



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 107928

(13) C2

(51) МПК

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 31/592 (2006.01)

A61K 31/56 (2006.01)

A61P 21/06 (2006.01)

A61P 19/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

|      |  |  |      |   |
|------|--|--|------|---|
| (21) | Номер заявки:  | а 2011 13554   | (56) | Перелік документів, взятих до уваги експертизою:  |
| (22) | Дата подання заявки:   | 23.08.2010   |      | HEDSTROM M ET AL: "Positive effects of anabolic steroids, vitamin D and calcium on muscle mass, bone mineral density and clinical function after a hip fracture. A randomised study of 63 women." THE JOURNAL OF BONE AND JOINT SURGERY. BRITISH VOLUME MAY 2002, vol. 84, no. 4, May 2002 (2002-05), pages 497-503 |
| (24) | Дата, з якої є чинними права на винахід:                                     | 10.03.2015   |      | LYRITIS G P ET AL: "Effect of nandrolone decanoate and 1-alpha-hydroxy-calciferol on patients with vertebral osteoporotic collapse. A double-blind clinical trial" BONE AND MINERAL, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 27, no. 3, 1 January 1994 (1994-01-01), pages 209-217                         |
| (31) | Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:                  | 09168522.2   |      | SHEFFIELD-MOORE MELINDA ET AL: "Androgen therapy induces muscle protein anabolism in older women" JOURNAL OF CLINICAL ENDOCRINOLOGY & METABOLISM, vol. 91, no. 10, October 2006 (2006-10), pages 3844-3849  |
| (32) | Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:           | 24.08.2009   |      | SCHROEDER E TODD ET AL: "Six-week improvements in muscle mass and strength during androgen therapy in older men" JOURNALS OF GERONTOLOGY, SERIES A, BIOLOGICAL SCIENCES AND MEDICAL SCIENCES, WASHINGTON, DC, US, vol. 60, no. 12, 1 December 2005 (2005-12-01), pages 1586-1592                                    |
| (33) | Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:   | EP   |      | CAMPBELL STEPHEN ET AL: "Pharmacological Treatment of Frailty in the Elderly" JOURNAL OF PHARMACY PRACTICE AND RESEARCH, vol. 39, no. 2, June 2009 (2009-06), pages 147-151   |
| (41) | Публікація відомостей про заявку:  | 25.04.2012, Бюл.№ 8  |      | FRIED L P ET AL: "Frailty in older adults: evidence for a phenotype." THE JOURNALS OF GERONTOLOGY. SERIES A, BIOLOGICAL SCIENCES AND MEDICAL SCIENCES MAR 2001, vol. 56, no. 3, March 2001 (2001-03), pages M146-M156   |
| (46) | Публікація відомостей про видачу патенту:                                    | 10.03.2015, Бюл.№ 5  |      |   |
| (86) | Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ | PCT/NL2010/050524, 23.08.2010  |      |   |
| (72) | Винахідник(и):   | Прінс Марьянна (NL),<br>Клостербур Хеленіус Ян (NL)  |      |   |
| (73) | Власник(и):  | ОРГАНЕКСТ РІСЕРЧ Б.В.,<br>De La Reijssstraat 2, NL-6814 AE Arnhem,<br>The Netherlands (NL) |      |   |
| (74) | Представник:   | Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр.<br>№115   |      |   |

## (54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ СТАРЕЗНОСТІ

UA 107928 C2

---

**(57) Реферат:**

Винахід надає спосіб лікування або запобігання старезності у літніх пацієнтів, зокрема у віці 60 років або старше. Спосіб надає одночасне парентеральне введення комбінації анаболічного стероїду і вітаміну D. Переважна комбінація складається з нандролону деканоату і холекальциферолу (вітамін D3). Винахід також надає відновну допоміжну терапію для допомоги старезним літнім людям, які піддались госпіталізації або хірургічній операції, для збереження незалежності і відновлення регулярної фізичної і розумової активності.

### Галузь винаходу

Винахід належить до способу лікування дряхлості у немолодих пацієнтів. Винахід також стосується фармацевтичної композиції для застосування в такому способі. Винахід, зокрема, стосується відновної допоміжної терапії для дряхлих немолодих людей.

