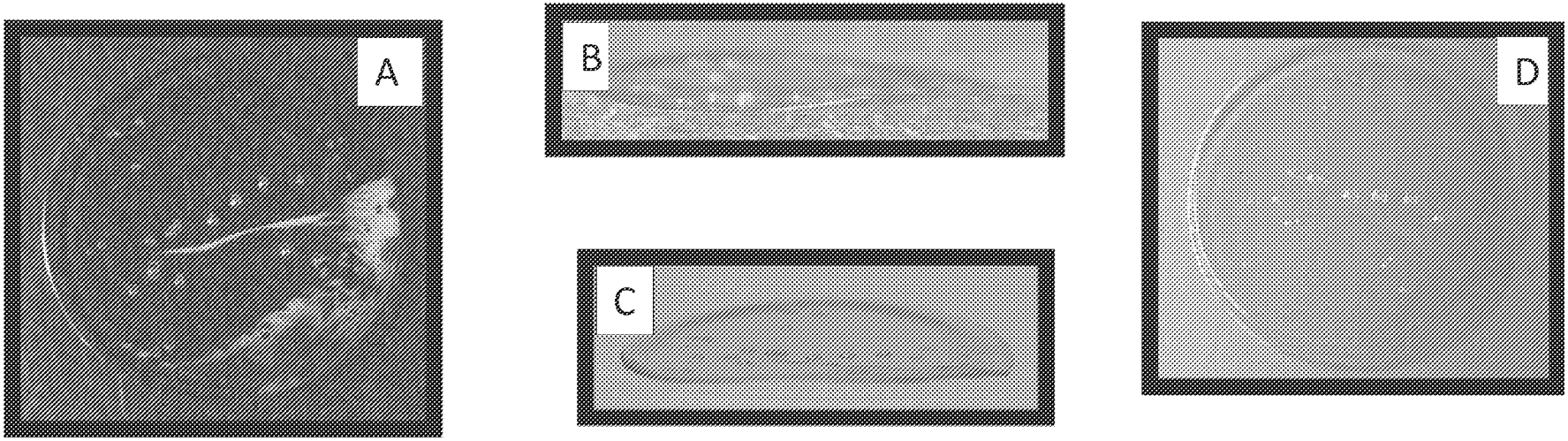
ФИГ. 41A-41D



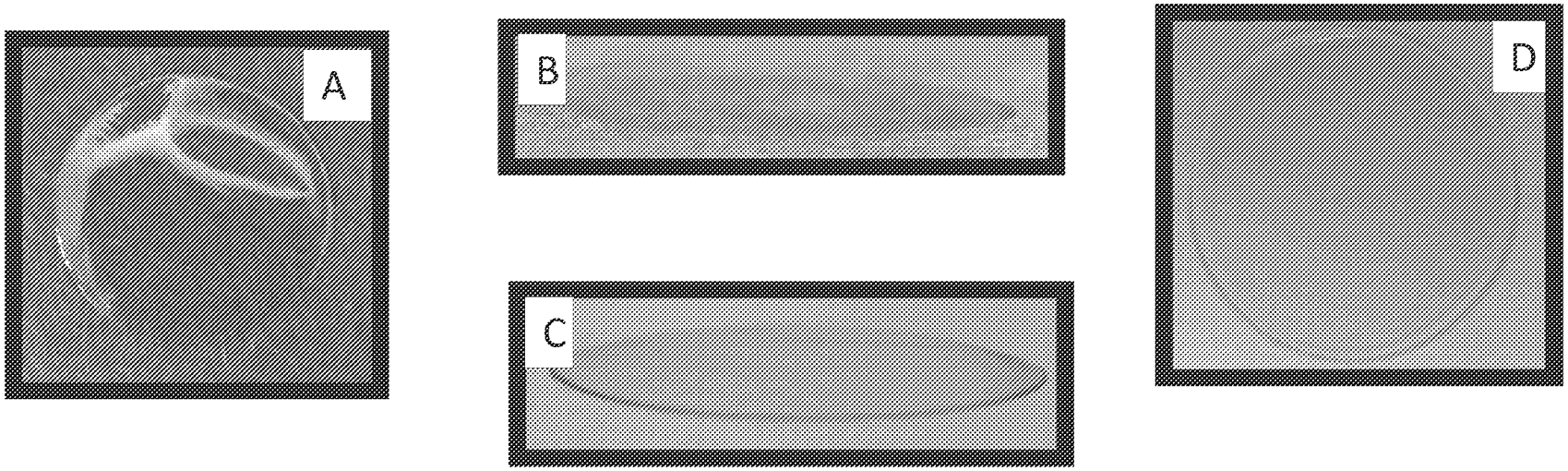
ФИГ. 42A-42D



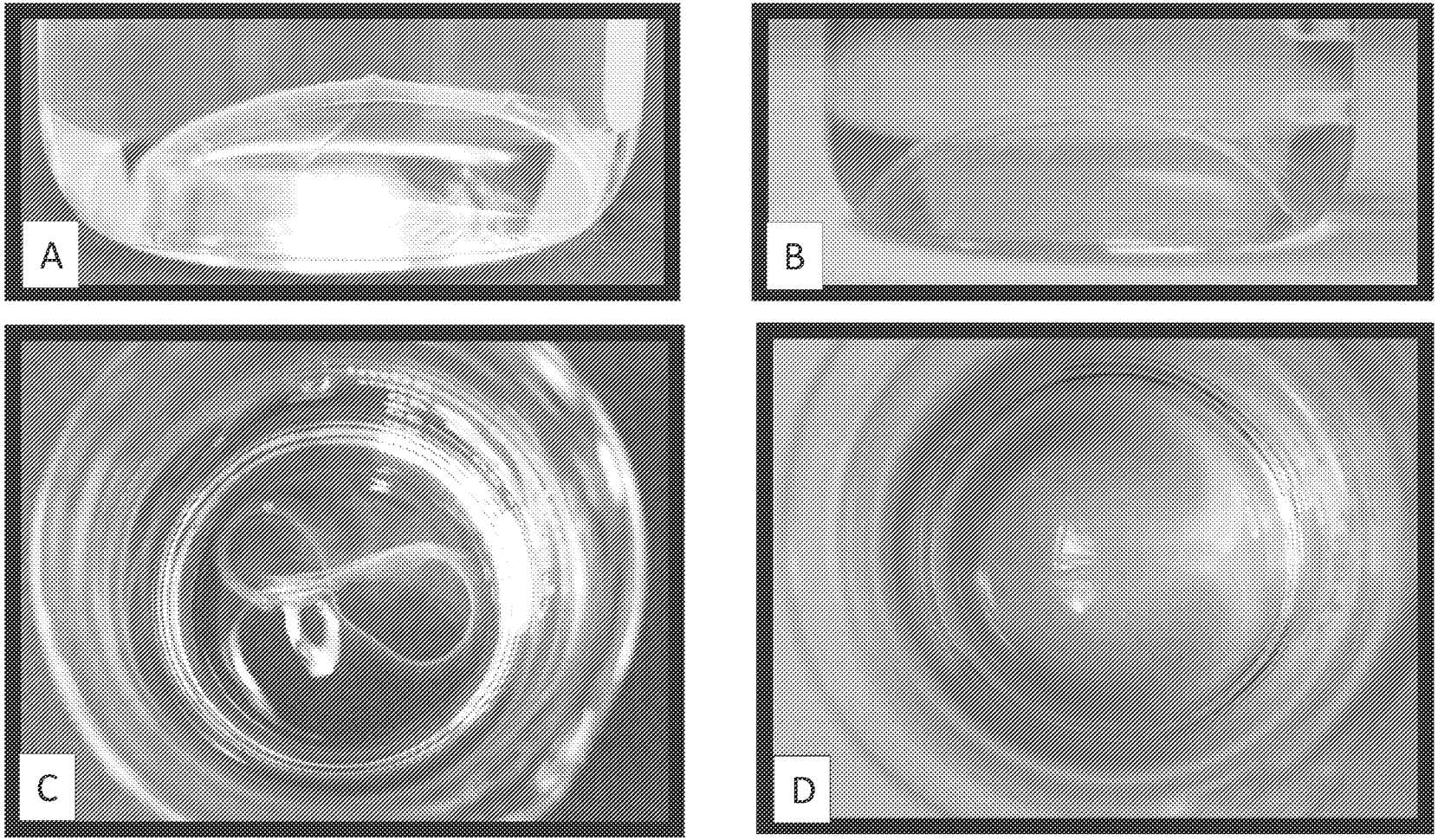
ФИГ. 43A-43D



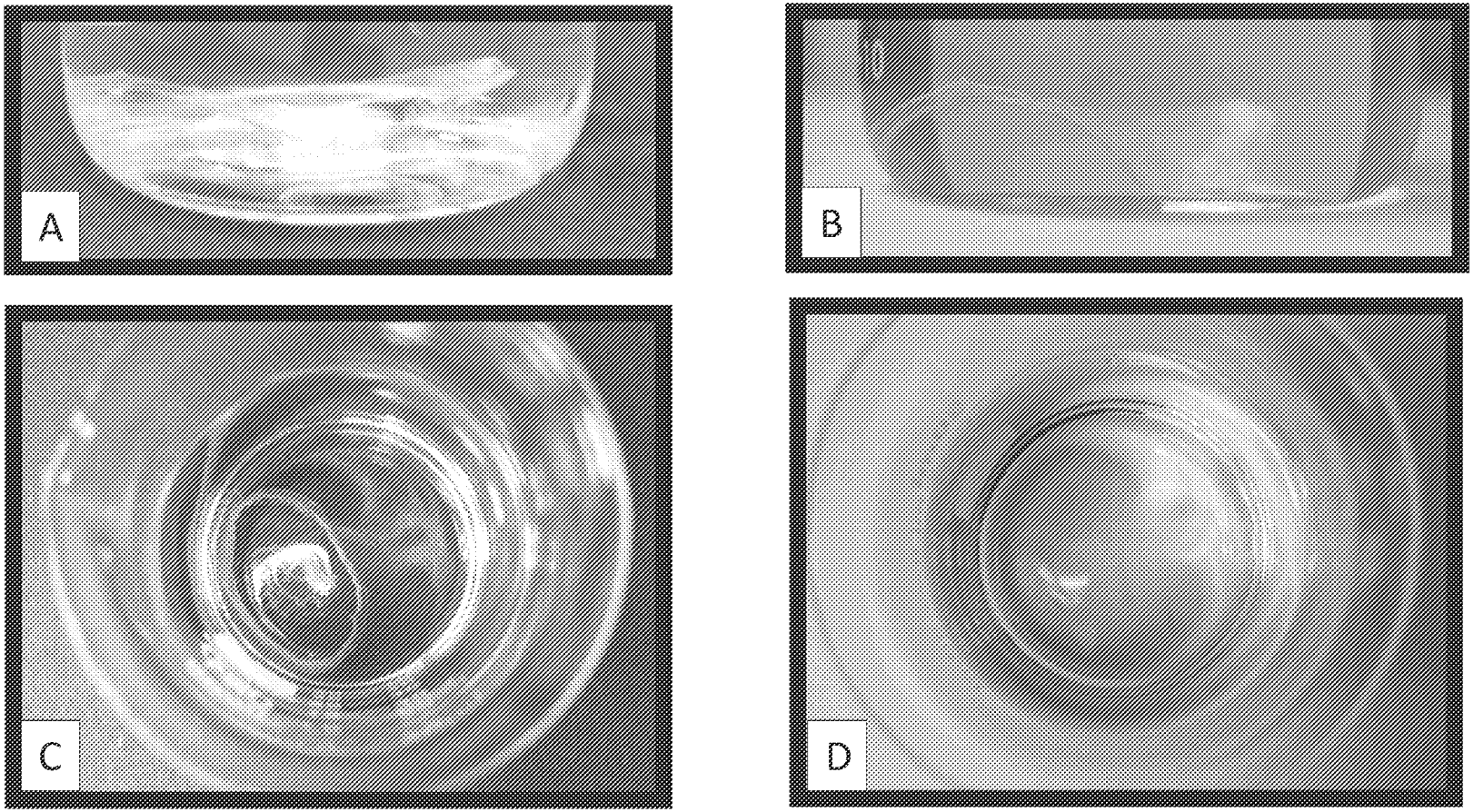
ФИГ. 44A-44D



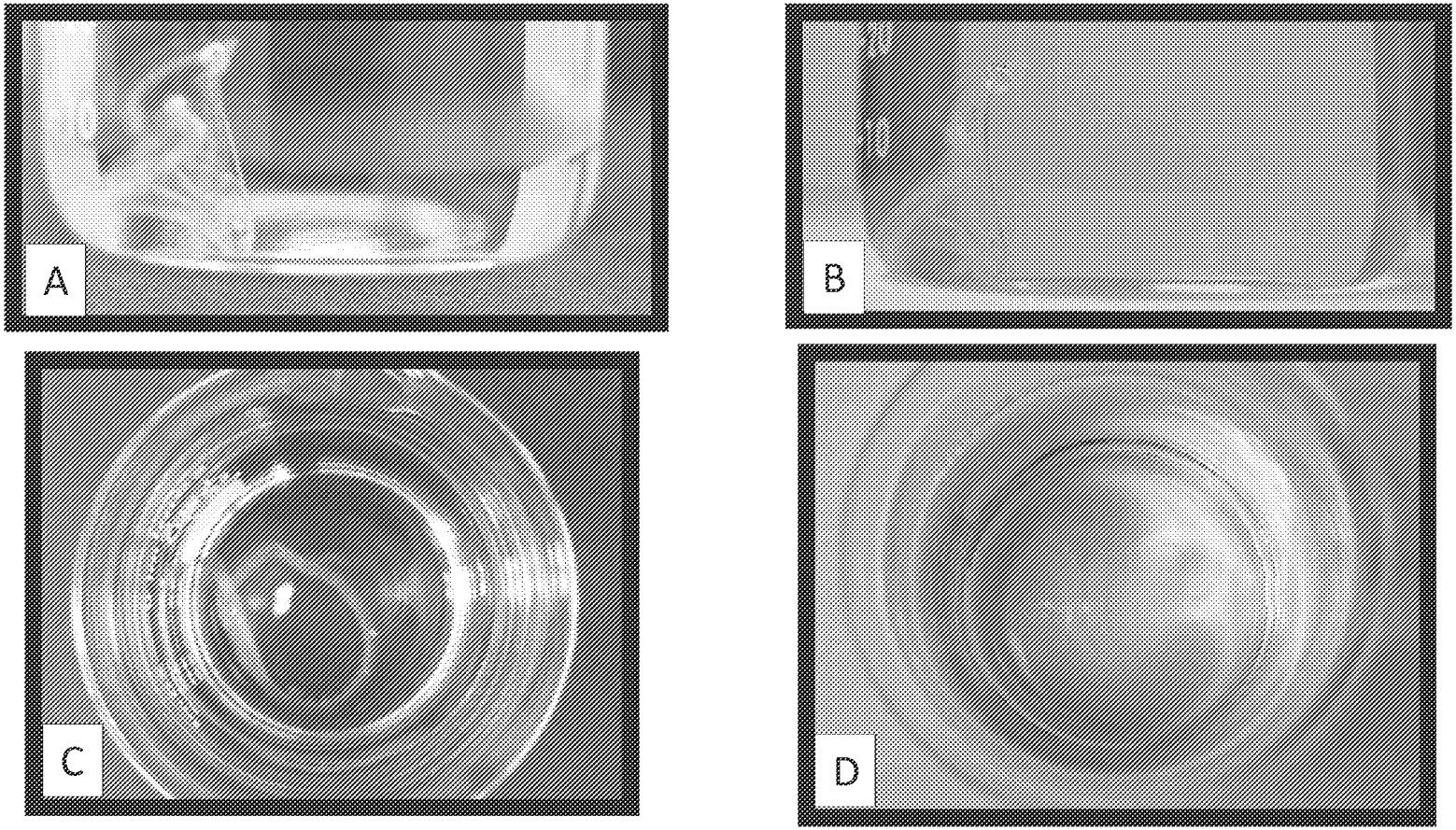
ФИГ. 45A-45D



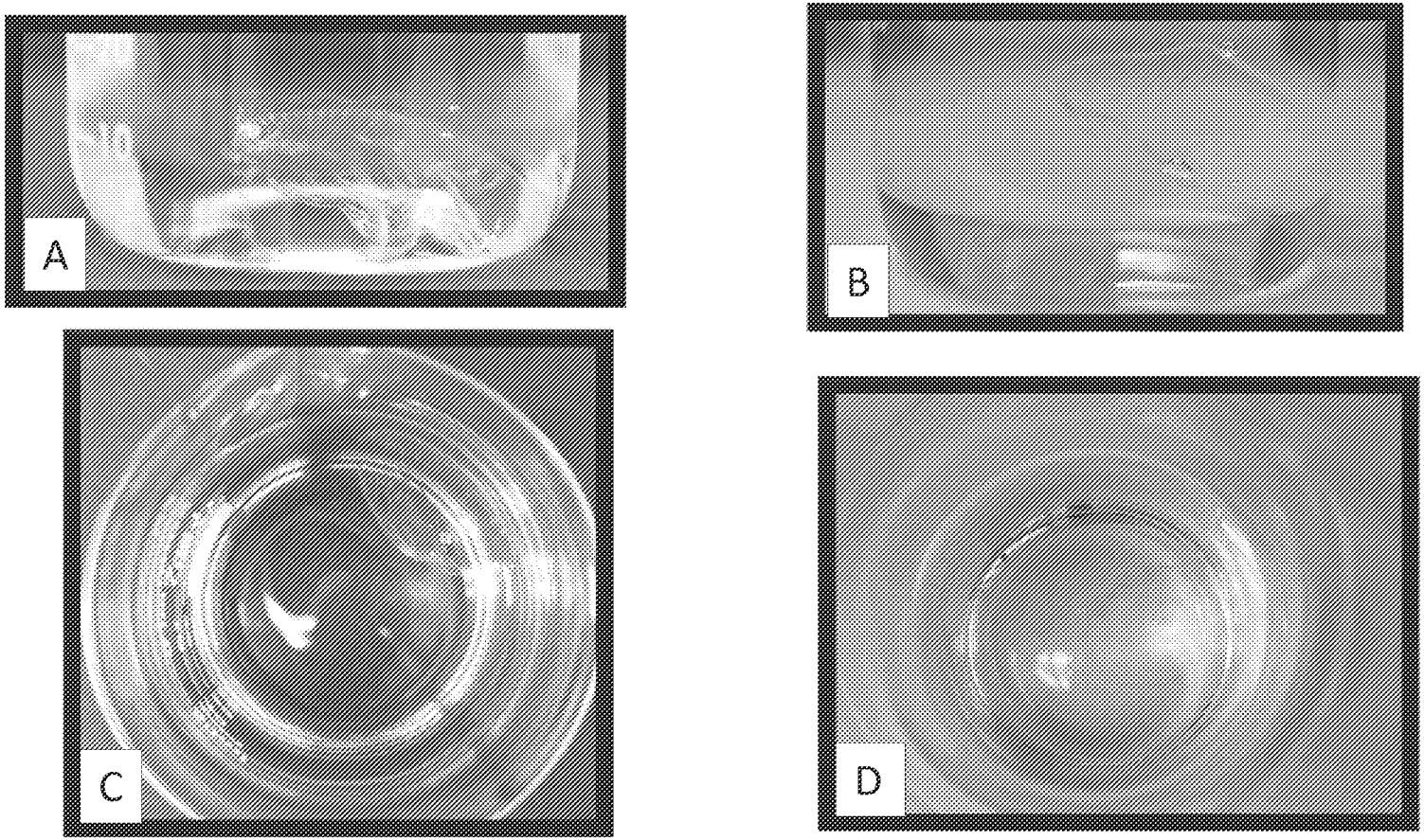
ФИГ. 46A-46D



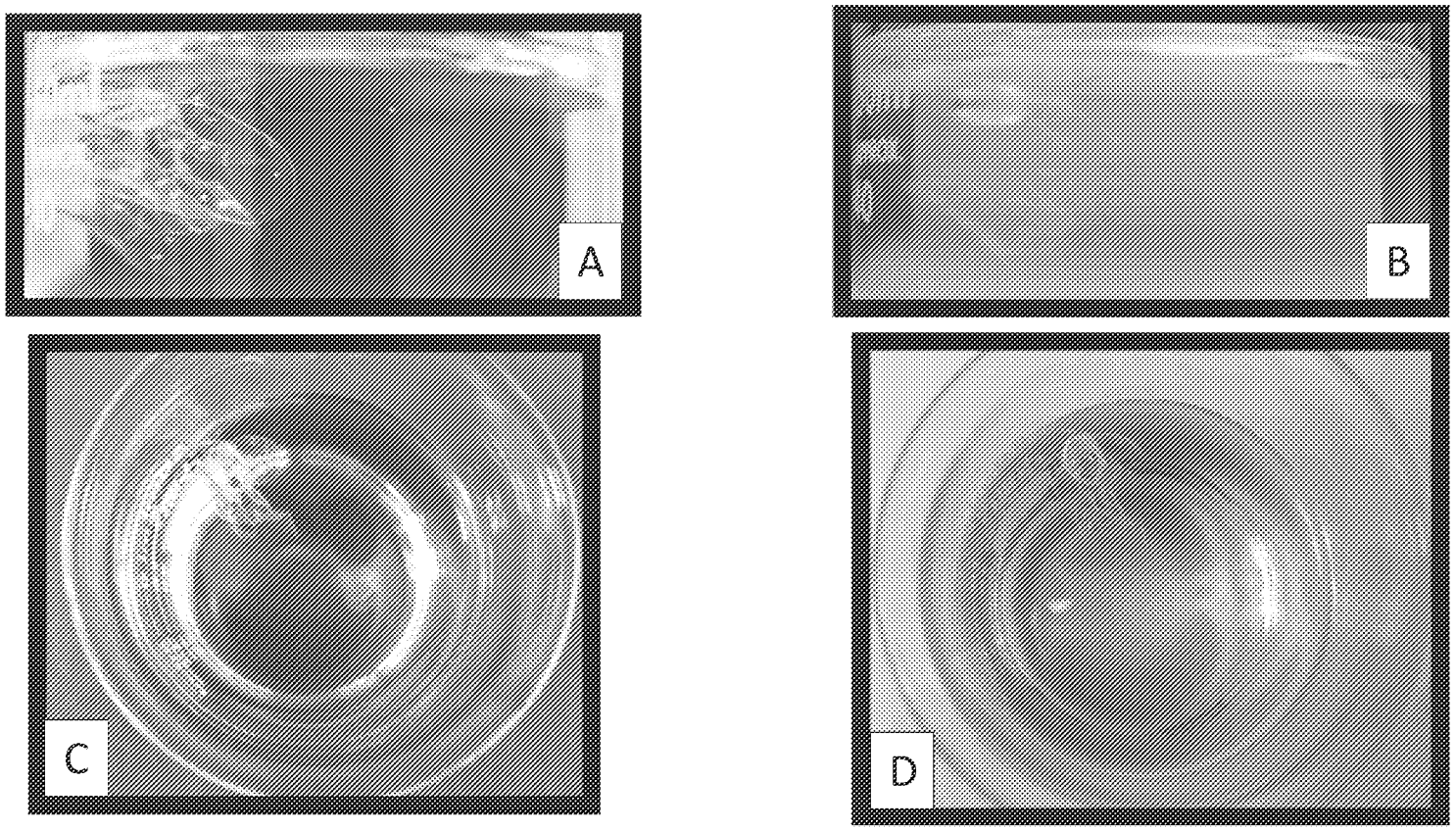
ФИГ. 47A-47D



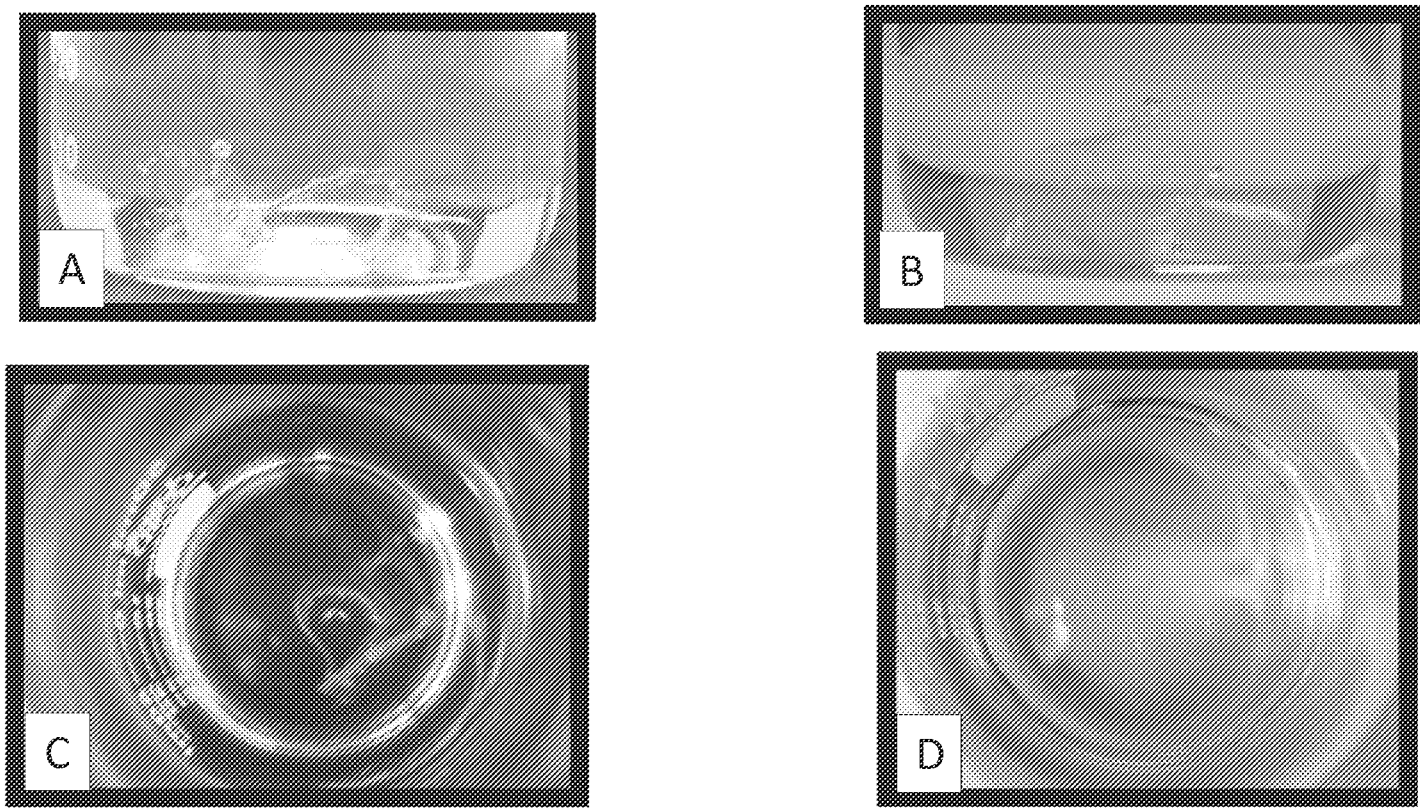
ФИГ. 48A-48D



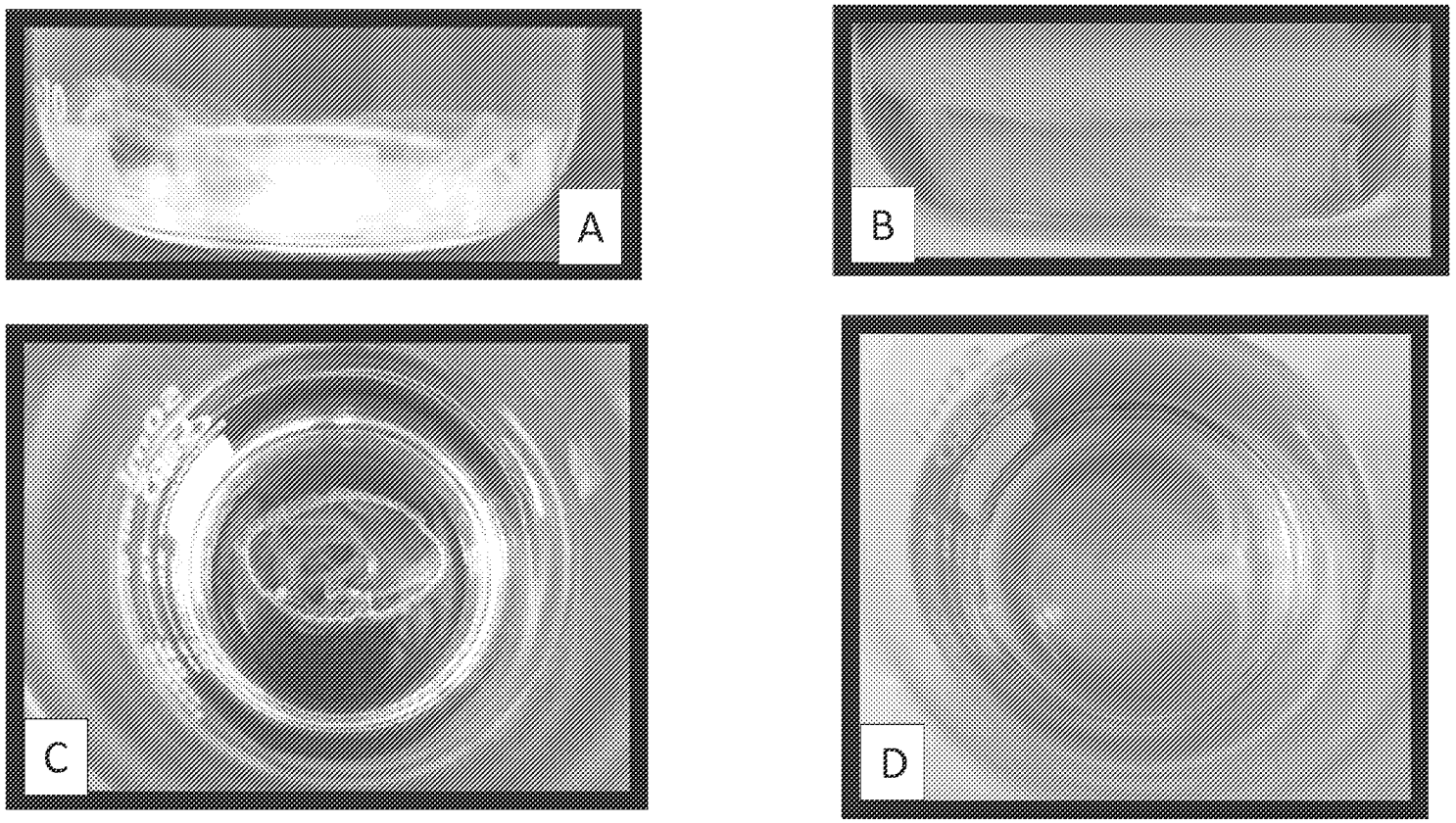
ФИГ. 49A-49D



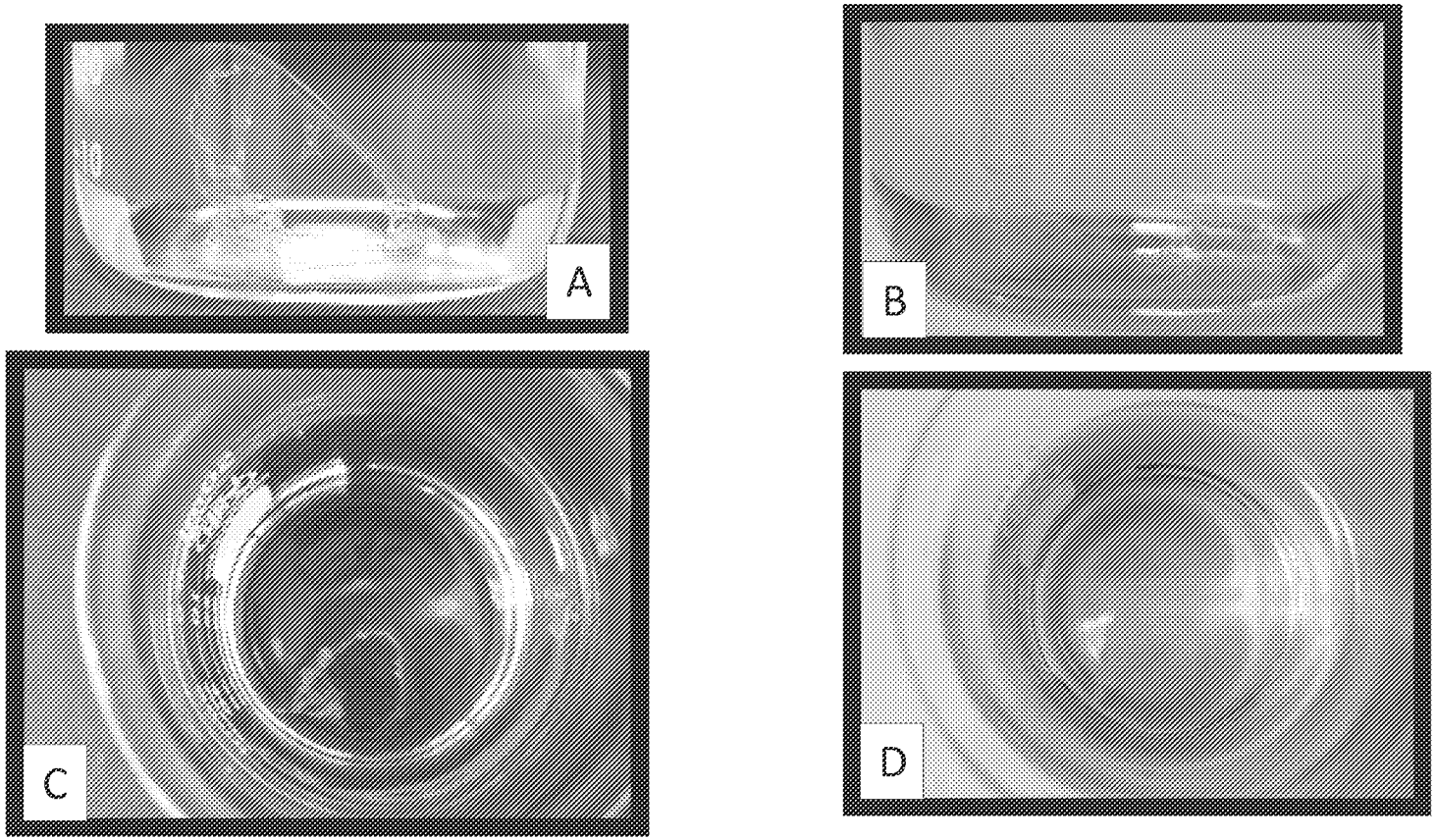
ФИГ. 50A-50D



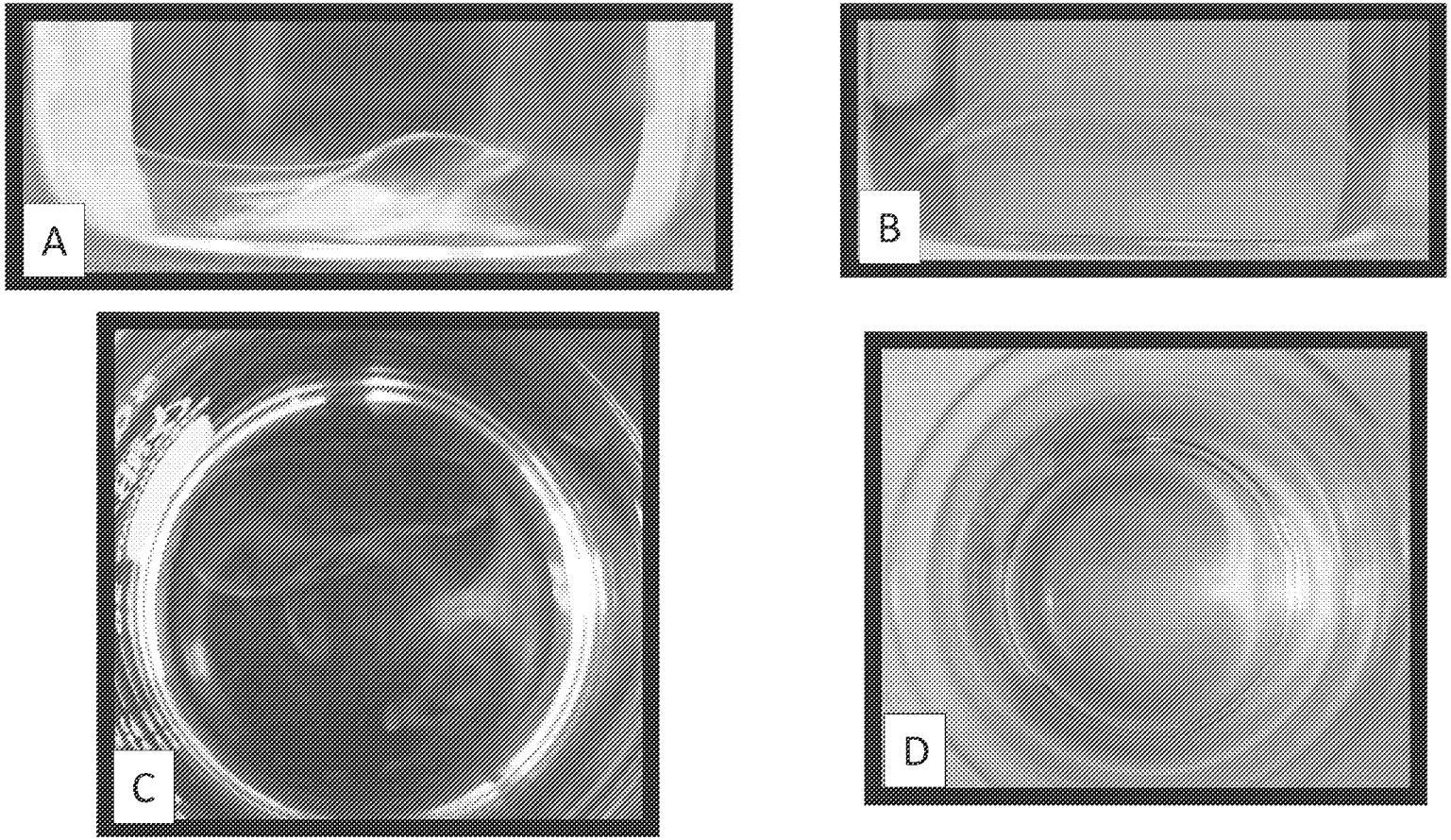
ФИГ. 51A-51D



ФИГ. 52A-52D



ФИГ. 53A-53D



ФИГ. 54A-54D

Концентрация бромида лития и карбоната натрия в растворах белков шелка

ID образца	Описание образца	Средняя концентрация Na2CO3 (м.д.)	Средняя концентрация LiBr (м.д.)
A	TFF 5 кДа	32.13	90.85
B	TFF 10 кДа	42.91	107
C	TFF 10 кДа	49.06	78.55
D	STI 1(TFF-10-0019)	2.17	129.07
E	STI 2(TFF-10-0033)	2.63	196.2
F	STI 3(TFF-10-0034)	4.18	248.93

Способ: экстракция при 100°C в течение 60 мин, промывка при 60°C, LiBr при 100°C в печи при 100°C в течение 60 мин.Следует отметить, что TFF можно проводить в течение более длительного времени и/или при различных скоростях потока (как изменяли между A-C и D-F) для изменения м.д. Na2CO3 и LiBr.