#### 5 Передумови винаходу

Дряхлість являє собою клінічний синдром з такими симптомами як низька маса тіла, викликана ненавмисною втратою ваги, виснаження, слабкість, повільна хода і низька фізична активність. Дряхлість характеризується зниженою стійкістю до стрес-чинників, яка виникає, в свою чергу, через загальне погіршення роботи багатьох фізіологічних систем і обумовлює уразливість перед несприятливими чинниками. Серед них виділяють резистентність до інсуліну, метаболічний синдром і остеопороз.

10 Широко застосовуване визначення цього комплексного старечого синдрому, запропоноване в Fried et al. (2001) J Gerontol A Biol Sci Med Sci 56:M146-M156, ґрунтоване на оцінці п'яти різних характеристик. Індивідуума потрібно вважати дряхлим, якщо він має щонайменше три з наступних п'яти характеристик: ненавмисна втрата ваги за останній рік; слабкість стиснення кисті; низька витривалість/стомлення; повільність; і низький рівень фізичної активності.

Дряхлість зв'язують зі змінами в біомаркерах, таких як IL-6, CRP, 25-OH-вітамін-D, IGF-I і D-димери, особливо помітними у немолодих людей. У контексті винаходу вік немолодих людей становив 60 років або старше, і більш конкретно 65 років або старше.

20 Дряхлість зв'язують з поступовим зниженням ефективності білкового метаболізму. У свою чергу, це впливає на рівень загального метаболізму, приводячи до появи вказаних вище синдромів.

Головна властивість дряхлості виявляється у впливі на м'язову масу і силу, який приводить до підвищення імовірності падіння пацієнта і таких супутніх пошкоджень як переломи і обмежена рухливість. Разом з ослабленням м'язів слабшає імунітет, знижується швидкість загоєння і виникають психічні порушення, що приводить до втрати самостійності.

У цей час спеціальні способи лікування дряхлості не зареєстровані. Проведений ряд клінічних досліджень впливу різних способів лікування на окремі симптоми дряхлості. Сюди належить, наприклад, вплив анаболічних стероїдів на м'язову масу, добре відомий фахівцям.

30 Посилання на роботу по впливу анаболічного стероїду оксандролону на м'язову масу у немолодих людей представлене у Schroeder et al. 2005 J Gerontol A Biol Sci Med Sci 60:1586-1592.

Низька концентрація маркера дефіциту кальцитриолу 25-OH-вітаміну-D в сироватці часто спостерігається у немолодих людей і розвивається спільно з симптомами дряхлості.

35 Посилання на роботу, в якій рекомендується лікування вітаміном D, представлене Campbell і Szoek, Journal of Pharmacy Practice і Research, vol.39, no.2, June 2009, 147-151, і надає огляд альтернативних способів лікування дряхлості у немолодих людей. Один з цих способів включає застосування вітаміну D, який пропонують завдяки його впливу на кістки, м'язи і підтримку рівноваги. Інший такий спосіб включає застосування анаболічних гормонів, але цей спосіб, як вважають, не має очевидних переваг при лікуванні старечої дряхлості.

40 Посилання на роботу по перспективних терапіях для лікування синдрому дряхлості у немолодих людей являє собою Cherniack et al., Alternative Medicine Review Volume 12, Number 3 2007, pages 246-258. Робота описує харчові добавки, що містять, наприклад, вітаміни, каротиноїди, креатин, DHEA або бета-гідрокси-бета-метилбутират, і фізичні вправи (тай чи і ходьба по камінню). Харчову добавку, що містить вітамін D, розглядають як перспективний засіб для пом'якшення виявів синдрому дряхлості. Крім того, з урахуванням частого виникнення дефіциту вітаміну D у немолодих людей, передбачають, що добавка з вітаміном D може запобігати дряхлості.

45 Показано, що комбіноване лікування жінок, що відновлюються після перелому шийки стегна, нандролон деканоатом, холекальциферолом (вітамін D3) перорально і харчовою добавкою, яка містить кальцій, підвищує щільність кісток, м'язову масу і бали по шкалі ходи (Hedstrom et al. J Bone Joint Surg Br 2002; 84: 497-503). Ця робота не розглядає дряхлості. Крім того, пацієнти жили незалежно і мали середній індекс маси тіла, який дорівнює 23, що вказує на те, що учасники даного дослідження не були дряхлими. Хоч дослідження надає вітамін D в поєднанні з анаболічними стероїдами, дані, відмінні від, наприклад, приведених в згаданій вище роботі Campbell et al., відображають загальноприйнятую точку зору, підкреслюючи роль вітаміну D для кісток і вплив анаболічних стероїдів на кістки і м'язи.

55 У цей час, з урахуванням збільшення вартості патофізіологічних розробок і медичного догляду, ефективне лікування симптомів дряхлості являє собою актуальну медичну проблему.

Для полегшення і запобігання симптомам дряхлості бажано провести лікування або запобігання декільком симптомам одночасно. При лікуванні дряхлості бажано надавати єдину терапію для лікування самого стану дряхлості, і, зокрема, для підвищення функціональних здатностей і незалежності індивідуума, що є переважним клінічним результатом для немолодих пацієнтів. Типовим наслідком дряхлості є те, що стан пацієнта неухильно погіршується, і пацієнт майже неминуче потребує тривалого лікування. Бажано запобігати і лікувати такий стан, інакше неминуче подальше погіршення, і дозволяти пацієнтам жити незалежно протягом більшого періоду часу. Це, зокрема, важливо для пацієнтів, що відновлюються після госпіталізації, оскільки вона часто є критичною точкою в розвитку дряхлості у немолодих людей, що приводить до необхідності тривалого перебування в будинку пристарілих (і подальшого погіршення), а не до збереження незалежності (і відновлення фізичної і розумової активності, що приводить до поліпшення здоров'я). Таким чином, медичне втручання необхідне.

Суть винаходу

Для більш ефективного вирішення однієї або декількох приведених вище задач, винахід в одному з аспектів являє собою спосіб лікування або запобігання дряхлості у немолодих пацієнтів, більш конкретно, у віці 60 років або старше, що включає одночасне парентеральне введення ефективної дози комбінації анаболічного стероїду і сполуки вітаміну D.

У іншому аспекті винахід надає композицію, що містить анаболічний стероїд і вітамін D, для застосування при лікуванні дряхлості у немолодих пацієнтів, зокрема, у віці 60 років або старше, яке включає одночасне парентеральне введення ефективної дози анаболічного стероїду і вітаміну D.

У іншому аспекті винахід являє собою фармацевтичну композицію, що включає анаболічний стероїд і вітамін D в рідкому носії, прийнятному для парентерального введення.

Ще в одному додатковому аспекті винахід включає пристрій для внутрішньом'язового введення рідини, де рідина містить анаболічний стероїд і вітамін D в рідкому носії, прийнятному для парентерального введення.

Короткий опис креслень

На фіг. 1 представлена гістограма, яка ілюструє вплив нандролону і 1 $\alpha$ , 25-дигідроксिवітаміну D3 (DHVD3) на зміну частки клітин скелетної мускулатури людини (міосателітів) лінії hSkMC2 з позитивним рівнем експресії рецептора андрогену (AR) через 5 діб після обробки нандролоном і/або DHVD3. Тестостерон використовували як точку відліку.

Фіг. 2 аналогічна фіг. 1 і ілюструє вплив на позитивний рівень експресії рецептора вітаміну D (VD3R).

На фіг. 3 представлені гістограми (а) і (b), які ілюструють вплив двох концентрацій нандролону і 1 $\alpha$ , 25-дигідроксивітаміну D3 (DHVD3), доданих окремо або у вигляді суміші, на проліферацію клітин скелетної мускулатури людини (лінії hSkMC1 і 2), які застосовують як міри м'язової маси.

Докладний опис варіантів здійснення

Винахід стосується лікування дряхлості. Термін "дряхлість" в цьому документі визначений, зокрема, з посиланням на вказане вище визначення (Fried et al. 2001). Пацієнти, що підлягають лікуванню, є, як правило, немолодими людьми як чоловічої, так і жіночої статі, як правило у віці 60 років або старше. Більш конкретно, пацієнтами є немолоді люди у віці 65 років або старше.