ФИГ. 55

Карбонат натрия в составах белков шелка

ID образца	Детали	Масса образца (мг)	Концентрация Na_2CO_3 в исходной пленке / Среднее (мг/пленку)	Стандартное отклонение	% ошибки
A	Пустая пленка	ND	NA	NA	NA
B	Пленка 1:1	30.1	0.0141	0.0008	5.55%
C	Пленка 5:1	17.3	0.0127	0.0006	4.69%

Способ: экстракция при 100°C в течение 20 мин, промывка при RT, LiBr в печи при 60°C в течение 4-6 час.

Пленки с 2% шелка, высушенные на воздухе при RT

ФИГ. 56

Бромид лития в составах белков шелка

ID образца	Детали	Масса образца (мг)	Концентрация LiBr в исходной пленке	Стандартное отклонение	% ошибки
			Среднее (мг/пленку)		
A	Пустая пленка	ND	NA	NA	NA
B	Пленка 1:1	30.1	0.0363	0.0042	11.47%
C	Пленка 5:1	17.3	0.0259	0.0005	1.82%

Способ: экстракция при 100°C в течение 20 мин, промывка при RT, LiBr в печи при 60°C в течение 4-6 час.
Пленки с 2% шелка, высушенные на воздухе при RT

ФИГ. 57

Содержание бромида лития и карбоната натрия в растворах белков шелка

ID образца	Объем раствора, эквивалентный (X) пленок	Масса образца (мг)	Концентрация	
			Na2CO3	LiBr
1	6	0.171	ND	ND
2	8	0.228	ND	ND
3	10	0.285	ND	ND
4	12	0.342	ND	ND
5	Исходный	-	ND	ND

*ND – не детектировано

Способ: кипячение при 100°C в течение 60 мин, промывка при 60°C, LiBr в печи при 60°C в течение 4-6 час.