У широкому значенні винахід оснований на розумінні того, що розрізнені дослідження, що проводяться в цей час, направлені на окремі симптоми дряхлості, не достатні для отримання ефективного способу лікування. Винахід надає подібний спосіб лікування, оснований на введенні відповідної комбінації активних речовин. Не зв'язуючись з якою-небудь конкретною теорією, автори винаходу вважають, що ефективність комбінованого парентерального введення анаболічного стероїду, переважно нандролон деканоату, і вітаміну D, переважно вітаміну D3 (холекальциферол) основана на синергічному впливі двох компонентів, зокрема, на м'язову масу і м'язову функціональність. Це припущення основане на молекулярній дії рецепторів цих двох компонентів і на каскадах реакцій, які ці компоненти можуть активувати в міобластах/міосателітах. Рецептор андрогену і рецептор вітаміну D належать до сімейства ядерних факторів транскрипції, але відповідні їм механізми дії сильно відрізняються. Рецептор вітаміну D, як відомо, бере участь в клітинній проліферації і диференціюванні. Рецептор андрогену бере участь в клітинному рості. Таким чином, в поєднанні вони приблизно приводять до більш ефективної стимуляції зростання м'язових клітин. Більш того, введення анаболічного стероїду одночасно з вітаміном D, як вважають, позитивно впливає на активність рецепторів вітаміну D. А вітамін D позитивно впливає на нервово-м'язову систему.

Винахід має на увазі одночасне парентеральне введення ефективної дози анаболічного стероїду і вітаміну D.

Термін "одночасне введення" добре відомий в даній галузі і, як правило, стосується введення двох активних речовин в один і той же час або майже в один і той же час. У контексті даного винаходу це означає, що обидва компоненти вводять в один і той же проміжок часу. Таким чином, якщо один з компонентів застосовують щодня, то інший компонент також застосовують щодня, в той же день. Якщо один з компонентів застосовують раз на тиждень, то інший компонент також застосовують раз на тиждень, на тому ж тижні. Якщо один з компонентів застосовують раз на місяць, то інший компонент також застосовують раз на місяць, в тому ж місяці. Потрібно розуміти, що терміни "доба", "тиждень" і "місяць" не обов'язково належать до календарних діб, тижня або місяця, а до часових інтервалів, що мають порівнянну з ними тривалість. Переважно введення обох компонентів безпосередньо один за одним, і більш переважне їх одночасне введення. Найбільш переважно їх одночасне введення у вигляді однієї композиції, що містить обидва компоненти.

Термін "парентеральне введення" добре відомий в даній галузі і, як правило, стосується всіх способів введення, відмінних від введення через шлунково-кишковий тракт, включаючи як необмежувальні приклади внутрішньом'язове, внутрішньовенне, підшкірне, трансдермальне, трансмукозальне або інгаляційне введення. У даному винаході переважний спосіб парентерального введення являє собою внутрішньом'язове або підшкірне введення.

З урахуванням того, що пацієнти, які потребують лікування, є немолодими людьми, найбільш переважний спосіб введення являє собою підшкірну ін'єкцію. Немолоді люди часто характеризуються низькою м'язовою масою (особливо якщо страждають від дряхлості). З іншого боку, їх шкіра, як правило, має велику поверхню і безліч складок. Таким чином, підшкірна ін'єкція має переваги в порівнянні з внутрішньом'язовою ін'єкцією, будучи більш простотою в здійсненні і менш хворобливою для пацієнта, особливо при лікуванні дряхлості.

Пацієнтам вводять ефективні дози компонентів. Термін "ефективна доза" добре відомий в даній галузі. У фармакології ефективна доза являє собою середню дозу лікарського засобу, що приводить до бажаного ефекту. Ефективну дозу часто визначають на основі аналізу залежності доза-реакція, специфічної для лікарського засобу. Доза, що приводить до бажаного ефекту у половини тестованої групи, яку позначають як ED-50, являє собою загальноновизнану ефективну дозу. У контексті даного винаходу дозу вважають ефективною, якщо вона пом'якшує декілька (тобто два або більше) симптомів дряхлості. Переважна ефективна доза полегшує стан дряхлості, що оцінюють із застосуванням відповідних біомаркерів і/або відповідних клінічних результатів. У контексті даного винаходу термін "ефективна доза" стосується загальної дози двох активних речовин. Ефективна доза і інтервал між введенням доз іноді можуть відрізнятися для пацієнтів чоловічої і жіночої статі. Наприклад, доза анаболічного андрогенного стероїду може бути вищою для чоловіків. Крім того, жінки, як правило, захворюють дряхлістю в молодшому віці, ніж чоловіки, і можуть потребувати тривалого регулярного лікування, тоді як чоловіки стають дряхлими в більш старшому віці і можуть потребувати короткочасної інтенсивної відновної допоміжної терапії.