ФИГ. 58

Витамин С в составах белков шелка

ID образца	Описание (шелк:витамин С)	Масса образца (мг)	Концентрация витамина С	Стандартное отклонение	% ошибки
			Среднее (мг/пленку)		
A	Пустая пленка	4.2	0	0	0.00%
B1	Пленка 1:1	7.8	3.0974	0.0538	1.74%
B2	Пленка 1:1	7.7	3.2534	0.0312	0.96%
C1	Пленка 5:1	4.9	0.6194	0.0096	1.54%
C2	Пленка 5:1	4.9	0.6454	0.0061	0.94%

Способ: экстракция при 100°C в течение 20 мин, промывка при RT, LiBr в печи при 60°C в течение 4-6 час.
Пленки с 2% шелка, высушенные на воздухе при RT

ФИГ. 59

Стабильность витамина С в растворах

ID образца	Время (час)	Фактическая концентрация (мкг/мл)	Площадь	Концентрация витамина С (мкг/мл)	Выделено (%)	Стабильность (%) через 24 ч
A	0	82.4	4277.9	80.53	97.73	
B	26	82.4	4088.94	77.62	94.2	
Среднее =			4183.42	79.07	95.96	96.39
Ст. откл. =			133.62	2.06	2.49	
% ошибки			3%	3%	3%	

Способ: раствор витамина С (без шелка)

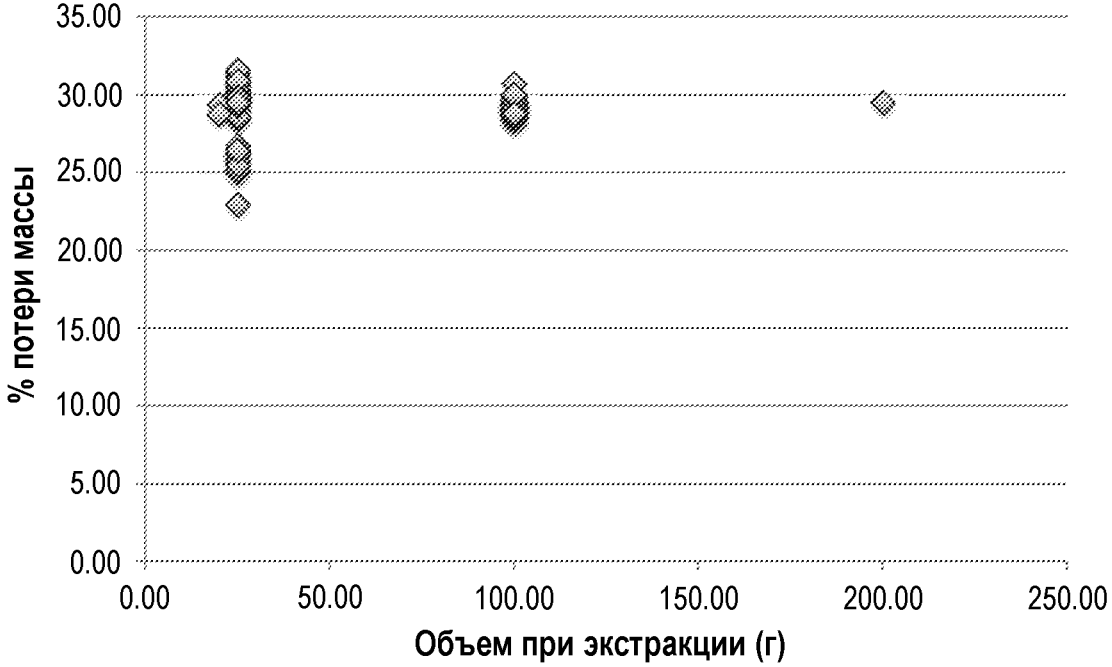
ФИГ. 60

Молекулярные массы растворов белков шелка

ID образца	Описание образца	Mn	Mw	Полидисперсность (PD) (Mw/Mn)
A	TFF 5 кДа	14,497	33,874	2.3366
B	TFF 10 кДа	14,542	33,455	2.3006
C	TFF 10 кДа	14,972	34,026	2.2726
D	Раствор белков шелка в воде	12,055	26,531	2.2008

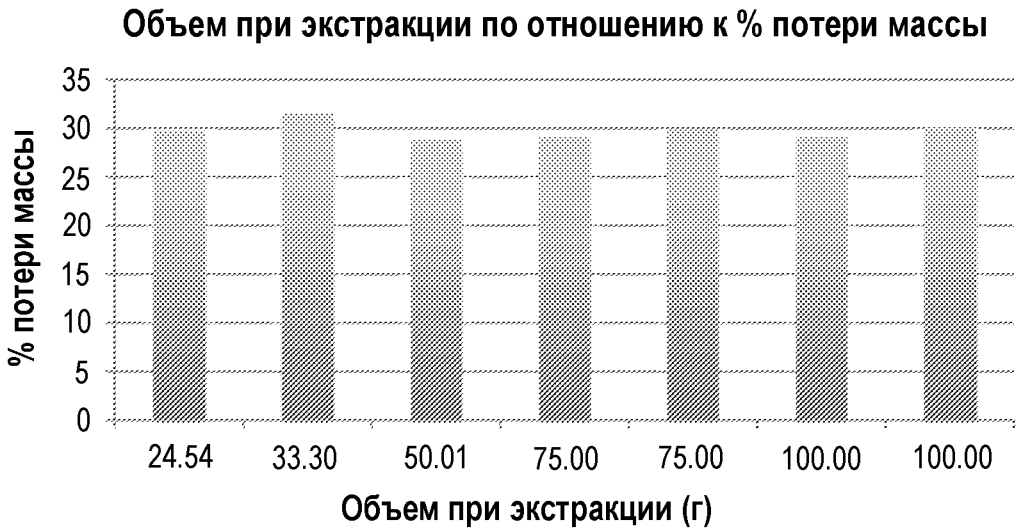
Способ:
TFF: экстракция при 100°C в течение 60 мин, промывка при 60°C, LiBr при 100°C в печи при 100°C в течение 60 мин.
Белок шелка: экстракция при 100°C в течение 20 мин, промывка при RT, LiBr в печи при 60°C в течение 4-6 час.

ФИГ. 61



ФИГ. 62A

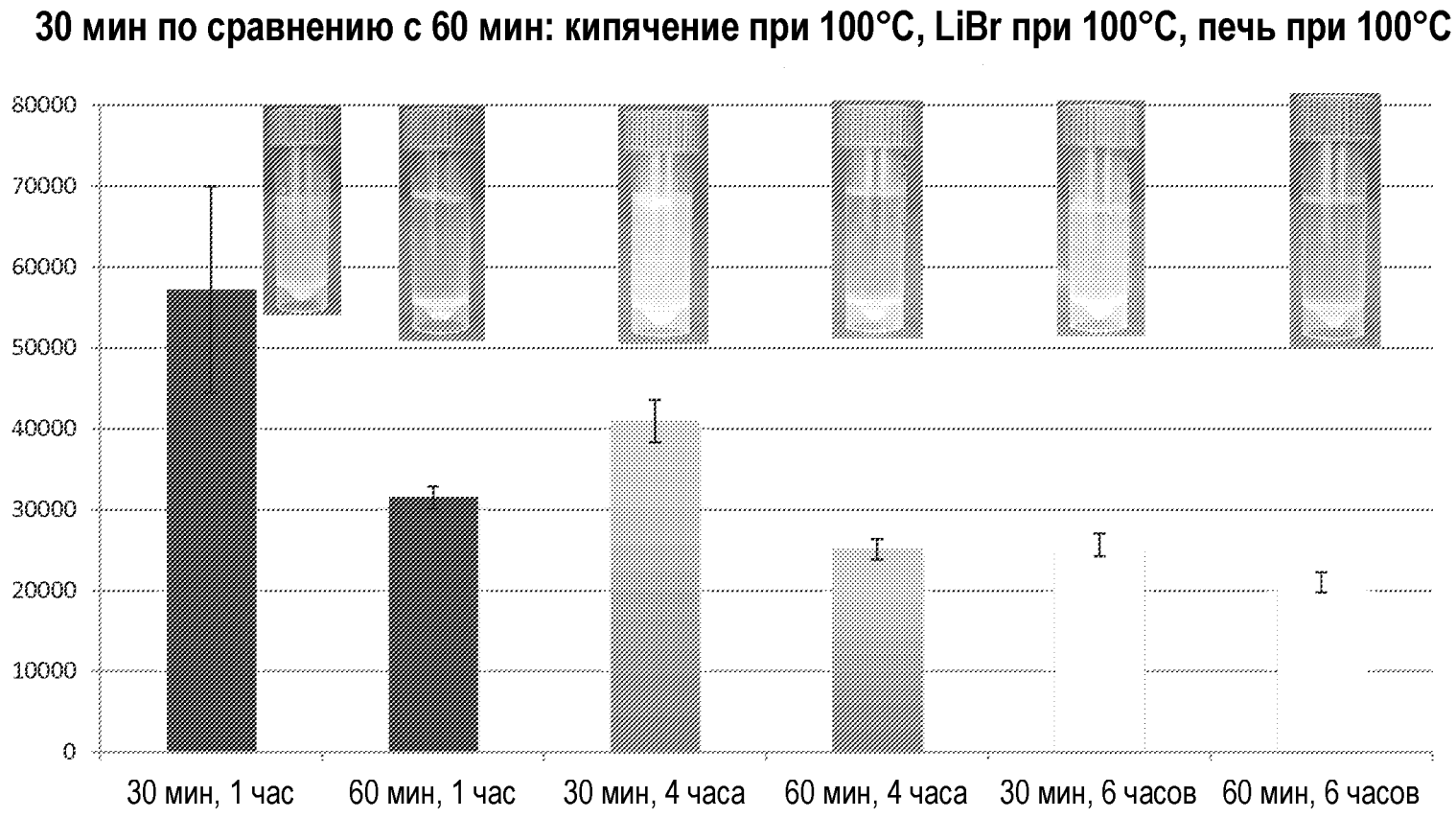
ФИГ. 62B



Образец	LiBr (M)	Средняя Mw	PD
STI 1(TFF-10-0019)	9.3	15727	2.033
STI 2(TFF-10-0033)	9.3	24587	2.3669
STI 3(TFF-10-0034)	9.3	25273	2.338
STI 9.3 M avg		21862	2.25
STI 1(TFF-10-0031)	~7.5	29645	3.0868
STI 2(TFF-10-0030)	~7.5	26856	2.9748
STI 7.5M avg		28250.5	3.0308

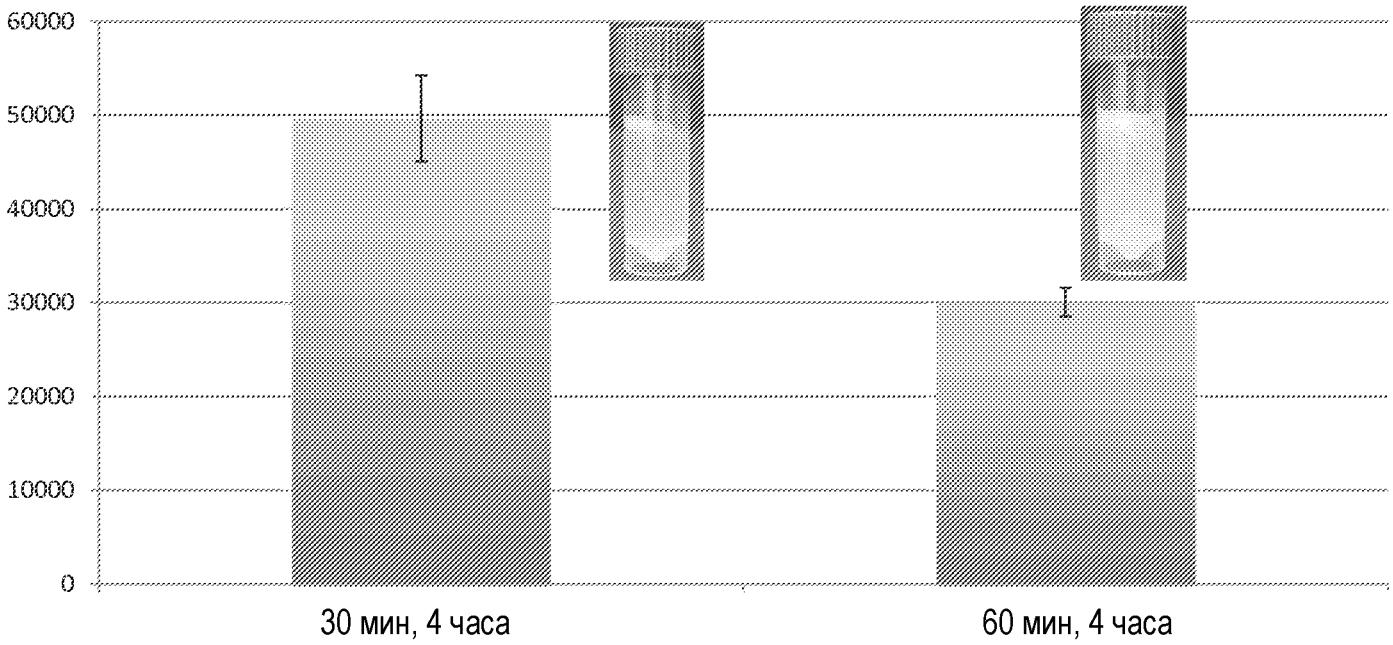
*TFF10-0019 исходя из экстракция 225 г/растворение 35 г
*TFF10-0034 исходя из экстракция 100 г/растворение 17-35 г
*TFF10-0033 исходя из экстракция 100 г/растворение 100 г

ФИГ. 63

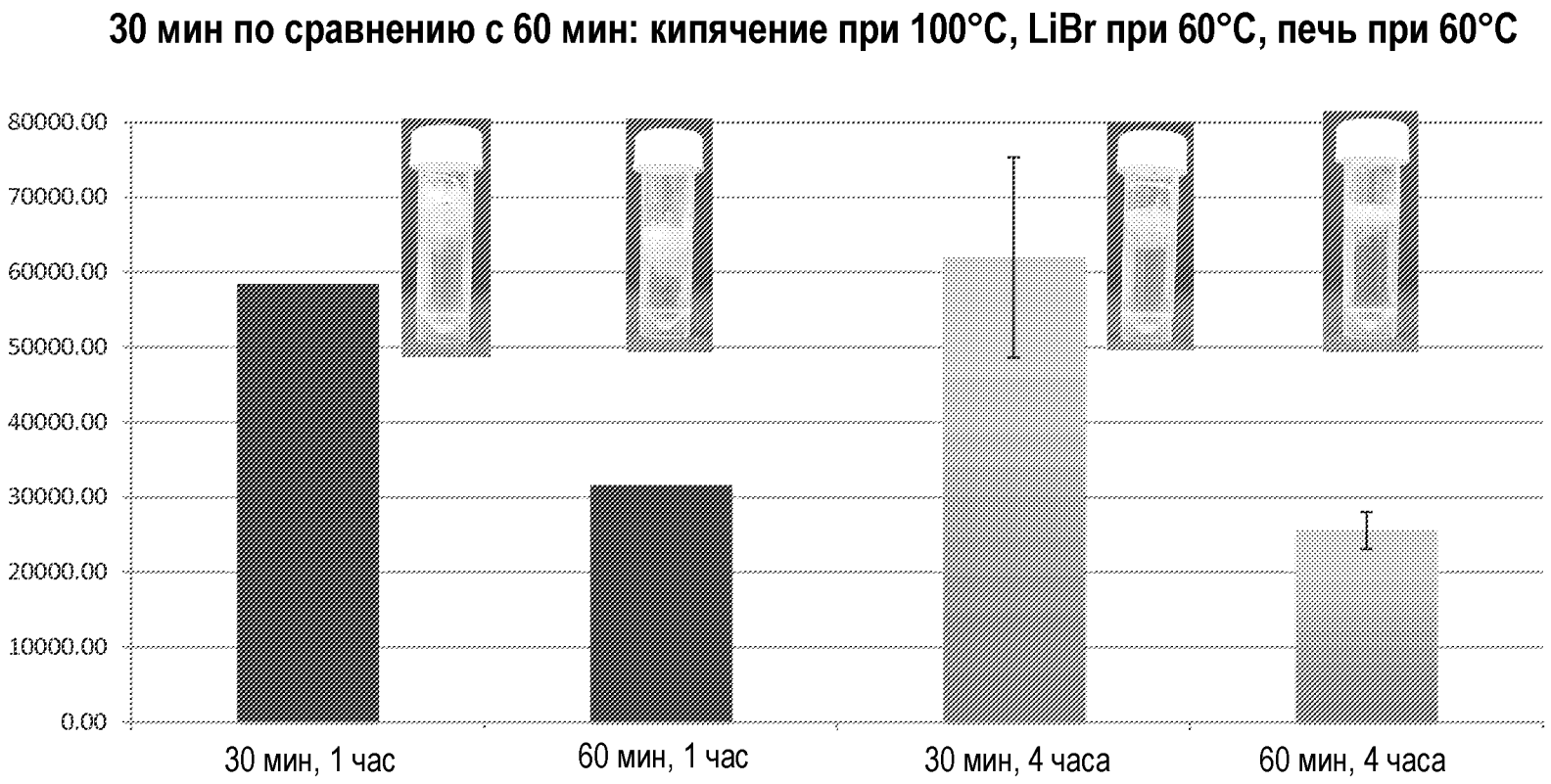

30 мин по сравнению с 60 мин: кипячение при 100°C, LiBr при 100°C, печь при 100°C
80000
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
30 мин, 1 час
60 мин, 1 час
30 мин, 4 часа
60 мин, 4 часа
30 мин, 6 часов
60 мин, 6 часов

ФИГ. 64

30 мин по сравнению с 60 мин: кипячение при 100°C, кипячение в LiBr, печь при 60°C

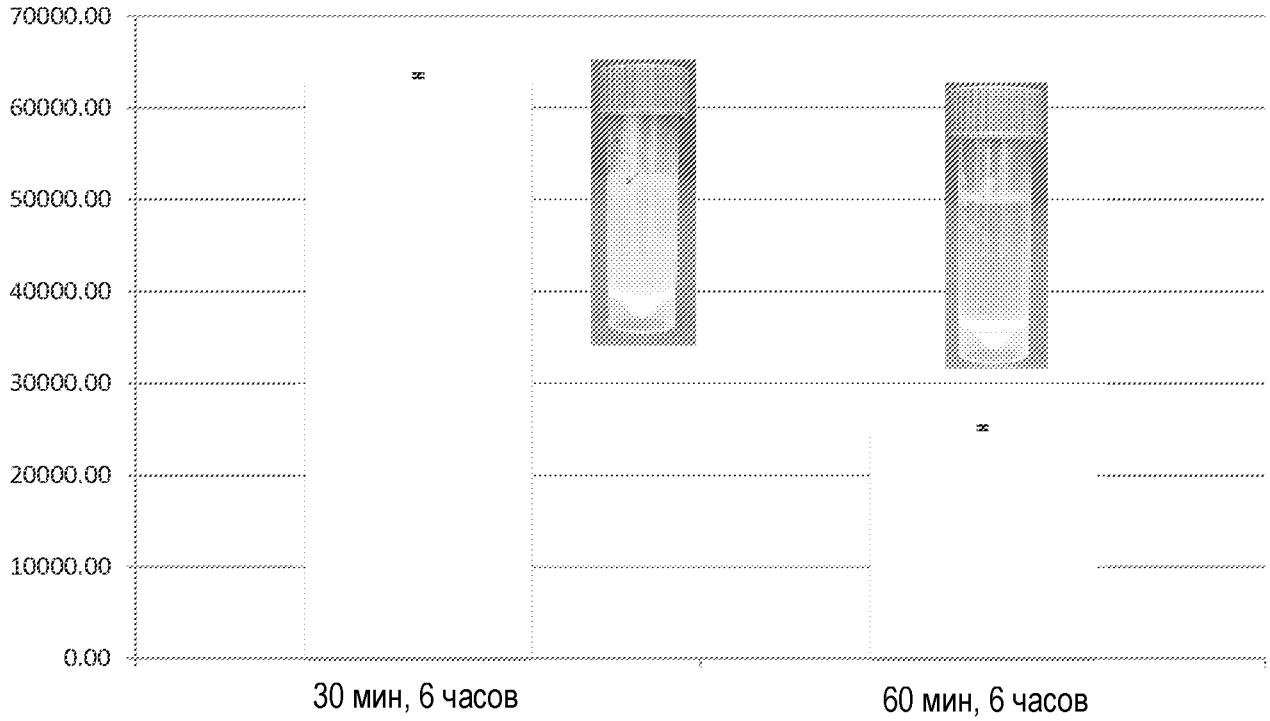


ФИГ. 65

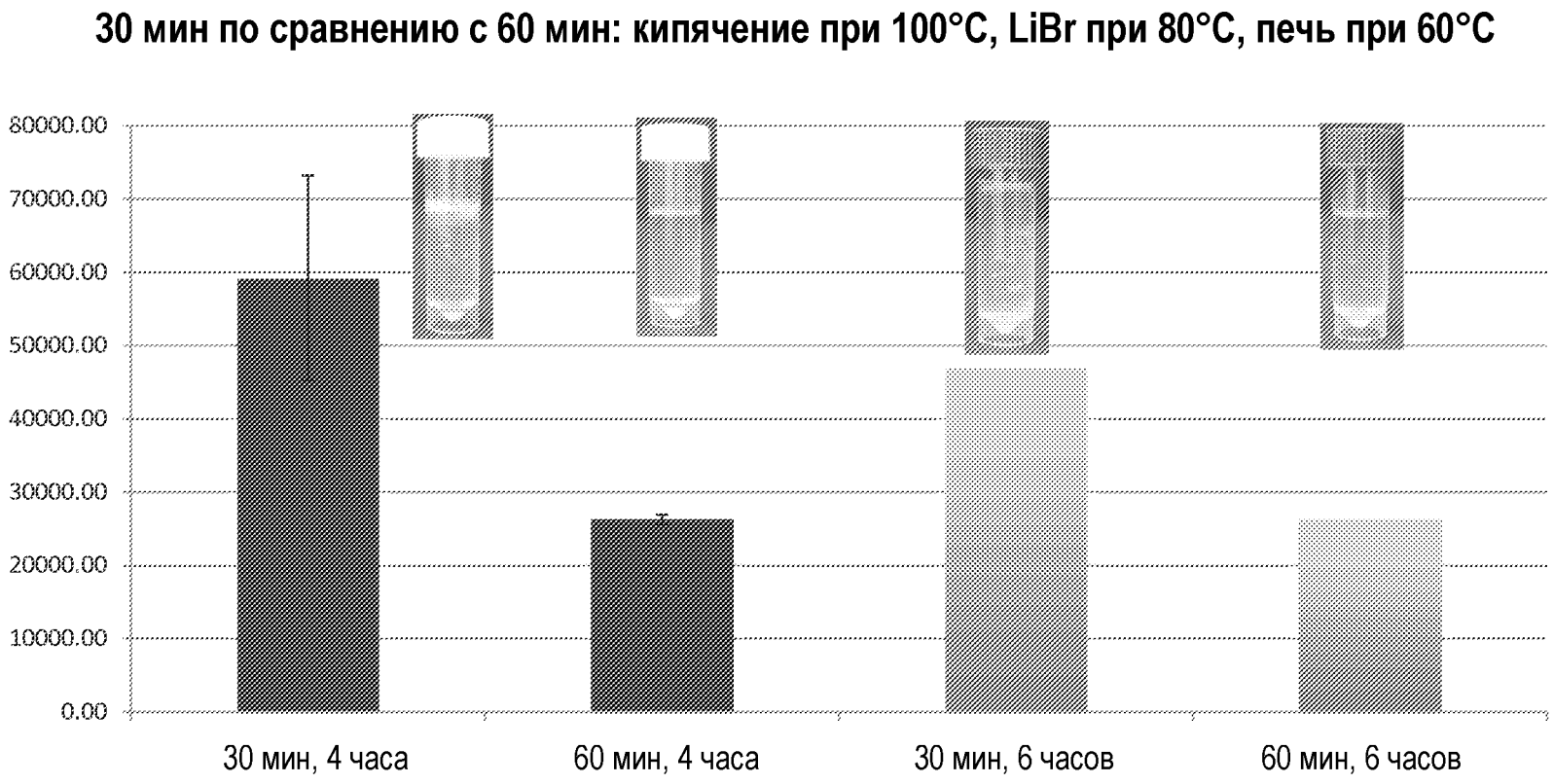

30 мин по сравнению с 60 мин: кипячение при 100°C, LiBr при 60°C, печь при 60°C
80000.00
70000.00
60000.00
50000.00
40000.00
30000.00
20000.00
10000.00
0.00
30 мин, 1 час
60 мин, 1 час
30 мин, 4 часа
60 мин, 4 часа