Комбінація активних речовин за винаходом містить анаболічний стероїд. Термін "анаболічний стероїд" добре відомий в даній галузі і означає клас стероїдних гормонів, пов'язаних з гормоном тестостероном. Посилання на огляд анаболічних стероїдів являє собою A.T. Kicman, British Journal of Pharmacology (2008) 154, 502-521. Анаболічні стероїди, як правило, характеризуються накладуваними анаболічним і андрогенним ефектами, і, таким чином, їх іноді означають як анаболічно-андрогенні стероїди (AAS). Андрогенно-анаболічне співвідношення AAS являє собою важливий чинник при визначенні клінічних застосувань цих речовин. Потрібно розуміти, що в даному винаході бажано переважання анаболічного (міотрофічного) ефекту, що викликає зростання м'язових клітин, над андрогенним ефектом. Відповідно, анаболічний стероїд переважно вибирати з групи, яка складається з норболетону, оксиметолону, оксандролону, нандролону і їх складних ефірів. Переважний анаболічний стероїд для застосування за даним винаходом являє собою нандролон або його складний ефір, найбільш переважно нандролон деканоат.

Згідно з винаходом переважно введення нандролон деканоату (переважно внутрішньом'язовою ін'єкцією і більш переважно підшкірною ін'єкцією) раз на місяць, більш переважно раз в три тижні і найбільш переважно раз на тиждень. Сумарна доза, введена за період часу, може, як правило, варіювати від 15 мг, переважно 25 мг на місяць, до 600 мг, переважно 400 мг на місяць. При лікуванні дряхлості за винаходом переважно, щоб доза не була дуже низькою. З урахуванням неминучих андрогенних ефектів також переважно, щоб доза не була дуже високою. Переважна доза повинна бути настільки низькою, наскільки можливо, і настільки високою, наскільки необхідно, знаходячись в діапазоні від 5 мг, переважно від 10 мг

до 150 мг, переважно 50 мг на тиждень, або від 20 мг, переважно від 40 мг до 600 мг, переважно 200 мг на місяць.

При застосуванні іншого анаболічного стероїду діапазон переважних доз еквівалентний вказаному для нандролону деканоату. Фахівці в даній галузі можуть розрахувати еквівалентні дози для різних анаболічних стероїдів.

Комбінація активних речовин за винаходом включає вітамін D. В контексті даного винаходу термін "вітамін D" стосується вітаміну D і різних його форм, а також попередників і аналогів вітаміну D. Цей клас речовин добре відомий в даній галузі. Вітамін D переважно являє собою одну з поширених форм вітаміну D, вибраних з групи, яка складається з ергокальциферолу, холекальциферолу, кальцидіолу, кальцитриолу, доксеркальциферолу, і кальцитриєну. Найбільш переважна форма вітаміну D для застосування згідно з винаходом являє собою холекальциферол (вітамін D3).

Згідно з винаходом, переважно введення вітаміну D в дозі, що приводить до підвищення концентрації вітаміну в плазмі крові до рівня, що перевищує концентрацію, асоційовану з дефіцитом вітаміну D. Як правило, дефіцит вітаміну D діагностують, якщо концентрація 25-гідроксिवітаміну D в плазмі крові складає менше 20 нг/мл (50 нмоль/л). Концентрацію в плазмі крові, яка складає >140 нмоль/л, зв'язують з небажаними явищами. Таким чином, переважну дозу вітаміну D вибирають так, щоб встановити концентрацію вітаміну в плазмі крові в діапазоні від 50 до 70 нмоль/л і 140 нмоль/л.

Згідно з винаходом переважну форму вітаміну D холекальциферол переважно вводять (найбільш переважно внутрішньом'язовою ін'єкцією) раз на місяць, більш переважно раз на три тижні і найбільш переважно раз на тиждень. Доза холекальциферолу знаходиться в діапазоні доз, еквівалентних пероральному прийому вітаміну в дозі 100-4000 МО/добу або у відповідних дозах на тиждень або місяць. Однак допустима парентеральна доза холекальциферолу, що складає до 600000 МО (15 мг) внутрішньом'язово.

Приведені вище компоненти переважно об'єднують в одній фармацевтичній композиції, прийнятній для парентерального введення. Більш переважна фармацевтична композиція, що включає анаболічний стероїд і вітамін D, переважно комбінацію нандролону деканоату і холекальциферолу, в рідкому носії, прийнятному для парентерального введення. Переважний рідкий носій являє собою масло, більш переважно вибране з групи, яка складається з арахісового масла, бавовняної олії і кунжутної олії.

Не зв'язуючись з якою-небудь конкретною теорією, автори винаходу передбачають, що розчинність в маслі анаболічного стероїду і вітаміну D (і, зокрема, нандролон деканоату і холекальциферолу) може сприяти взаємному позитивному впливу на стабільність ін'єкційних препаратів, основаних на маслі. Крім того, комбінування в одному ін'єкційному препараті двох компонентів полегшує їх одночасне введення, робить введення менш інвазивним для пацієнта і сприяє полегшенню дотримання режиму прийому обох лікарських засобів.

Потрібно розуміти, що фармацевтичні композиції за винаходом можуть містити також допоміжні речовини, що часто застосовуються в подібних препаратах. Наповнювачі, добавки, допоміжні засоби і т. п. для парентерального введення і їх дози добре відомі фахівцям і не вимагають пояснень в цьому документі.

При лікуванні дряхлості композицію за винаходом застосовують, як правило, протягом щонайменше від 3 місяців до 12 місяців, переважно від 4 до 8 місяців і найбільш переважно 6 місяців. Винахід стосується нового медичного підходу в лікуванні дряхлості у немолодих пацієнтів.

Хоч цей спосіб лікування дряхлості не має переважного значення, автори винаходу передбачають (не зв'язуючись з якою-небудь конкретною теорією), що медичний підхід згідно з винаходом має додаткові переваги.

Це, зокрема, стосується згаданої вище критичної точки, після якої немолоді пацієнти, які страждають від дряхлості, при госпіталізації можуть виявитися нездатними більше зберігати свою незалежність. Тривале перебування в будинках пристарілих, а також відповідні фізичні і психічні терапії, по суті, позбавляють пацієнтів засобів для запобігання неухильному погіршенню їх стану, а саме, незалежності і здатності жити своїм життям з регулярною щоденною фізичною і розумовою активністю.

У цьому відношенні винахід оснований на розумінні того, що адекватне медичне втручання може не тільки лікувати стан дряхлості як такий у пацієнта, що знаходиться в такій критичній точці, але і допомагати пацієнту зберігати незалежність і відновлювати фізичну і розумову активність. Щоб допомогти пацієнтам поліпшити своє здоров'я таким чином, винахід також надає відновну допоміжну терапію для немолодих людей, які страждають дряхлістю, зокрема, після госпіталізації або хірургічної операції. У цьому аспекті винаходу вводять відносно високу

дозу двох активних речовин, переважно нандролон деканоату і холекальциферолу, з відносно високою частотою, переважно раз на тиждень, протягом періоду часу, достатнього для досягнення бажаного фармакологічного ефекту, але досить короткого, щоб його можна було розглядати як короточасну відновну терапію (для відновлення незалежності), а не як тривалу терапію (яка відповідала б хронічному захворюванню). Переважна тривалість відновної терапії знаходиться в діапазоні 4-8 місяців, складаючи переважно 6 місяців.

Винахід також стосується запобігання дряхлості у пацієнтів, схильних до дряхлості після госпіталізації. Як правило, у цих пацієнтів не спостерігається стан саркопенії, але вони страждають на зниження імунітету.

При проведенні вказаної вище відновної терапії переважне застосування однієї фармацевтичної композиції, що включає обидві активні речовини, при кожному введенні.

Пристосування для парентерального введення компонентів, що застосовуються у винаході, добре відоме фахівцям. Основуючись на відомому обладнанні, винахід також стосується пристосування для внутрішньом'язового введення рідини, де рідина являє собою описану вище композицію згідно з даним винаходом.

Далі винахід проілюстрований в цьому документі приведеними нижче не обмежуваними прикладами і відповідними малюнками.