ФИГ. 66

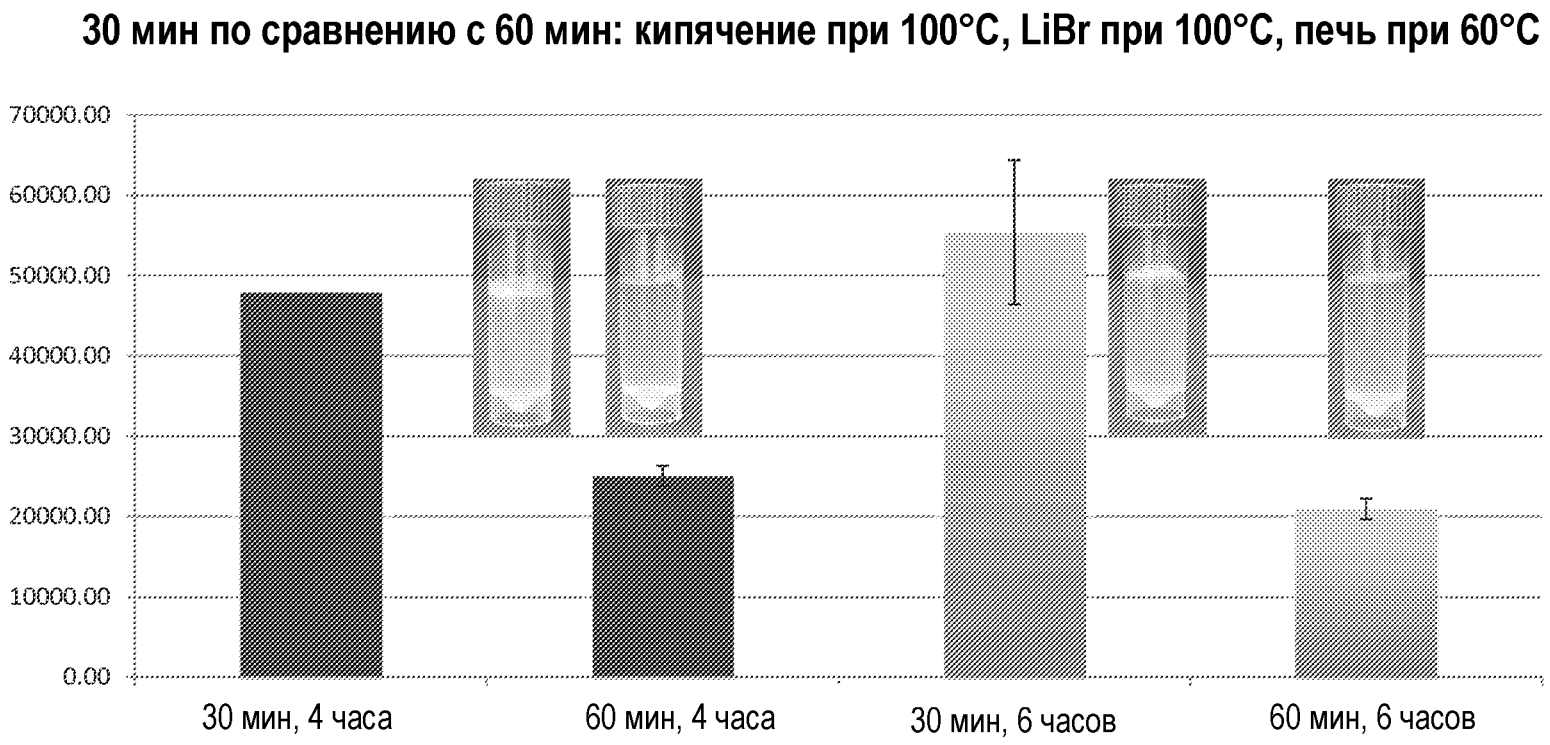
30 мин по сравнению с 60 мин: кипячение при 100°C, LiBr при 80°C, печь при 80°C



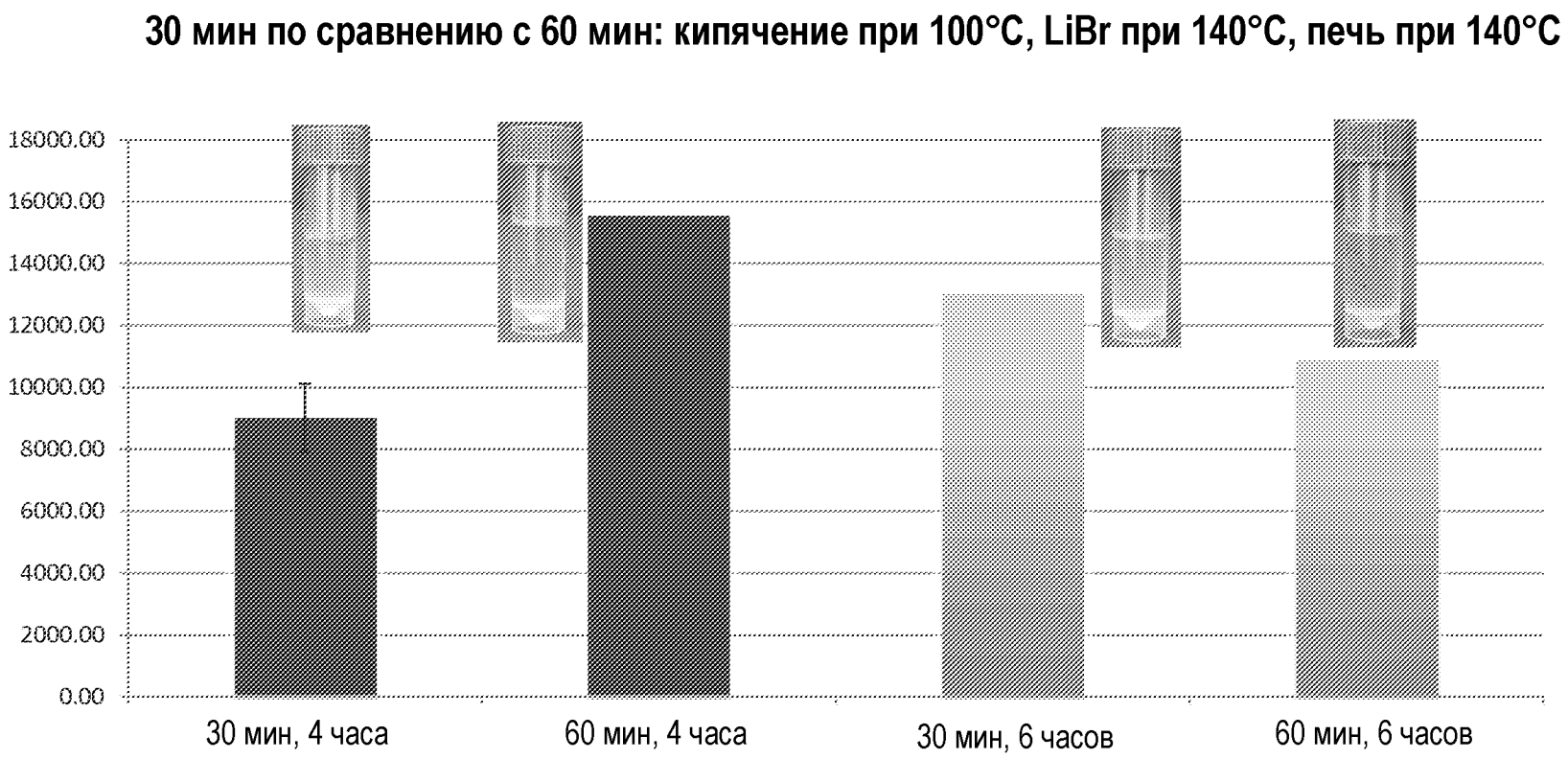
ФИГ. 67


30 мин по сравнению с 60 мин: кипячение при 100°C, LiBr при 80°C, печь при 60°C
80000.00
70000.00
60000.00
50000.00
40000.00
30000.00
20000.00
10000.00
0.00
30 мин, 4 часа
60 мин, 4 часа
30 мин, 6 часов
60 мин, 6 часов

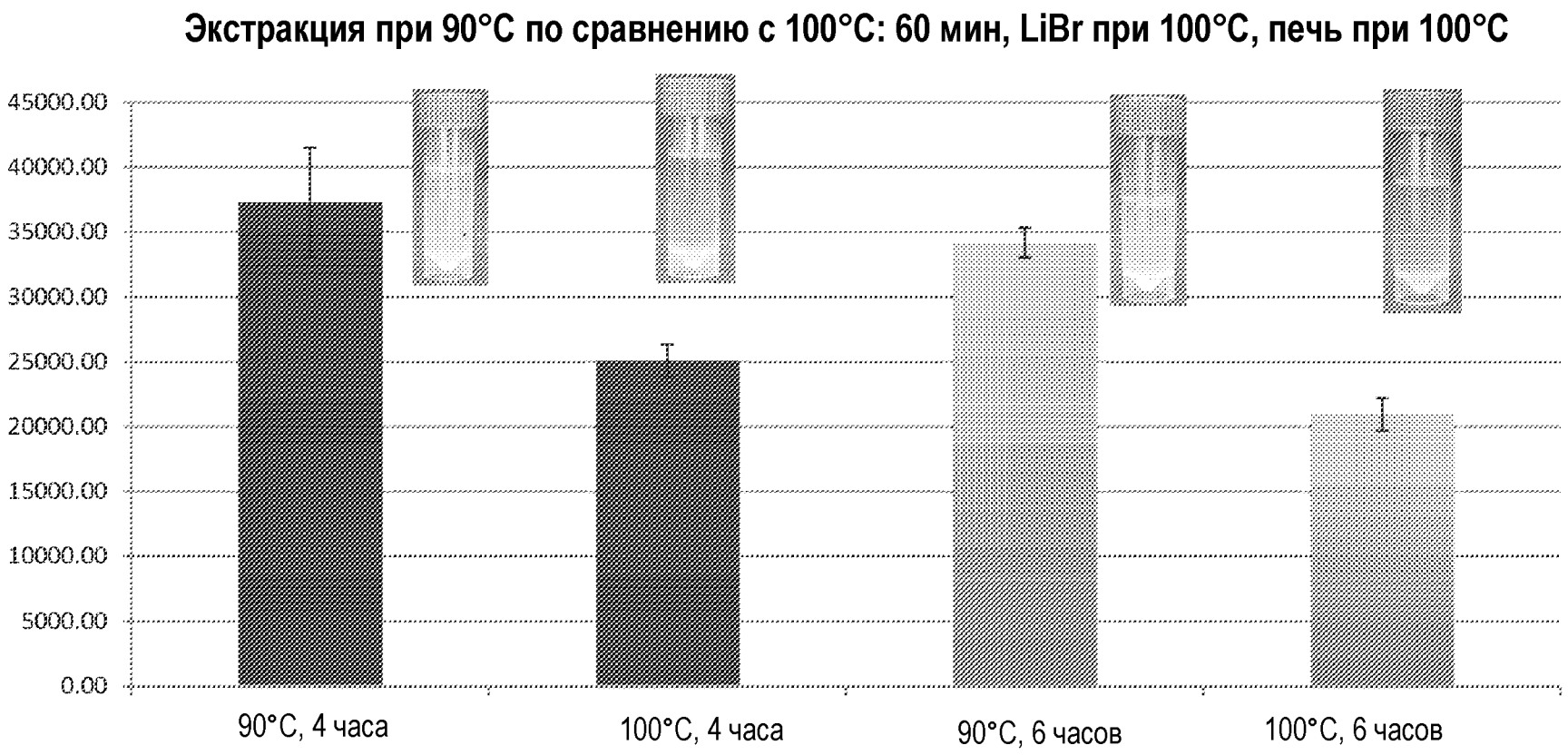
ФИГ. 68


30 мин по сравнению с 60 мин: кипячение при 100°C, LiBr при 100°C, печь при 60°C
70000.00
60000.00
50000.00
40000.00
30000.00
20000.00
10000.00
0.00
30 мин, 4 часа
60 мин, 4 часа
30 мин, 6 часов
60 мин, 6 часов

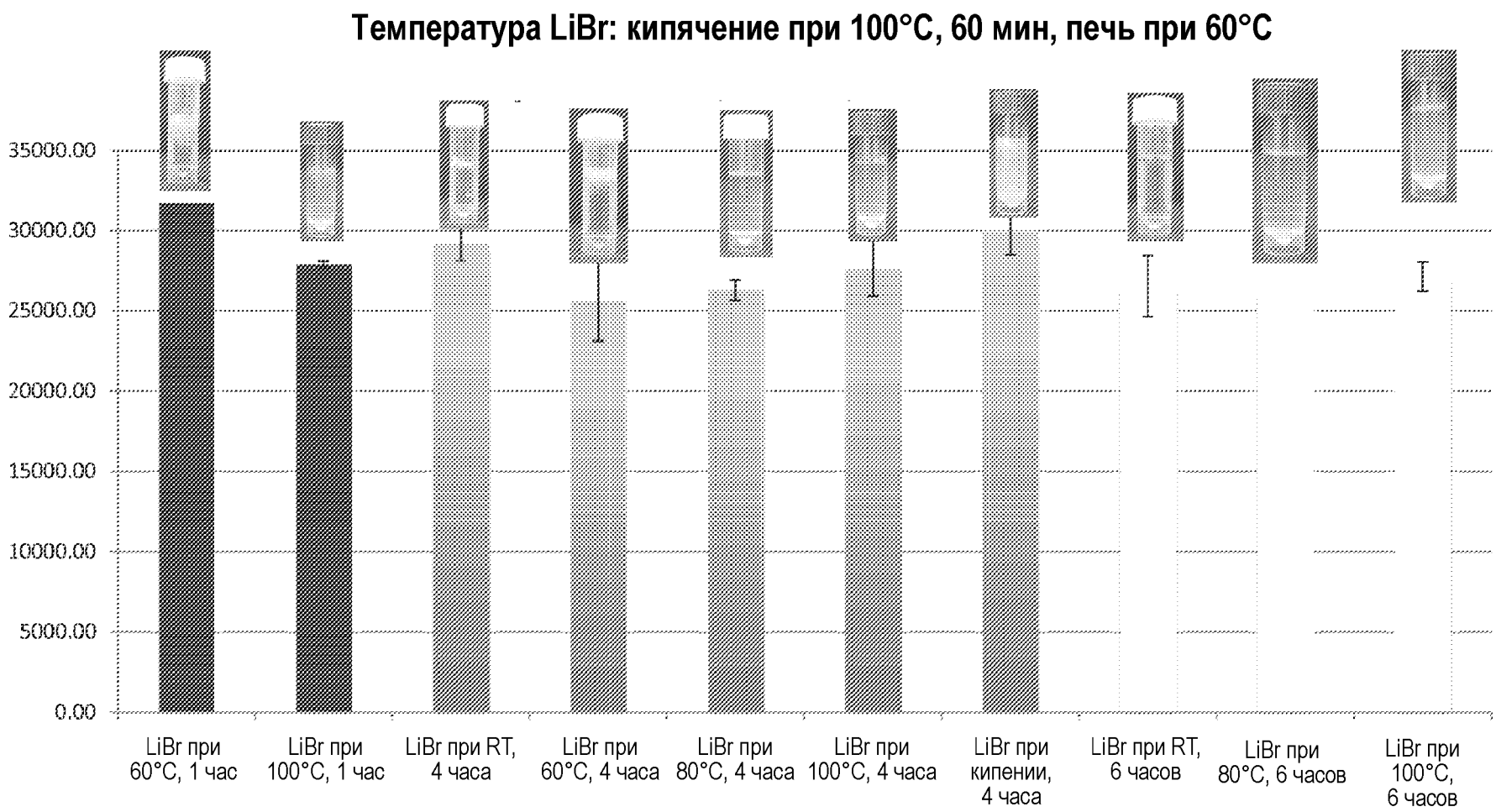
ФИГ. 69


30 мин по сравнению с 60 мин: кипячение при 100°C, LiBr при 140°C, печь при 140°C
18000.00
16000.00
14000.00
12000.00
10000.00
8000.00
6000.00
4000.00
2000.00
0.00
30 мин, 4 часа
60 мин, 4 часа
30 мин, 6 часов
60 мин, 6 часов

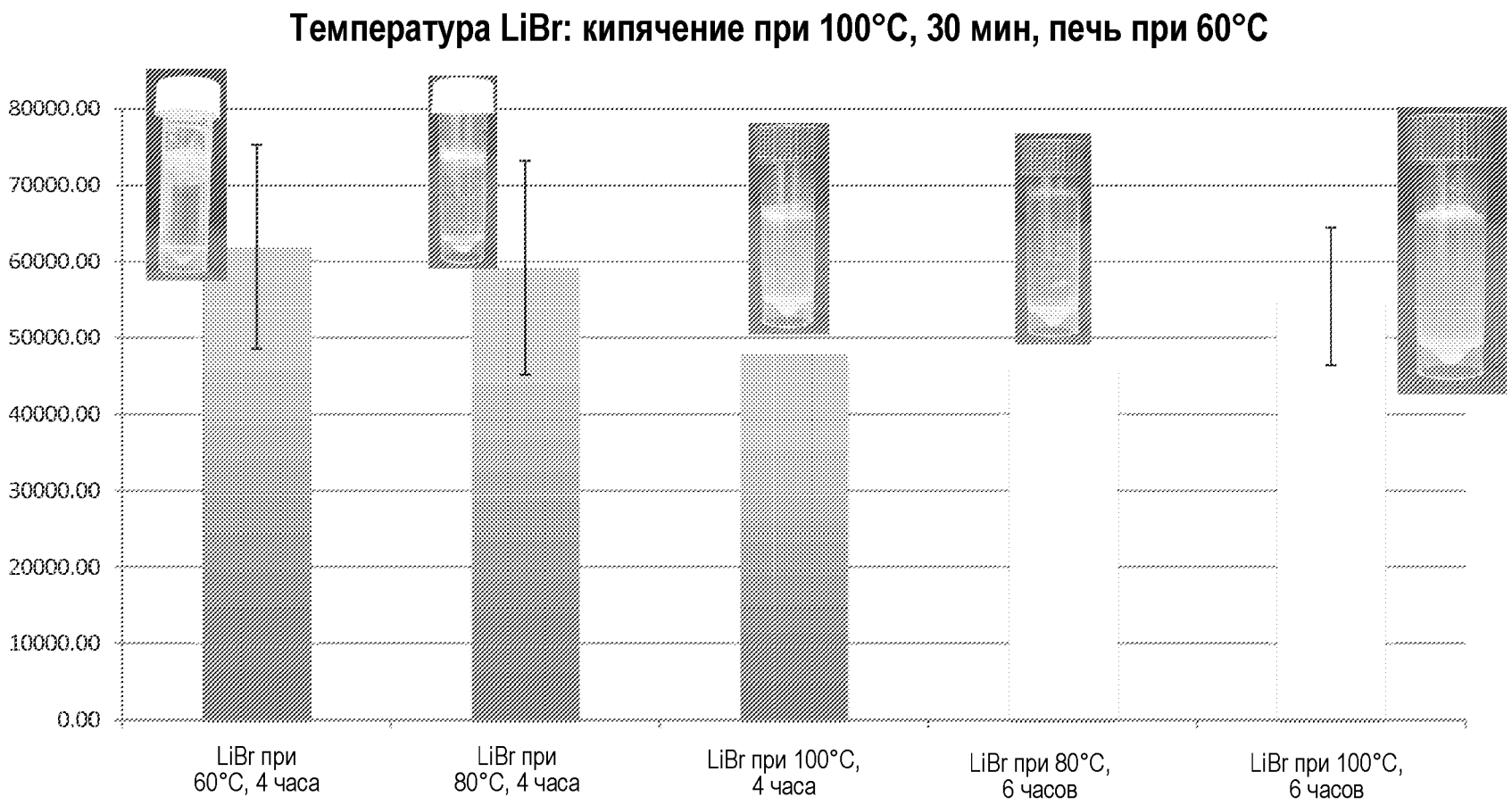
ФИГ. 70


Экстракция при 90°C по сравнению с 100°C: 60 мин, LiBr при 100°C, печь при 100°C
45000.00
40000.00
35000.00
30000.00
25000.00
20000.00
15000.00
10000.00
5000.00
0.00
90°C, 4 часа
100°C, 4 часа
90°C, 6 часов
100°C, 6 часов

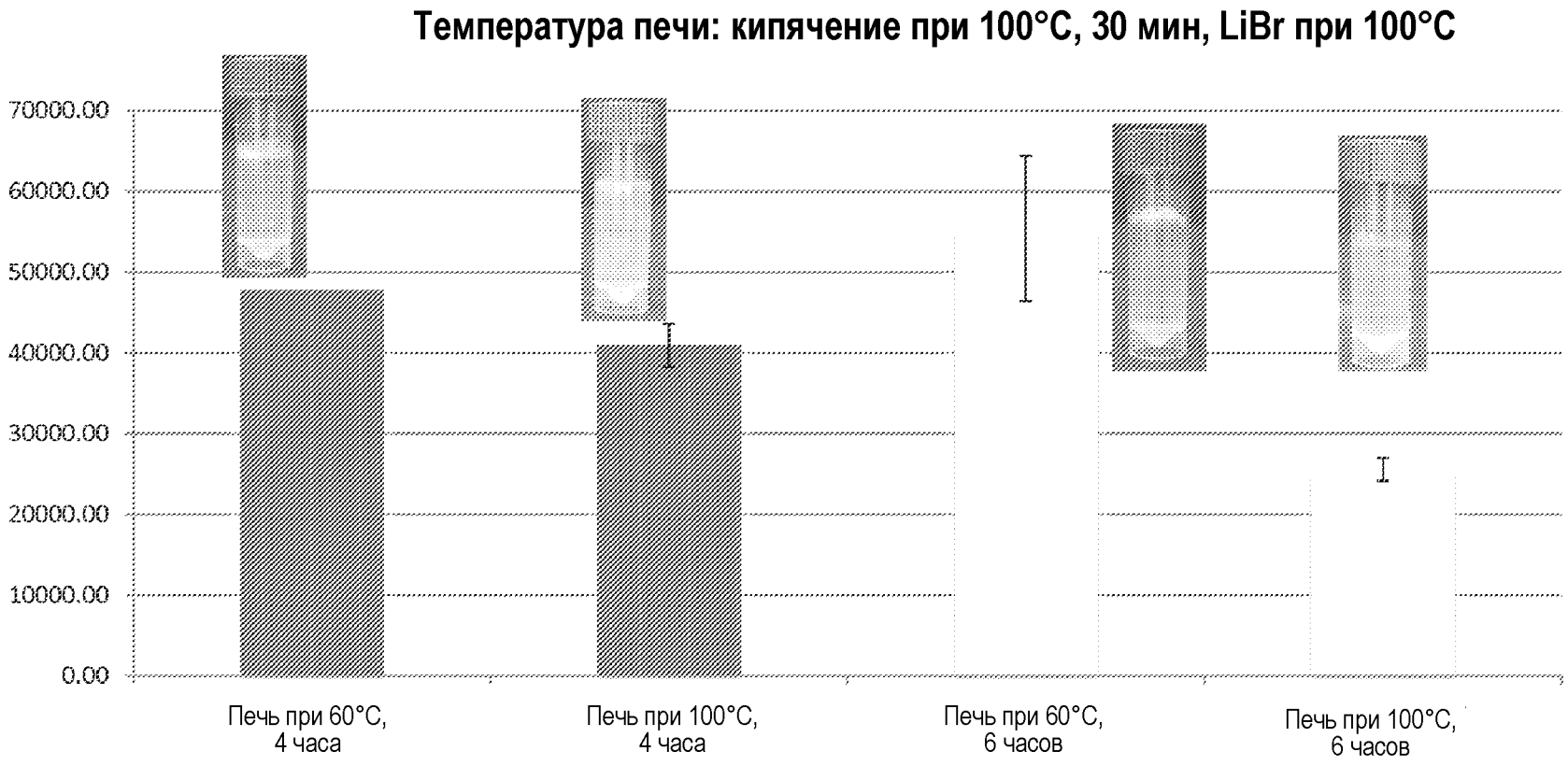
ФИГ. 71


Температура LiBr: кипячение при 100°C, 60 мин, печь при 60°C
35000.00
30000.00
25000.00
20000.00
15000.00
10000.00
5000.00
0.00
LiBr при 60°C, 1 час
LiBr при 100°C, 1 час
LiBr при RT, 4 часа
LiBr при 60°C, 4 часа
LiBr при 80°C, 4 часа
LiBr при 100°C, 4 часа
LiBr при кипении, 4 часа
LiBr при RT, 6 часов
LiBr при 80°C, 6 часов
LiBr при 100°C, 6 часов

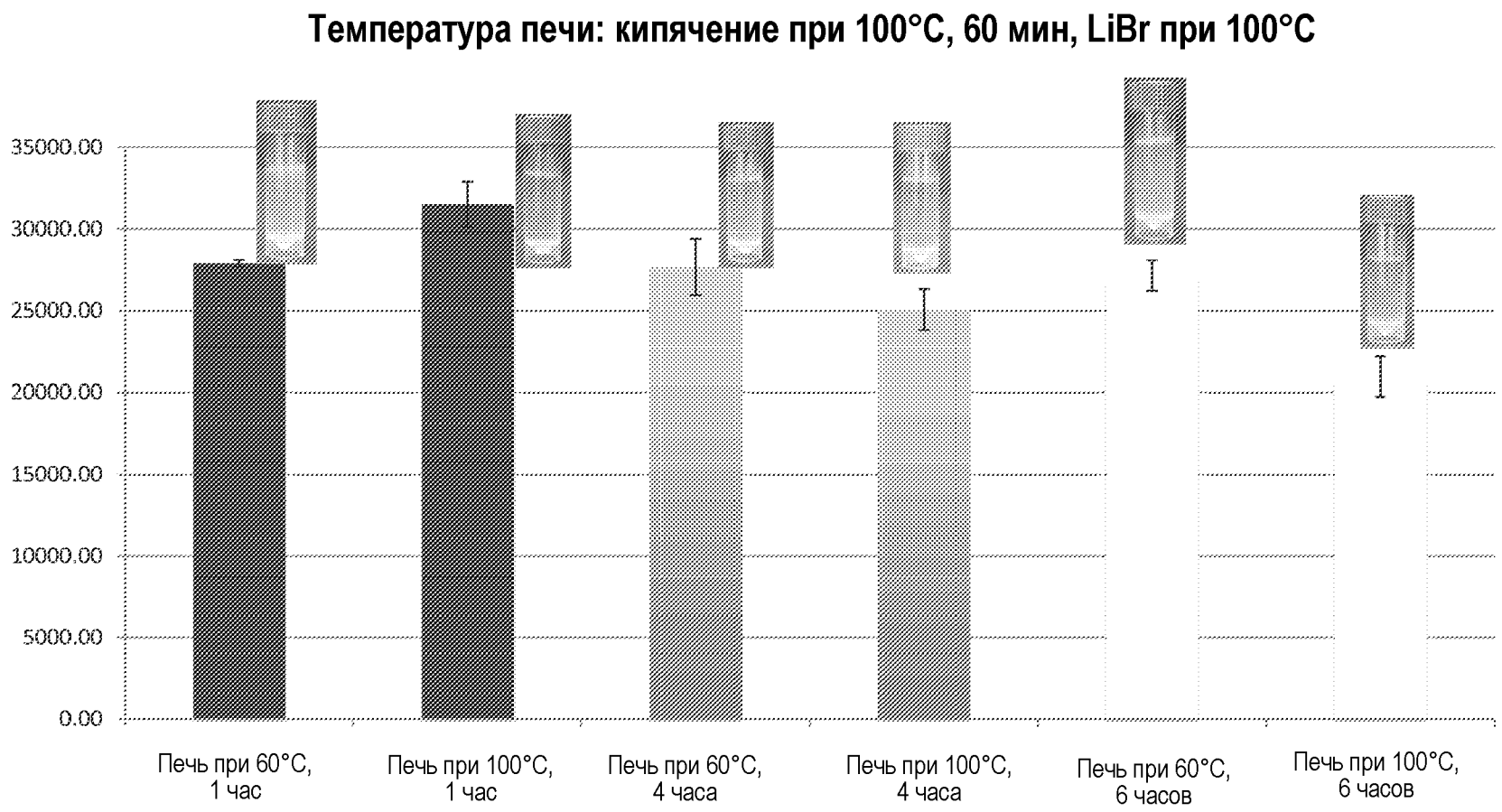
ФИГ. 72


Температура LiBr: кипячение при 100°C, 30 мин, печь при 60°C
80000.00
70000.00
60000.00
50000.00
40000.00
30000.00
20000.00
10000.00
0.00
LiBr при 60°C, 4 часа
LiBr при 80°C, 4 часа
LiBr при 100°C, 4 часа
LiBr при 80°C, 6 часов
LiBr при 100°C, 6 часов

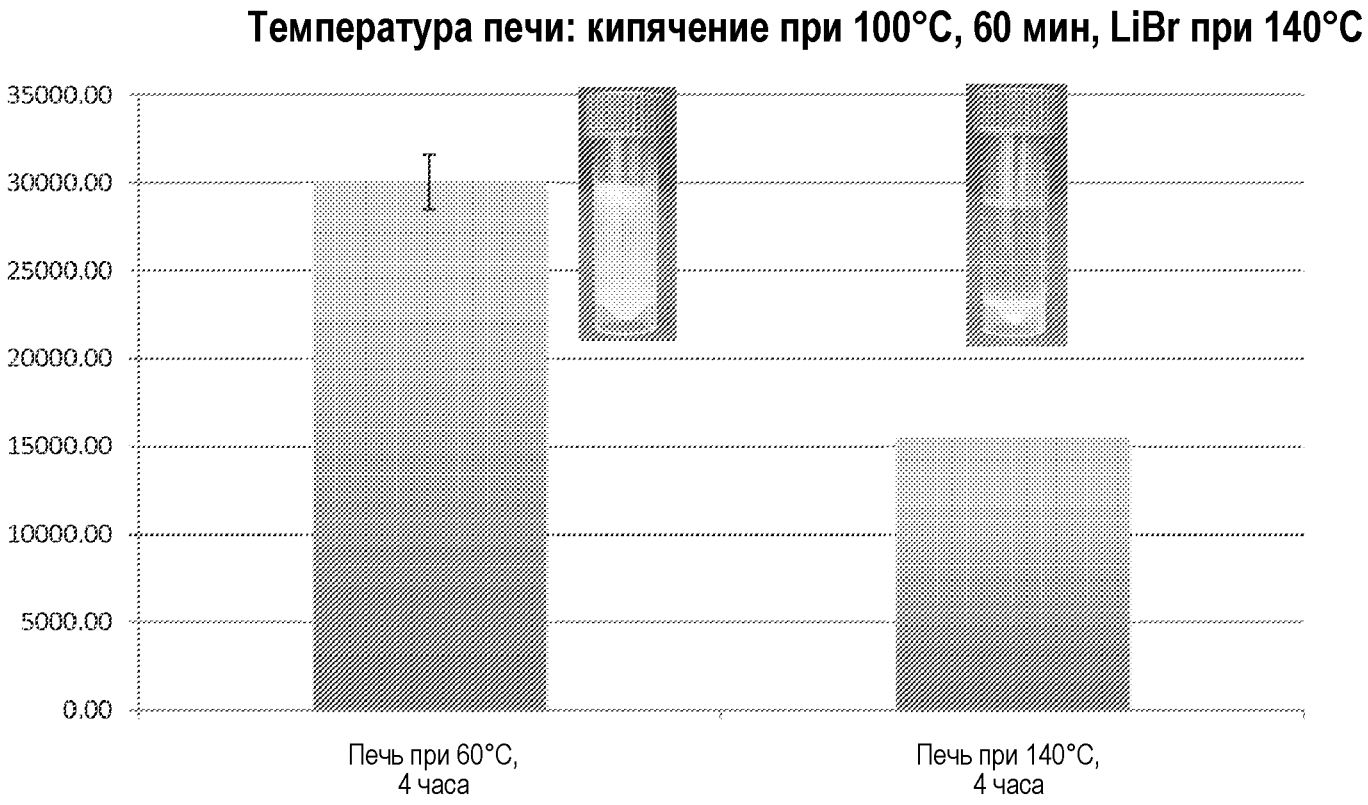
ФИГ. 73


Температура печи: кипячение при 100°C, 30 мин, LiBr при 100°C
70000.00
60000.00
50000.00
40000.00
30000.00
20000.00
10000.00
0.00
Печь при 60°C, 4 часа
Печь при 100°C, 4 часа
Печь при 60°C, 6 часов
Печь при 100°C, 6 часов

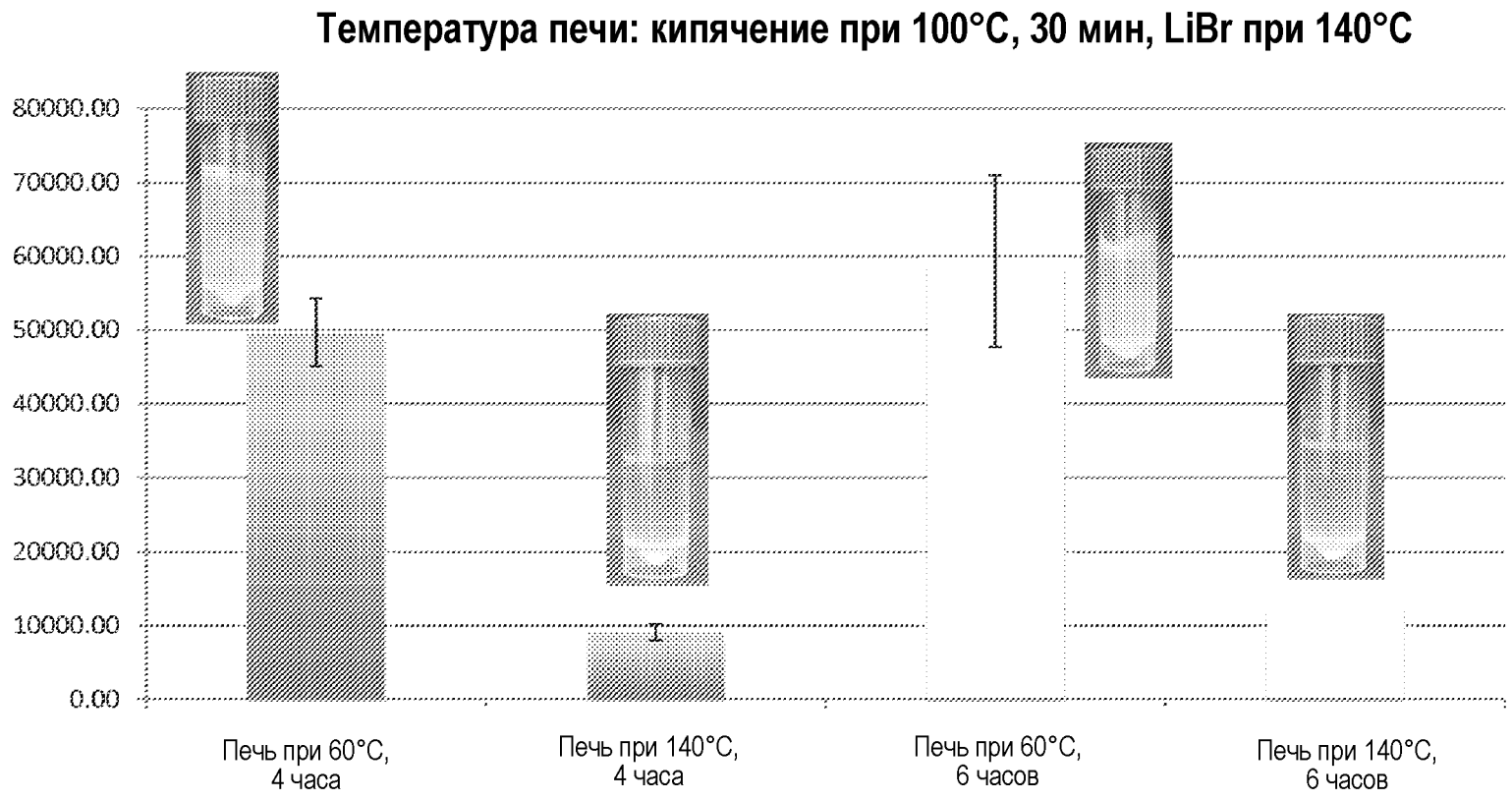
ФИГ. 74


Температура печи: кипячение при 100°C, 60 мин, LiBr при 100°C
35000.00
30000.00
25000.00
20000.00
15000.00
10000.00
5000.00
0.00
Печь при 60°C, 1 час
Печь при 100°C, 1 час
Печь при 60°C, 4 часа
Печь при 100°C, 4 часа
Печь при 60°C, 6 часов
Печь при 100°C, 6 часов

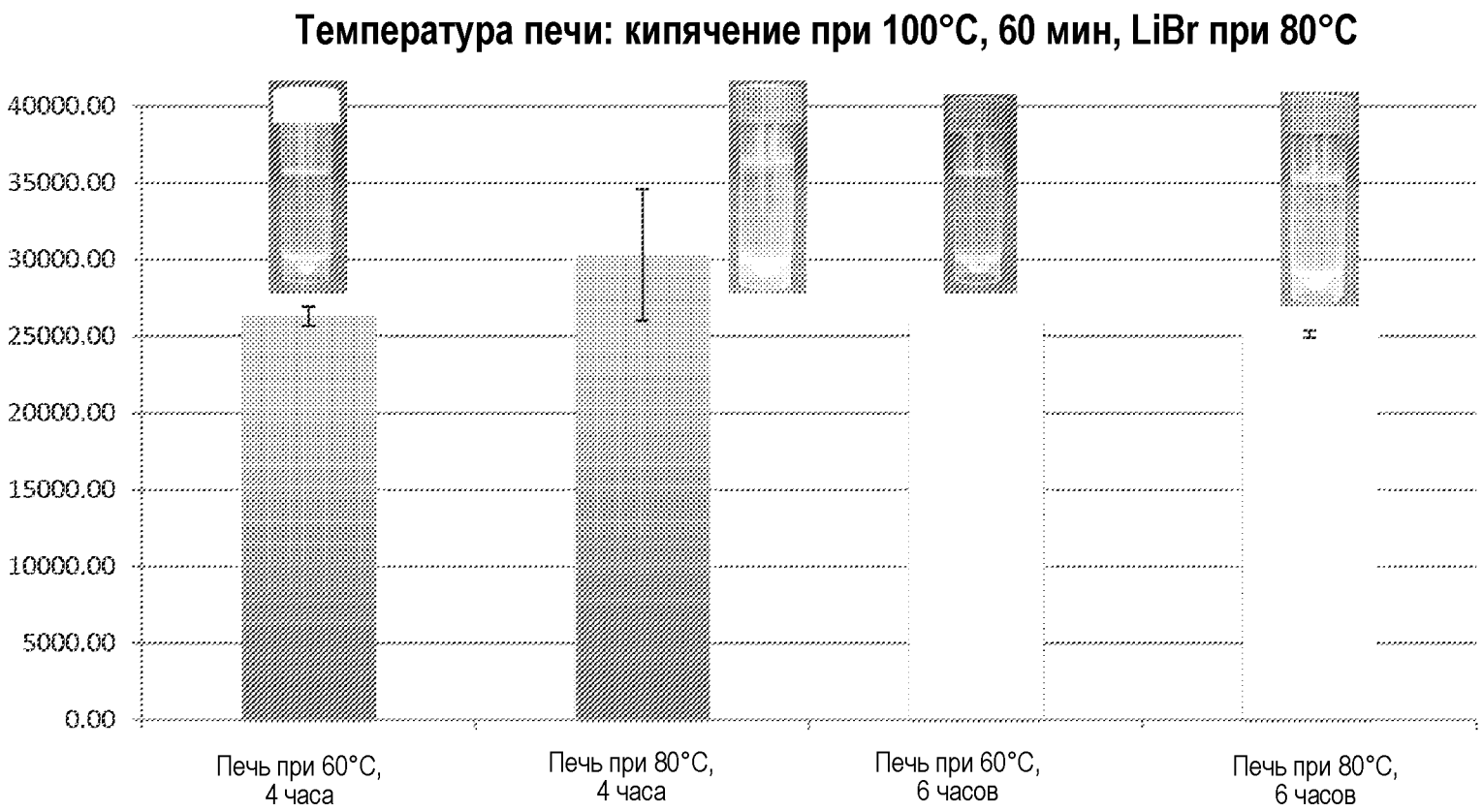
ФИГ. 75


Температура печи: кипячение при 100°C, 60 мин, LiBr при 140°C
35000.00
30000.00
25000.00
20000.00
15000.00
10000.00
5000.00
0.00
Печь при 60°C, 4 часа
Печь при 140°C, 4 часа

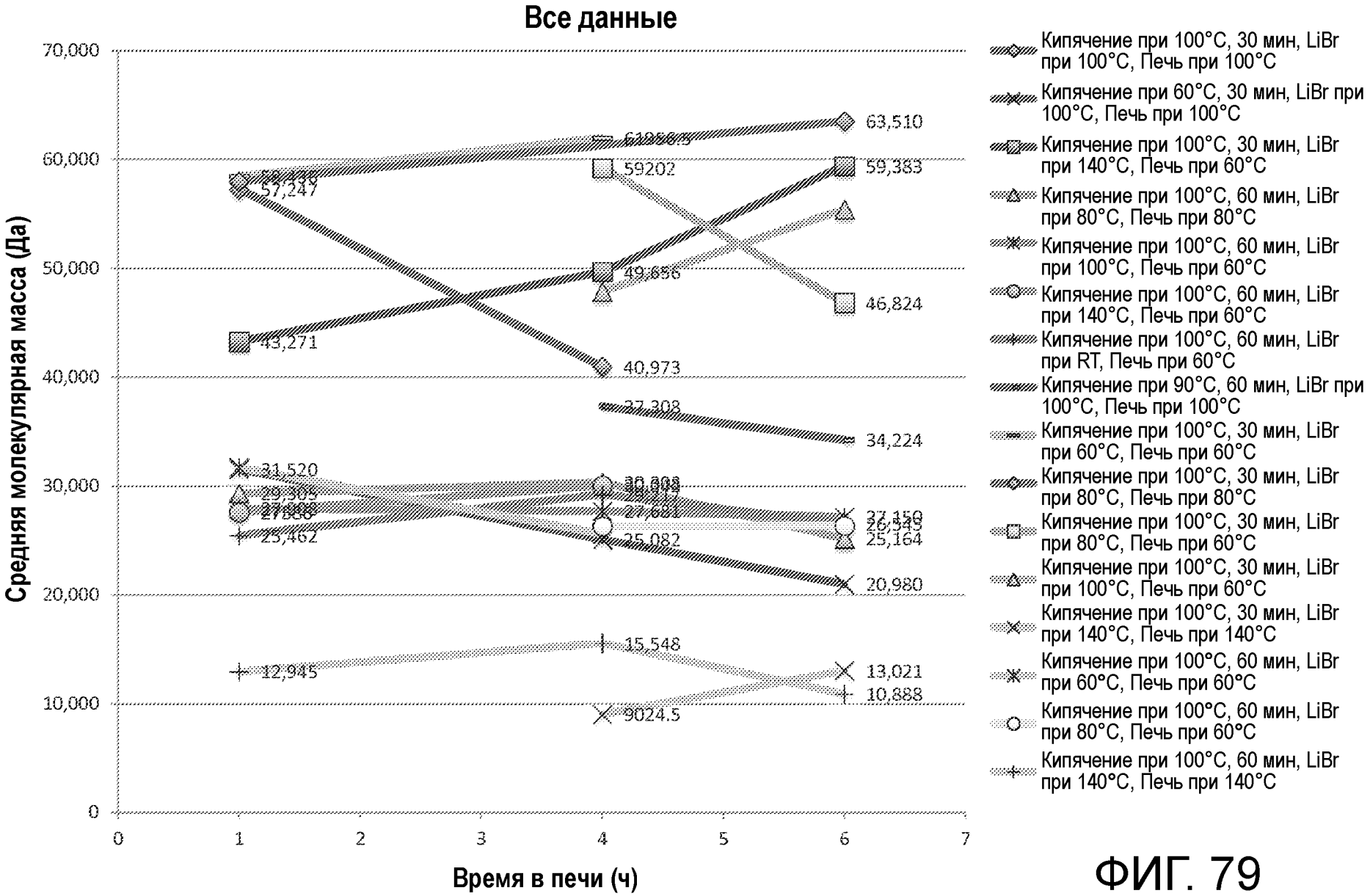
ФИГ. 76


Температура печи: кипячение при 100°C, 30 мин, LiBr при 140°C
80000.00
70000.00
60000.00
50000.00
40000.00
30000.00
20000.00
10000.00
0.00
Печь при 60°C, 4 часа
Печь при 140°C, 4 часа
Печь при 60°C, 6 часов
Печь при 140°C, 6 часов

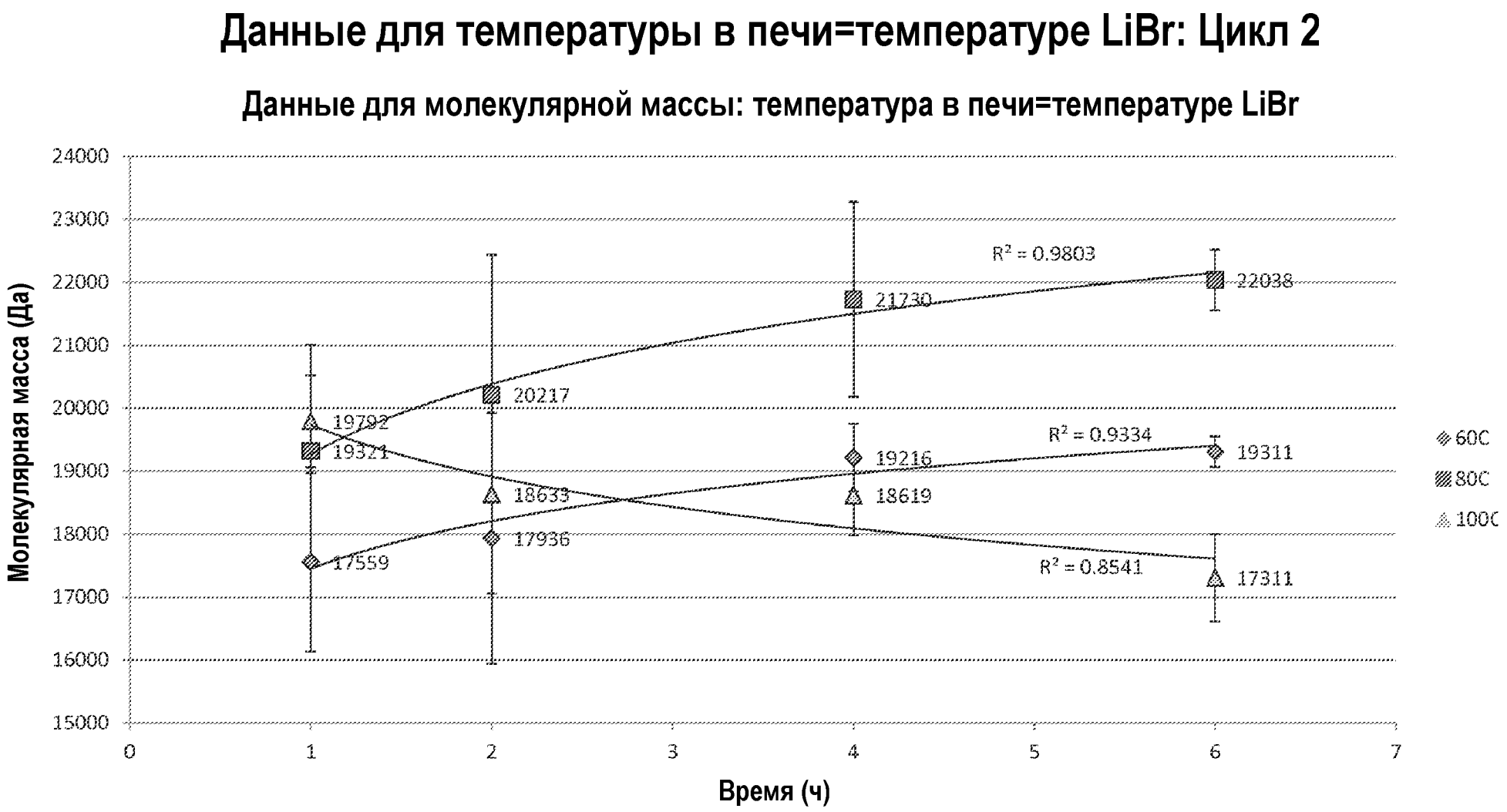
ФИГ. 77


Температура печи: кипячение при 100°C, 60 мин, LiBr при 80°C
40000.00
35000.00
30000.00
25000.00
20000.00
15000.00
10000.00
5000.00
0.00
Печь при 60°C, 4 часа
Печь при 80°C, 4 часа
Печь при 60°C, 6 часов
Печь при 80°C, 6 часов

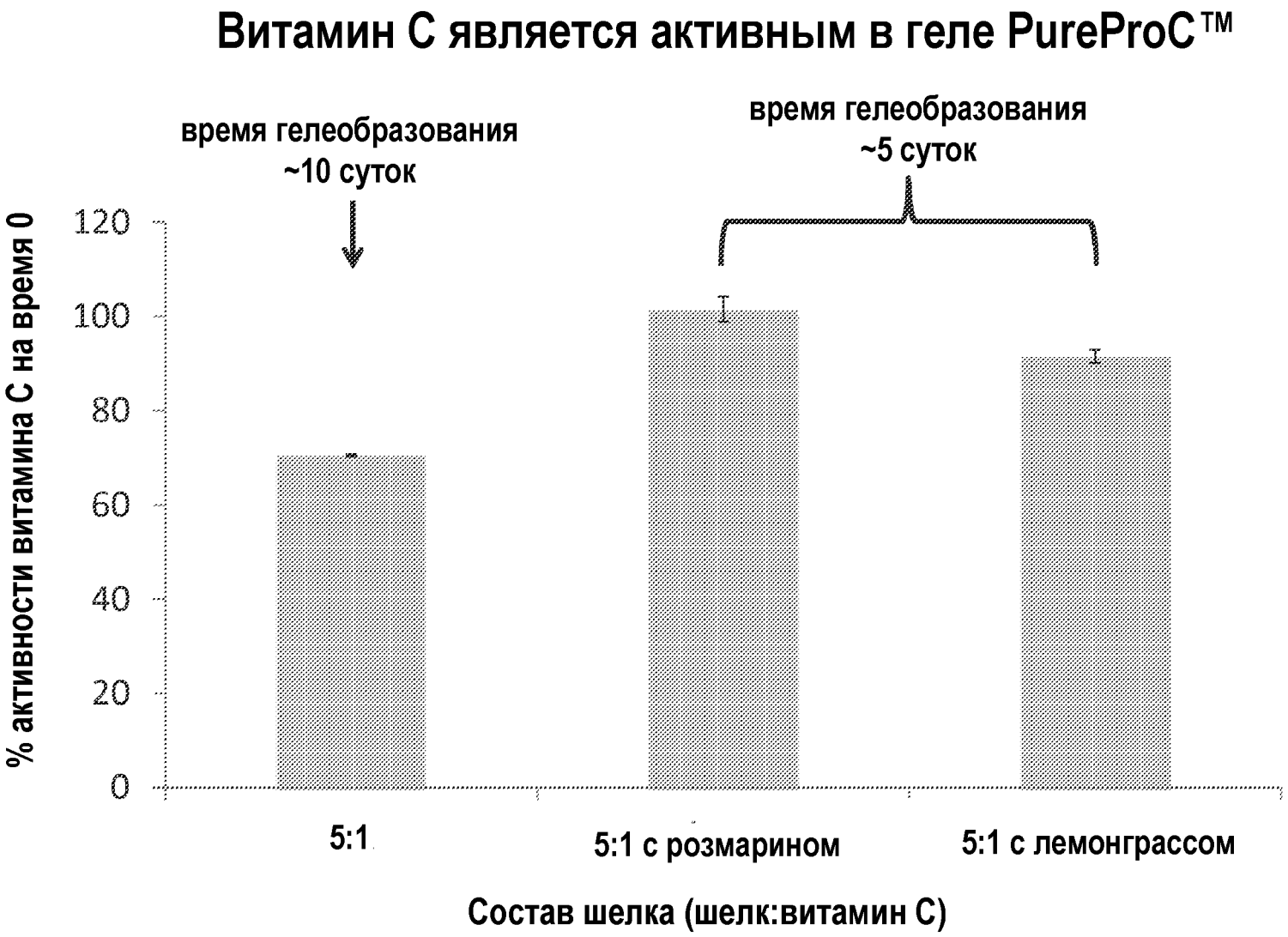
ФИГ. 78


Все данные
Средняя молекулярная масса (Да)
Время в печи (ч)
70,000
60,000
50,000
40,000
30,000
20,000
10,000
0
0
1
2
3
4
5
6
7
63,510
59202
59,383
57,247
49,656
46,824
43,271
40,973
37,308
34,224
31,520
29,305
27,681
27,150
26,545
25,164
25,082
23,462
20,980
15,548
12,945
13,021
10,888
9024.5
Кипячение при 100°C, 30 мин, LiBr при 100°C, Печь при 100°C
Кипячение при 60°C, 30 мин, LiBr при 100°C, Печь при 100°C
Кипячение при 100°C, 30 мин, LiBr при 140°C, Печь при 60°C
Кипячение при 100°C, 60 мин, LiBr при 80°C, Печь при 80°C
Кипячение при 100°C, 60 мин, LiBr при 100°C, Печь при 60°C
Кипячение при 100°C, 60 мин, LiBr при 140°C, Печь при 60°C
Кипячение при 100°C, 60 мин, LiBr при RT, Печь при 60°C
Кипячение при 90°C, 60 мин, LiBr при 100°C, Печь при 100°C
Кипячение при 100°C, 30 мин, LiBr при 60°C, Печь при 60°C
Кипячение при 100°C, 30 мин, LiBr при 80°C, Печь при 80°C
Кипячение при 100°C, 30 мин, LiBr при 80°C, Печь при 60°C
Кипячение при 100°C, 30 мин, LiBr при 100°C, Печь при 60°C
Кипячение при 100°C, 30 мин, LiBr при 140°C, Печь при 140°C
Кипячение при 100°C, 60 мин, LiBr при 60°C, Печь при 60°C
Кипячение при 100°C, 60 мин, LiBr при 80°C, Печь при 60°C
Кипячение при 100°C, 60 мин, LiBr при 140°C, Печь при 140°C

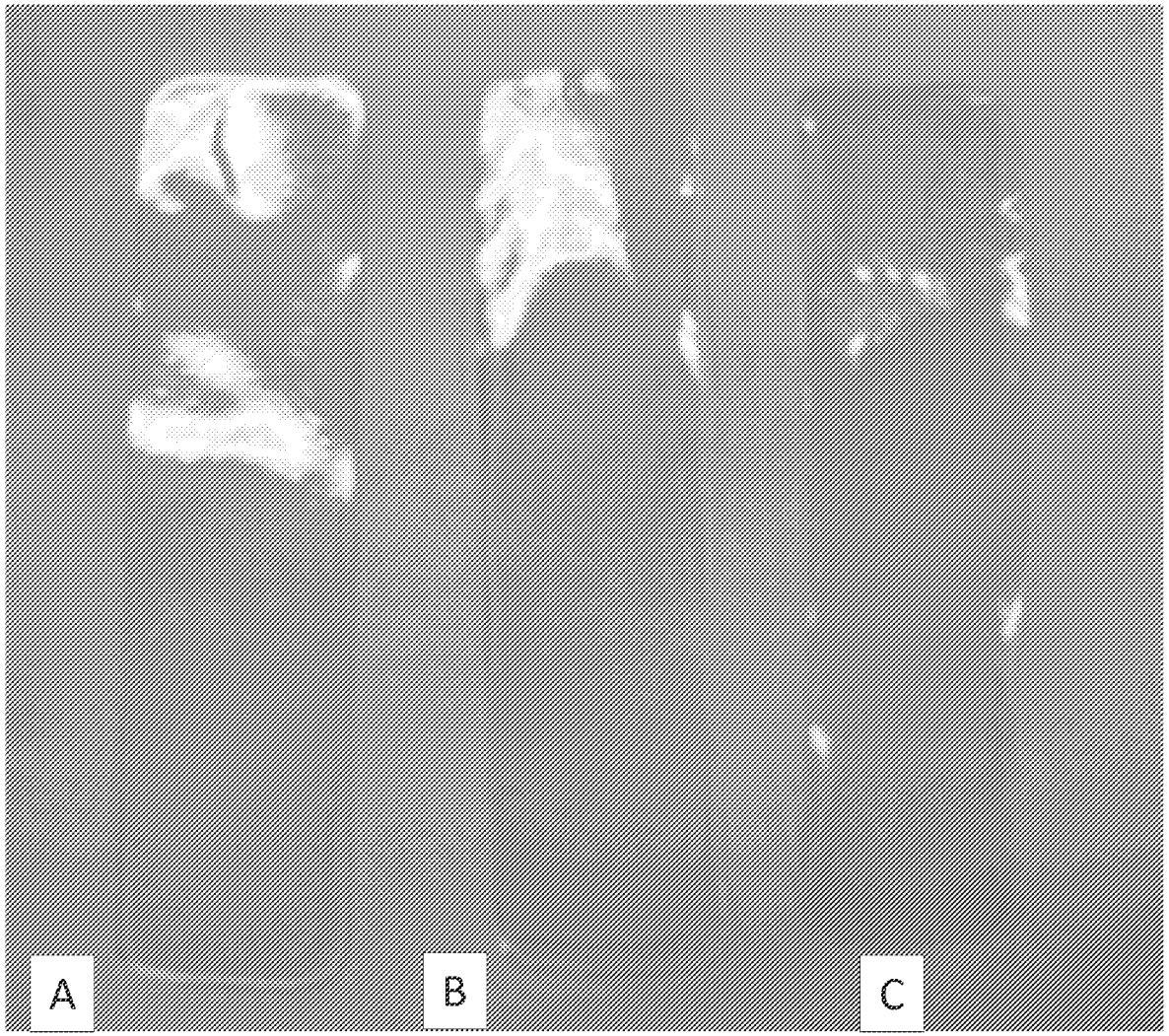
ФИГ. 79


Данные для температуры в печи=температуре LiBr: Цикл 2
Данные для молекулярной массы: температура в печи=температуре LiBr
Молекулярная масса (Да)
24000
23000
22000
21000
20000
19000
18000
17000
16000
15000
0
1
2
3
4
5
6
7
Время (ч)
R² = 0.9803
R² = 0.9334
R² = 0.8541
22038
21730
20217
19792
19321
19216
19311
18633
18619
17936
17559
17311
60C
80C
100C

ФИГ. 80

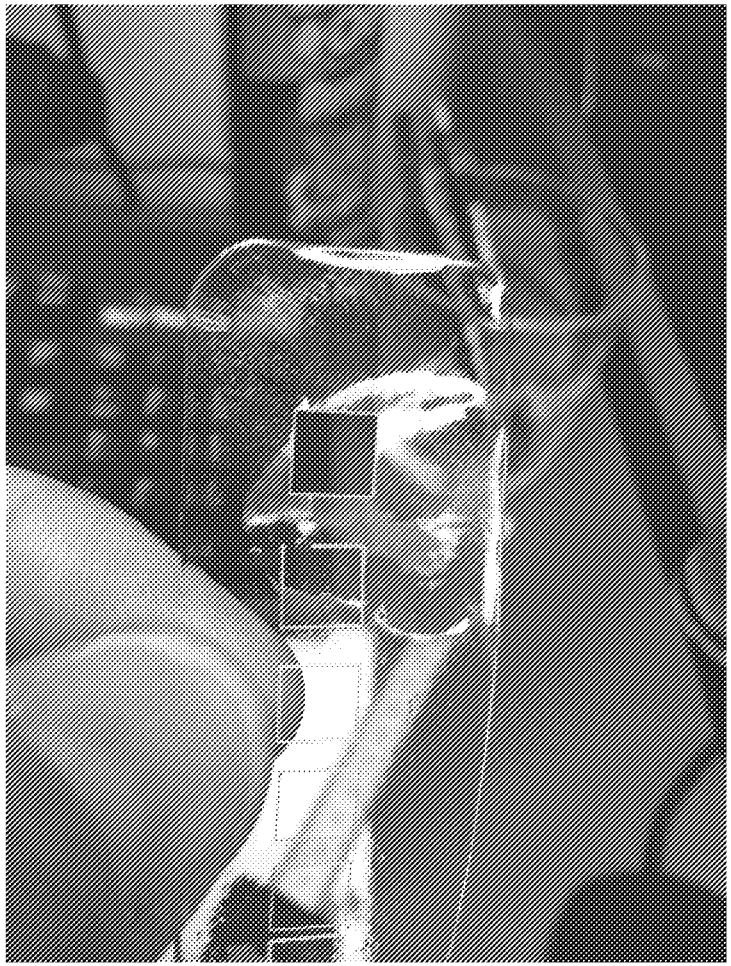

Витамин С является активным в геле PureProC™
время гелеобразования
~10 суток
время гелеобразования
~5 суток
% активности витамина С на время 0
120
100
80
60
40
20
0
5:1
5:1 с розмарином
5:1 с лемонграссом
Состав шелка (шелк:витамин С)

ФИГ. 81

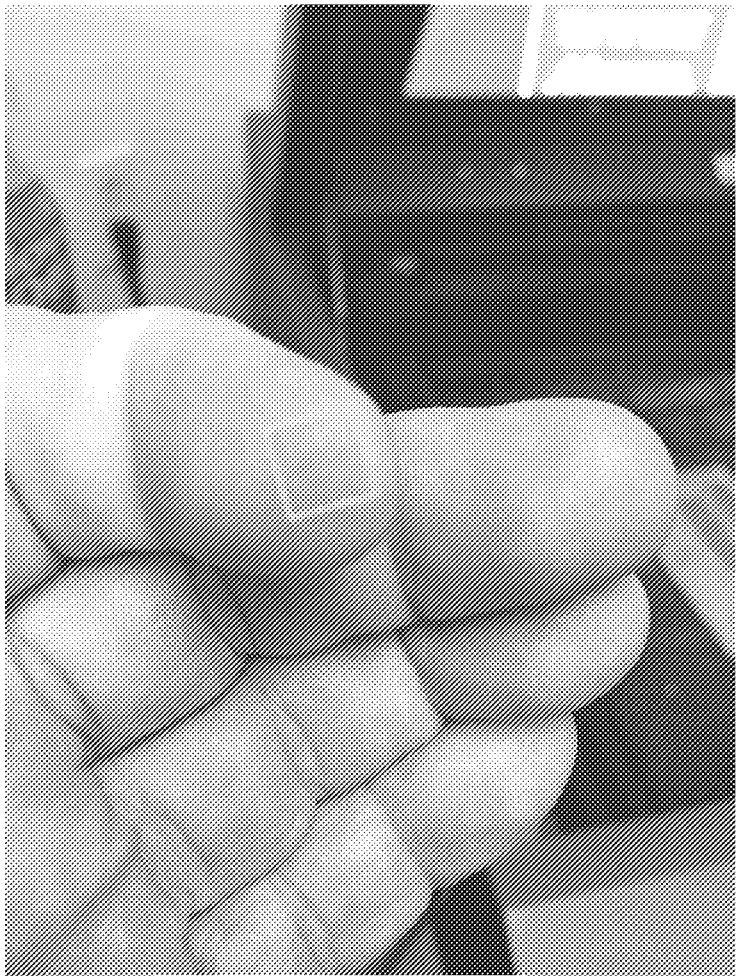


ФИГ. 82A-82C

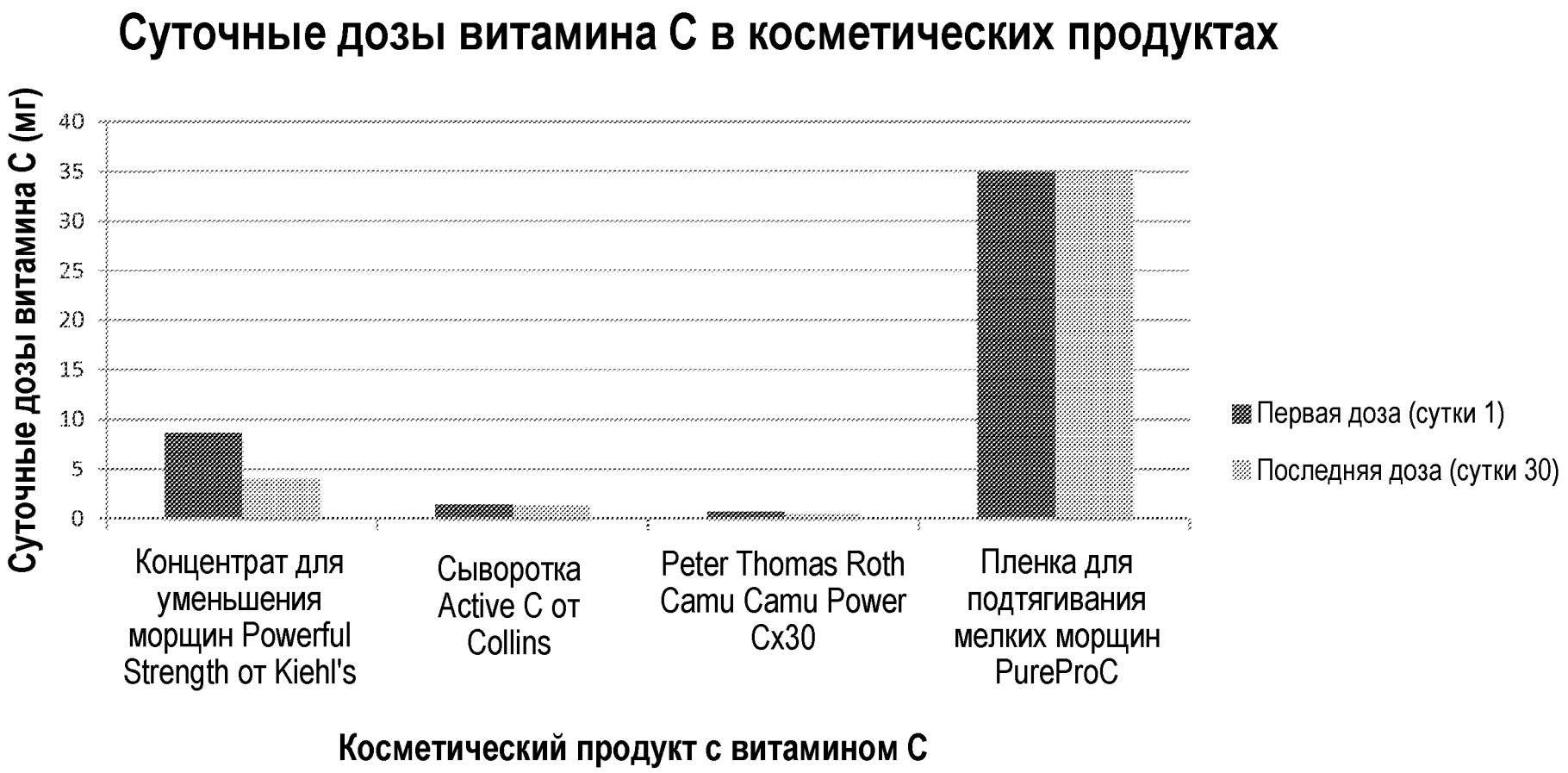
Нарезка с помощью лазера для эффективности и придания формы



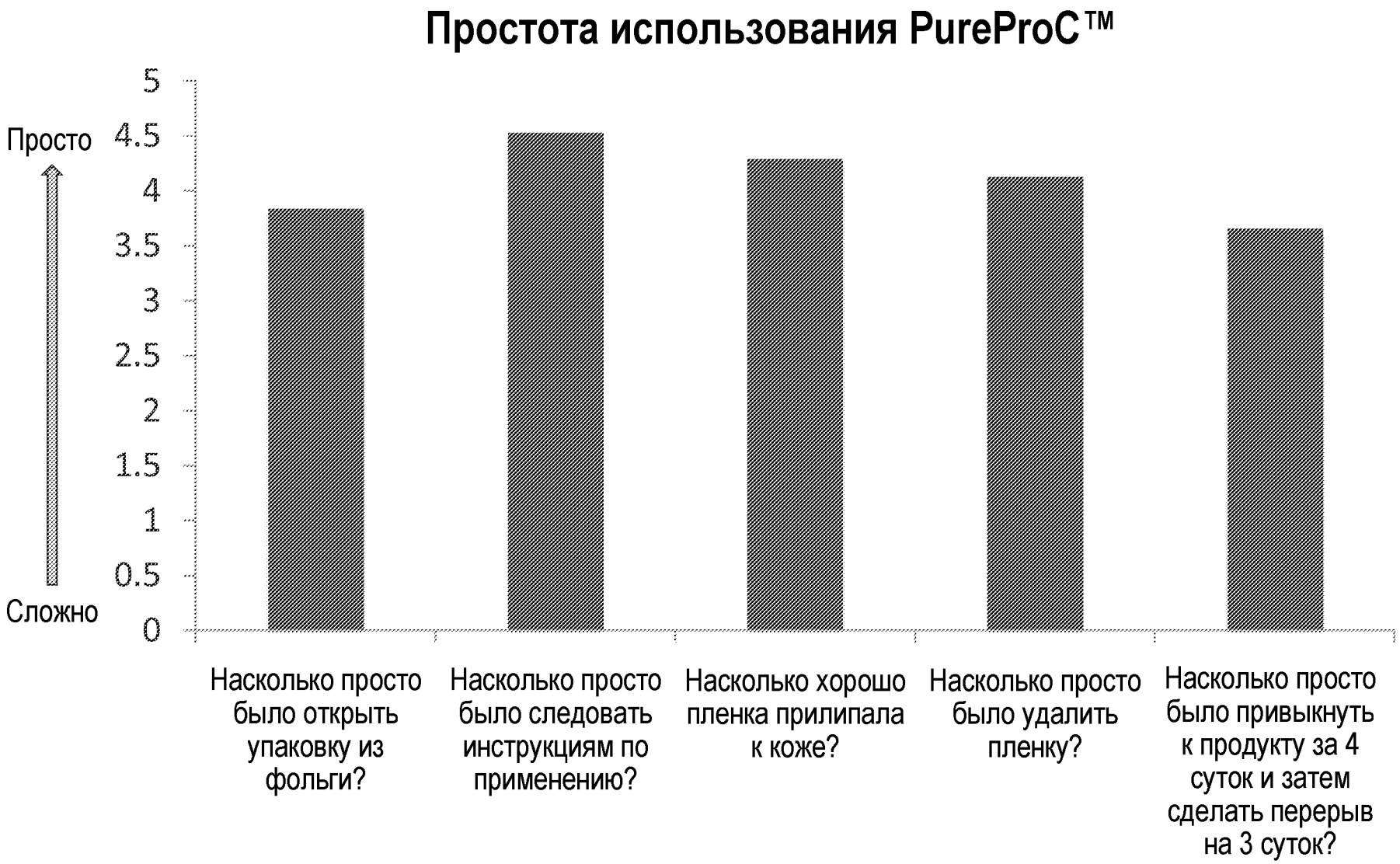
ФИГ. 83A



ФИГ. 83B


Суточные дозы витамина С в косметических продуктах
Суточные дозы витамина С (мг)
40
35
30
25
20
15
10
5
0
Концентрат для уменьшения морщин Powerful Strength от Kiehl's
Сыворотка Active C от Collins
Peter Thomas Roth Camu Camu Power Cx30
Пленка для подтягивания мелких морщин PureProC
Первая доза (сутки 1)
Последняя доза (сутки 30)
Косметический продукт с витамином С

ФИГ. 84

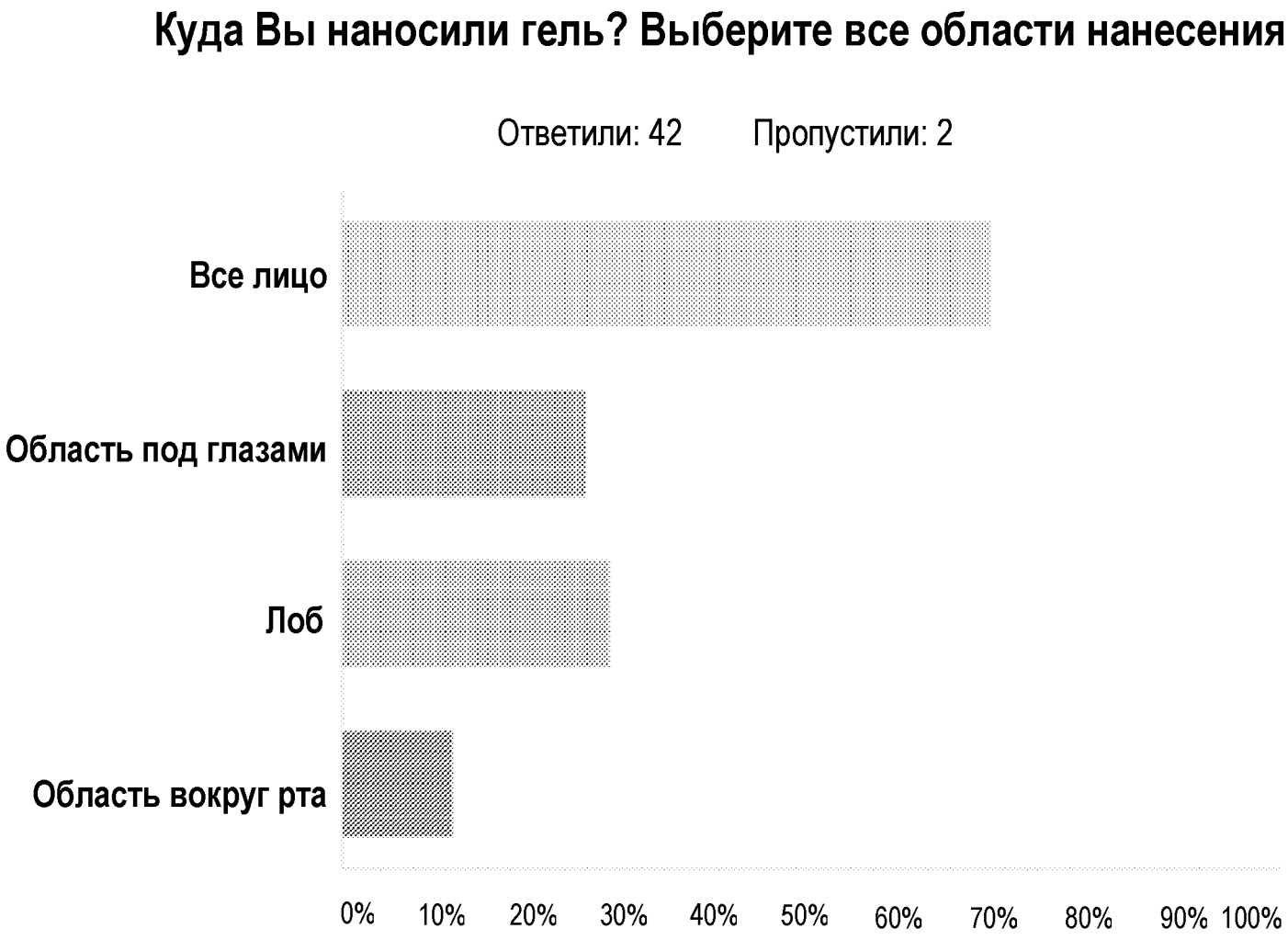

Простота использования PureProC™
Просто
Сложно
5
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
Насколько просто было открыть упаковку из фольги?
Насколько просто было следовать инструкциям по применению?
Насколько хорошо пленка прилипала к коже?
Насколько просто было удалить пленку?
Насколько просто было привыкнуть к продукту за 4 суток и затем сделать перерыв на 3 суток?

ФИГ. 85

- Видимые преимущества от использования витамина С на коже, наиболее распространенные после 3-6 месяцев непрерывного использования
  - Клетки на поверхности кожи заменяются клетками из глубины дермы приблизительно раз в каждые 28 суток
  - В клинической литературе показано, что преимущества витамина С являются аддитивными для каждого дополнительного месяца использования, поскольку кожа непрерывно подвергается воздействию витамина С, и клетки многократно заменяются, позволяя развитие нового коллагена и постепенное заполнение мелких морщин
- Некоторые пользователи наблюдали начальные преимущества лучших ощущений на их коже после одного месяца использования – более длительное использование может далее улучшать наблюдаемые преимущества
- Комментарии пользователей:

После 1 месяца использования:	Согласен	Не уверен	Не согласен
Я испытываю лучшие ощущения на коже	63%	21%	16%
Я испытываю ощущения укрепления кожи	53%	34%	13%
Моя кожа выглядит более яркой	25%	53%	22%
Моя кожа выглядит более ровной	25%	47%	28%

ФИГ. 86


Куда Вы наносили гель? Выберите все области нанесения.
Ответили: 42
Пропустили: 2
Все лицо
Область под глазами
Лоб
Область вокруг рта
0%
10%
20%
30%
40%
50%
60%
70%
80%
90%
100%

ФИГ. 87

Принимая во внимание только гель с лемонграссом, укажите, согласны ли Вы со следующими утверждениями относительно Вашей кожи после его использования

Ответили: 44 Пропустили: 0

	Согласен	Не согласен	Не уверен	Всего
Моя кожа выглядит более яркой	25.00% 11	13.64% 6	61.36% 27	44
Оттенок моей кожи улучшился	34.09% 15	15.91% 7	50.00% 22	44
Я испытываю ощущения более гладкой кожи	56.82% 25	13.64% 6	29.55% 13	44
Я испытываю ощущения более мягкой кожи	52.27% 23	9.09% 4	38.64% 17	44
Я испытываю лучшие ощущения на коже	50.00% 22	13.64% 6	36.36% 16	44
Текстура моей кожи улучшилась	43.18% 19	15.91% 7	40.91% 18	44

ФИГ. 88

Тип витамина С	% шелка в растворе	Объем раствора на гель (мл)	Масса витамина С на гель (мг)	% витамина С	Наименование другой добавки	Кол-во другой добавки	Примечания
Аскорбилфосфат натрия (Aromantic)	2	15	100 мг	0.67%	Лемонграс-совое масло	20 мкл	Не происходило гелеобразования
Аскорбилфосфат натрия (DSM)	2	15	100 мг	0.67%	Лемонграс-совое масло	20 мкл	Гелеобразование через ~28 суток, нормальный внешний вид геля
Аскорбилтетра-пальмитат	2	15	100 мг	0.67%	Лемонграс-совое масло	20 мкл	Аскорбилтетра-пальмитат представляет собой вязкую жидкость, которая не раствори-лась, растворы выброшены
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	2	15	100 мг	0.67%	Лемонграс-совое масло	20 мкл	Гелеобразование через 3 суток, нормальный внешний вид геля
l-аскорбиновая кислота и аскорбилфосфат натрия (DSM)	2	5	25 мг l-аскорби-новой кислоты, 25 мг аскорбил-фосфата натрия	1%	Лемонграс-совое масло	6.67 мкл	Гелеобразование через 6 суток

ФИГ. 89А

Тип витамина С	% шелка в растворе	Объем раствора на гель (мл)	Масса витамина С на гель (мг)	% витамина С	Наименование другой добавки	Кол-во другой добавки	Примечания
l-аскорбиновая кислота и 2-глюкозид аскорбиновой кислоты	2	5	500 мг l-аскорбиновой кислоты, 500 мг 2-глюкозида аскорбиновой кислоты	20%	Лемонграс-совое масло	6.67 мкл	Не происхо-дило геле-образования
l-аскорбиновая кислота и аскорбилфосфат магния	2	5	25 мг l-аскорбиновой кислоты, 25 мг аскорбилфосфата магния	1%	Лемонграс-совое масло	6.67 мкл	Гелеобразо-вание через 8 суток
2-глюкозид аскорбиновой кислоты и аскорбилфосфат натрия	2	5	25 мг 2-глюкозида аскорбиновой кислоты, 25 мг аскорбилфосфата натрия	1%	Лемонграс-совое масло	6.67 мкл	Гелеобразо-вание через 13 суток
2-глюкозид аскорбиновой кислоты и аскорбилфосфат магния	2	5	25 мг 2-глюкозида аскорбиновой кислоты, 25 мг аскорбилфосфата магния	1%	Лемонграс-совое масло	6.67 мкл	Гелеобразо-вание через 8 суток
l-аскорбиновая кислота и 2-глюкозид аскорбиновой кислоты	2	5	25 мг l-аскорбиновой кислоты, 25 мг 2-глюкозида аскорбиновой кислоты	1%	Лемонграс-совое масло	6.67 мкл	Гелеобразо-вание через 3 суток

ФИГ. 89B

Пленки:	Тип витамина С	% шелка в растворе	Раствора на форму	Площадь формы	% витамина С	Результат	Растворимость
1	Аскорбилфосфат натрия (DSM)	2.2	1,56 мл	5,06 см^2	40	белая/непрозрачная, подобная пластику на ощупь, с текстурированной (бугристой) верхней поверхностью	растворимая с нерастворимым краем, некоторое количество небольших нерастворимых кусков
2	Аскорбилфосфат магния	2.2	1,56 мл	5,06 см^2	40	прозрачная/с помутнениями, подобная пластику на ощупь, с текстурированной (волнистой) верхней поверхностью	растворимая с нерастворимым краем
3	2-глюкозид аскорбиновой кислоты	2.2	1,56 мл	5,06 см^2	40	прозрачная, менее пластичная, чем контрольная, со слабой текстурой на верхней поверхности	растворимая с нерастворимым краем, некоторое количество небольших нерастворимых кусков
4	L-аскорбиновая кислота (контроль)	2.2	1,56 мл	5,06 см^2	40	Прозрачная, пластичная, без текстуры	растворимая с нерастворимым краем

ФИГ. 90

% шелка в растворе	% витамина С (l-аскорбиновой кислоты) в пленке	% кофеина в пленке	Результат
2.4	20	20	высушены за 19,5 час при 24-26°С, белые кристаллы на краях, хрупкие, скрученые, нерастворимые в воде при нанесении на кожу
2.4	25	15	наполовину высушены за 18 час при 24-26°С: прозрачные, гибкие, пластичные, нерастворимые. Наполовину высушены за 22 час при 24-26°С: прозрачные, хрупкие, нерастворимые
2.4	25	5	высушены за 51 час при 24-29°С из-за высокой влажности в лаборатории, нерастворимые пленки
2.4	25	10	высушены за 51 час при 24-29°С из-за высокой влажности в лаборатории, нерастворимые пленки

ФИГ. 91А

% шелка в растворе	% витамина С (l-аскорбиновой кислоты) в пленке	% кофеина в пленке	Результат
2.4	25	0.5	Неизвестное время высыхания, растворимые пленки
2.4	25	0.5	Высушены за 46 ч при 24-30°C, растворимые пленки
2.4	25	1	Высушены за 46 ч при 24-30°C, растворимые пленки
2.4	25	2.5	Высушены за 46 ч при 24-30°C, растворимые пленки

ФИГ. 91B

% шелка в растворе	Объем геля	Масса витамина С (l-аскорбиновой кислоты) в геле	Масса кофеина в геле	Результат
2	15 мл	100 мг	50 мг	За 4 суток образовывали гель с точно таким же внешним видом, как стандартные гели с витамином С

ФИГ. 92

Образец	Объем раствора (мл)	% шелка	Тип витамина С	Наименование/ количество добавки 1	Наименование/ количество добавки 2	Масса витами-на С	Суток до геле-образо-вания
1	5	2	l-аскорбиновая кислота	Versatil/75 мкл	Dermofeel PA-3/5 мкл	33	7
2	5	2	l-аскорбиновая кислота	Versatil/75 мкл	Dermofeel PA-3/5 мкл	33	7
3	5	2	l-аскорбиновая кислота	нет	нет	33	2
4	5	2	2-глюкозид аскорбиновой кислоты	нет	нет	33	5

ФИГ. 93

Объем конечного раствора	% шелка (конечный раствор)	Партия TFF, % шелка	Объем партии TFF	Объем RO/DI воды	% HA	Масса HA (мг)	Добавка	% добавки	Масса добавки (г)	Тип витамина C	Масса витамина C (мг)
5	1	TFF-10-0055, 3.98%	1.25	3.75	1	0.05	Оксид цинка	10	0.5	Аскорбил-фосфат натрия	33
Результаты		Оксид цинка (ZnO) является нерастворимым, но его можно диспергировать в вязком растворе HA. ZnO смешивали с водой перед HA, и он становился крупнокусковым. Большое количество белого осадка на коже при нанесении.									
5	1	TFF-10-0055, 3.98%	1.25	3.75	1	0.05	Диоксид титана	10	0.5	Аскорбил-фосфат натрия	33
Результаты		Диоксид титана (TiO2) является нерастворимым, но его можно диспергировать в вязком растворе HA. TiO2 смешивали с водой перед HA, и он становился крупнокусковым. Большое количество белого осадка на коже при нанесении.									
5	1	TFF-10-0055, 3.98%	1.25	3.75	1	0.05	Оксид цинка	5	0.25	Аскорбил-фосфат натрия	33
Результаты		ZnO являлся равномерно диспергированным после смешивания. Раствор обладал низкой вязкостью, и ZnO оседал на дно через пару суток. Минимальное количество белого осадка на коже при нанесении.									
5	1	TFF-10-0055, 3.98%	1.25	3.75	1	0.05	Диоксид титана	5	0.25	Аскорбил-фосфат натрия	33
Результаты		TiO2 являлся равномерно диспергированным после смешивания. Раствор обладал низкой вязкостью, и TiO2 оседал на дно через пару суток. Минимальное количество белого осадка на коже при нанесении.									

ФИГ. 94А

Объем конечного раствора	% шелка (конечный раствор)	Партия TFF, % шелка	Объем партии TFF	Объем RO/DI воды	% HA	Масса HA (мг)	Добавка	% добавки	Масса добавки (г)	Тип витамина C	Масса витамина C (мг)
5	1	TFF-10-0055, 3.98%	1.25	3.75	2.5	0.125	Оксид цинка	5	0.25	Аскорбил-фосфат натрия	33
Результаты		ZnO являлся равномерно диспергированным после смешивания. Раствор обладал вязкостью сиропа, и ZnO оставался диспергированным. Наилучшие ощущения и консистенция. Минимальное количество белого осадка на коже при нанесении.									
5	1	TFF-10-0055, 3.98%	1.25	3.75	2.5	0.125	Диоксид титана	5	0.25	Аскорбил-фосфат натрия	33
Результаты		TiO2 являлся равномерно диспергированным после смешивания. Раствор обладал вязкостью сиропа, и TiO2 оставался диспергированным. Минимальное количество белого осадка на коже при нанесении.									
5	1	TFF-10-0055, 3.98%	1.25	3.75	5	0.25	Оксид цинка	5	0.25	Аскорбил-фосфат натрия	33
Результаты		ZnO являлся равномерно диспергированным после смешивания. Раствор обладал высокой вязкостью, и ZnO оставался диспергированным. Наилучшие ощущения и консистенция. Небольшое количество белого осадка на коже при нанесении.									
5	1	TFF-10-0055, 3.98%	1.25	3.75	5	0.25	Диоксид титана	5	0.25	Аскорбил-фосфат натрия	33
Результаты		TiO2 являлся равномерно диспергированным после смешивания. Раствор обладал высокой вязкостью, и TiO2 оставался диспергированным. Небольшое количество белого осадка на коже при нанесении.									
5	1	TFF-10-0055, 3.98%	1.25	3.75	5	0.25	Оксид цинка	2.5	0.125	Аскорбил-фосфат натрия	33
Результаты		ZnO являлся равномерно диспергированным после смешивания. Раствор обладал высокой вязкостью, и ZnO оставался диспергированным. Небольшое количество белого осадка на коже при нанесении.									

ФИГ. 94B

Объем конечного раствора	% шелка (конечный раствор)	Партия TFF, % шелка	Объем партии TFF	Объем RO/DI воды	% HA	Масса HA (мг)	Добавка	% добавки	Масса добавки (г)	Тип витамина C	Масса витамина C (мг)
100	1	TFF-10-0057, 3.8%	26.3	73.7	2.5	2.5	Оксид цинка и диоксид титана	ZnO (3.75%), TiO2 (1.25%)	ZnO (3.75 г), TiO2 (1.25 г)	Аскорбилфосфат натрия	666
Результаты		ZnO и TiO2 являлись равномерно диспергированным после смешивания. Раствор обладал вязкостью сиропа. ZnO и TiO2 оставались диспергированными. Минимальное количество белого осадка на коже при нанесении. Смешивание с помощью электрической мешалки.									
100	1	TFF-10-0057, 3.8%	26.3	73.7	2.5	2.5	Оксид цинка и диоксид титана	ZnO (5.625%), TiO2 (1.875%)	ZnO (5.625 г), TiO2 (1.875 г)	Аскорбилфосфат натрия	666
Результаты		ZnO и TiO2 являлись равномерно диспергированным после смешивания. Раствор обладал вязкостью сиропа. ZnO и TiO2 оставались диспергированными. Минимальное количество белого осадка на коже при нанесении. Смешивание с помощью электрической мешалки.									
110	1	TFF-10-0055, 3.83%	29	81	2.5	2.75	Оксид цинка и диоксид титана	ZnO (12%), TiO2 (3%)	ZnO (13.2 г), TiO2 (3.3 г)	Аскорбилфосфат натрия	22000
Результаты		ZnO и TiO2 являлись равномерно диспергированным после смешивания. Раствор обладал вязкостью клея. ZnO и TiO2 оставались диспергированными. Минимальное количество белого осадка на коже при нанесении. Смешивание с помощью электрической мешалки.									
110	1	TFF-10-0055, 3.83%	29	81	2.5	2.75	Оксид цинка и диоксид титана	ZnO (15%), TiO2 (5%)	ZnO (16.5 г), TiO2 (5.5 г)	Аскорбилфосфат натрия	22000
Результаты		ZnO и TiO2 являлись равномерно диспергированным после смешивания. Раствор обладал вязкостью клея. ZnO и TiO2 оставались диспергированными с некоторым количеством видимых частиц. Минимальное количество белого осадка на коже при нанесении. Смешивание с помощью электрической мешалки.									

ФИГ. 94C

Тип витамина С	Объем (мл)	% витамина С	Масса витамина С (г)	% шелка	молочная кислота	Объем молочной кислоты (мкл)	Суток до гелеобразования
l-аскорбиновая кислота	5	5	0.25	2	нет	N/A	10
l-аскорбиновая кислота	5	5	0.25	3	нет	N/A	7
l-аскорбиновая кислота	5	5	0.25	3.8	нет	N/A	5
l-аскорбиновая кислота	5	10	0.5	2	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток
l-аскорбиновая кислота	5	10	0.5	3	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток
l-аскорбиновая кислота	5	10	0.5	3.8	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток
l-аскорбиновая кислота	5	15	0.75	2	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток
l-аскорбиновая кислота	5	15	0.75	3	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток
l-аскорбиновая кислота	5	15	0.75	3.8	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток
l-аскорбиновая кислота	5	20	1	2	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток
l-аскорбиновая кислота	5	20	1	3	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток
l-аскорбиновая кислота	5	20	1	3.8	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток

ФИГ. 95А

Тип витамина С	Объем (мл)	% витамина С	Масса витамина С (г)	% шелка	молочная кислота	Объем молочной кислоты (мкл)	Суток до гелеобразования
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	5	5		2	нет	N/A	4
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	5	5		3	нет	N/A	4
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	5	5		3.8	нет	N/A	3
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	5	10		2	нет	N/A	7
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	5	10		3	нет	N/A	7
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	5	10		3.8	нет	N/A	5
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	5	15		2	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	5	15		3	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	5	15		3.8	нет	N/A	12
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	5	20		2	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	5	20		3	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток
2-глюкозид аскорбиновой кислоты	5	20		3.8	нет	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток

ФИГ. 95B

Тип витамина С	Объем (мл)	% витамина С	Масса витамина С (г)	% шелка	молочная кислота	Объем молочной кислоты (мкл)	Суток до гелеобразования
l-аскорбиновая кислота	5	20		3	yes	5	Не происходило гелеобразования за 12 суток
l-аскорбиновая кислота	5	10		3	yes	5	Не происходило гелеобразования за 12 суток
l-аскорбиновая кислота	5	20		5.5	no	N/A	Не происходило гелеобразования за 12 суток

ФИГ. 95С

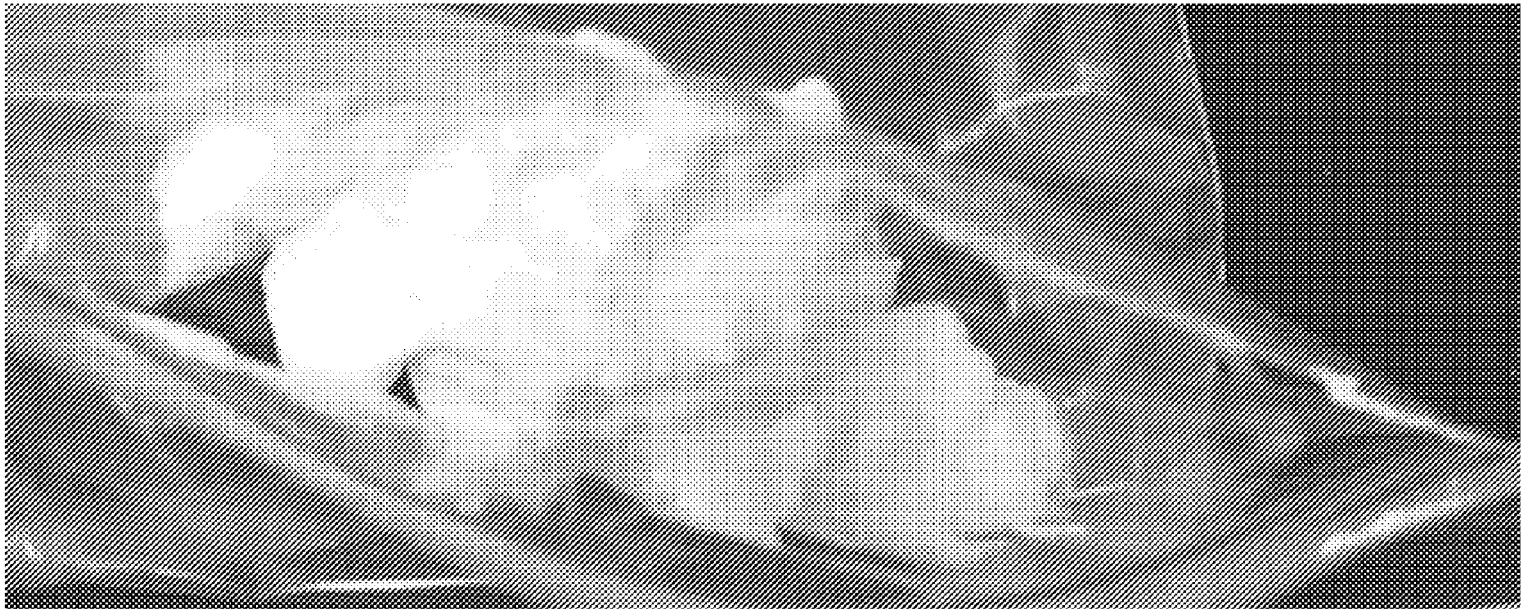
Тестируемое вещество	Тип микроорганизма	Среды для детекции	КОЕ/мл или грамм	Использование в течение (суток, если применимо)
Образец воды #1 (из бака 55 галлонов (208,2 л))	Аэробные бактерии	Триптический соевый агар	1.00E+01	N/A
	Дрожжи и плесень	Картофельно-декстрозный агар	<10	
Образец воды #2 (из бутыли 5 галлонов (18,9 л))	Аэробные бактерии	Триптический соевый агар	5.60E+02	N/A
	Дрожжи и плесень	Картофельно-декстрозный агар	1.25E+02	
Образец воды #3 (водопроводная вода)	Аэробные бактерии	Триптический соевый агар	<10	N/A
	Дрожжи и плесень	Картофельно-декстрозный агар	<10	
Шелковый гель для выравнивания Pure ProC с лемонграссом	Аэробные бактерии	Триптический соевый агар	1.00E+01	0
	Дрожжи и плесень	Картофельно-декстрозный агар	<10	
Шелковый гель для выравнивания Pure ProC с розмарином	Аэробные бактерии	Триптический соевый агар	<10	0
	Дрожжи и плесень	Картофельно-декстрозный агар	<10	
Образец воды #1 (5 галлонов (18,9 л))	Аэробные бактерии	Триптический соевый агар	1.00E+01	N/A
	Дрожжи и плесень	Картофельно-декстрозный агар	<10	
Образец воды #2 (бак 55 галлонов (208,2 л))	Аэробные бактерии	Триптический соевый агар	<10	N/A
	Дрожжи и плесень	Картофельно-декстрозный агар	<10	
Образец воды #1 (бутыль)	Аэробные бактерии	Триптический соевый агар	2.50E+01	N/A
	Дрожжи и плесень	Картофельно-декстрозный агар	<10	
Образец воды #2 (бак)	Аэробные бактерии	Триптический соевый агар	<10	N/A
	Дрожжи и плесень	Картофельно-декстрозный агар	<10	
Шелковый гель для выравнивания Pure ProC с розмарином	Аэробные бактерии	Триптический соевый агар	<10	26
	Дрожжи и плесень	Картофельно-декстрозный агар	<10	
Шелковый гель для выравнивания Pure ProC с лемонграссом	Аэробные бактерии	Триптический соевый агар	<10	25
	Дрожжи и плесень	Картофельно-декстрозный агар	<10	

ФИГ. 96

ФИГ. 97

ФИГ. 98

ФИГ. 99



ФИГ. 100

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202091160

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ: ***A61K 8/64*** *(2006.01)*
A61K 8/19 *(2006.01)*
A61K 8/20 *(2006.01)*
A61K 8/30 *(2006.01)*
A61K 9/08 *(2006.01)*
A61K 38/01 *(2006.01)*
A61Q 17/04 *(2006.01)*
A61Q 19/00 *(2006.01)*
A61Q 19/02 *(2006.01)*
A61Q 19/08 *(2006.01)*
C07K 1/12 *(2006.01)*
C07K 14/435 *(2006.01)*

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)
A61K 8/64, 8/02, 8/04, 8/19, 8/20, 8/27, 8/29, 8/30, 8/64, 8/67, 8/73, 8/92, A61K 38/00, 38/01, A61Q 17/00, 17/04, A61Q19/00, 19/02, 19/08, C07K 1/12, 14/143

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)
EAPATIS, PATENTSCOPE, ESPACENET, USPTO, REAXYS, Google Patents

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X	PRITCHARD E.M. et al. Effect of Silk Protein on Drug Delivery from Silk Films. Macromolecular Bioscience, Mar.2013, 13, p.311-320 [онлайн] [найдено 2020-10-09]. Найдено в < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3761156> <doi: 10.1002/mabi.201200323> Реферат, стр.312, левый столбец, второй абзац, разделы 2.1., 2.2., 2.7.1., 3.1.1, фиг.1A.	1-5, 7-10
X	WRAY L.S. et al. Effect of processing on silk-based biomaterials: Reproducibility and biocompatibility. Journal of Biomedical Materials Research B: Applied Biomaterials, vol.99B, no.1, October 2011, p.89-101 [онлайн] [найдено 2020-10-09]. Найдено в < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3418605/ <doi: 10.1002/jbm.b.31875> Реферат, стр.90, правый столбец, четвертый абзац- стр.91, левый столбец, первый абзац, фиг.1A, 1B,стр.93 левый столбец, последний абзац – правый столбец, первый абзац.	1-5,7-10
X	DAITHANKAR A.V. et al. Moisturizing efficiency of silk protein hydrolysate: Silk fibroin.Indian Journal of Biotechnology, vol.4, January 2005, p.115-121 [онлайн] [найдено 2020-10-09]. Найдено в < https://www.researchgate.net/publication/233992789_Moisturizing_efficiency_of_silk_protein-Hydrolysate_Silk_fibroin> Разделы «Isolation of Silk Fibroin», «In vitro and In vivo Moisturizing Efficiency», второй, последний абзацы в указанном разделе.	1-5,7-10
Y	WO 2012/145739 A1 (TRUSTEES OF TUFTS COLLEGE) 2012.10.26, [000200], [000202], [000203].	1-10
Y	US 20040265260 A1 (TSUBOUCHI KOZO et al) 2004.12.30, примеры 3,4, табл.1, [0071],[0083]-[0085], [0098],[0111]-[0113], [0045]-[0046], [0051]-[0061], [0167].	1-10
Y	KR 20130052878 A (KANG YONGKOO) 2013.05.23, описание, формула.	1,6,7,9,10

☐ последующие документы указаны в продолжении

* Особые категории ссылочных документов:
«A» - документ, определяющий общий уровень техники
«D» - документ, приведенный в евразийской заявке
«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее
«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.
"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«T» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения
«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности
«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории
«&» - документ, являющийся патентом-аналогом
«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: **12/10/2020**

Уполномоченное лицо:
Заместитель начальника Управления экспертизы
Начальник отдела химии и медицины

А.В.Чебан