Приклади являють собою дослідження *in vitro*, в яких показано, що нандролон і 1 $\alpha$ , 25-дигідроксिवітамін D3 надають синергічний вплив на проліферацію м'язових клітин-сателітів і, таким чином, впливають на м'язову масу. Винахід, таким чином, направлений на застосування для людей більш низьких доз нандролон деканоату в складі комбінації для отримання такого ж впливу на м'язову масу і/або функцію, як при застосуванні тільки нандролон деканоату. Це направлено на поліпшення показників безпеки.

#### Приклад 1

##### Матеріали і методи

Дві різні лінії клітин скелетних м'язів людини або клітин-сателітів (hSkMC1 - отримані від 33-річної здорової жінки - і hSkMC2 отримані від 64-річної здорової жінки) отримували від PromoCell (Heidelberg, Germany) і культивували в колбах згідно з інструкцією виробника. Клітини збирали і зберігали в рідкому азоті до застосування в експерименті. Клітини не застосовували, якщо кількість пасажів перевищувала 15. Для експериментів клітини культивували при 37 °C і в 5 % CO<sub>2</sub> при густині 3,500-7,000 клітин/см<sup>2</sup> на мінімальному середовищі (PromoCell) з додаванням 5 % активованого вугілля (Sigma-Aldrich), обробленого ембріональною телячою сироваткою (FBS) (PAA, Germany), із застосуванням 24-ямкових планшетів (Costar) до приблизно 80 % заселеності. Нандролон, тестостерон і 1 $\alpha$ , 25-дигідроксिवітамін D3 отримували від Sigma-Aldrich.

Для вивчення рецепторів клітини культивували протягом 5 діб з додаванням 1 мкМ і 10 мкМ нандролону (активного метаболіту нандролон деканоату) або 1, 10 і 100 нМ 1 $\alpha$ , 25-дигідроксिवітаміну D3. Рецептори андрогену і вітаміну D фарбували згідно з протоколом з подальшою візуалізацією способами проточної цитометрії, отриманими з робіт Krishan et al. (2000) і Figueira et al. (2000). Спосіб, що дає найкраще фарбування, включає фіксацію в формаліні з подальшою пермеабілізацією Tween 20 і подвійним фарбуванням неміченими первинними антитілами (антитіла проти рецепторів андрогену (Epitomics) і антитіла проти рецепторів вітаміну D (GeneTex)) і міченими флуорофором вторинними антитілами (козячі антитіла проти щурячого IgG, мічені фікоеритрином, для фарбування рецепторів вітаміну D, і козячі антитіла проти кролячого IgG, мічені флуоресцеїном, для фарбування рецепторів андрогену; всі антитіла отримували від Rockland). Фарбування обома вторинними антитілами застосовували як фон. Fc-рецептори блокували інкубацією в буфері, який містить сироватку. Всі розчини далі містили Tween 20 (Sigma Aldrich) як детергент для підтримки пермеабілізованого стану у клітин протягом всього фарбування. Порівнювали фарбування нестимульованих і стимульованих клітин, визначаючи його інтенсивність і частку клітин, що забарвилися. Вимірювання проводили на двопробеному проточному цитометрі (Beckman Coulter модель FC500 Cytomics). Для оброблених і необроблених гормоном клітин визначали підвищення частки забарвлених клітин в порівнянні зі встановленим значенням маркера (при 1 % для фонового фарбування).

Для вивчення проліферації клітини культивували протягом 8 діб з 100 і 1000 нМ нандролону або 10 і 100 нМ 1 $\alpha$ , 25-дигідроксिवітаміну D3 і з комбінацією нандролону і 1 $\alpha$ , 25-дигідроксिवітаміну D3. Середовище і гормони замінювали на 1, 4 і 7 добу. Рівень проліферації вимірювали із застосуванням індикатора резазурину (Stern-Straeter et al., 2008). Статистичний аналіз даних рівня проліферації проводили із застосуванням t-критерію Ст'юдента.

#### Приклад 2

## Вивчення рецепторів

Дія як нандролону, так і  $1\alpha$ , 25-дигідроксिवітаміну D3 на клітину залежить від наявності відповідних рецепторів. Таким чином, автори досліджували наявність як рецепторів андрогену, так і рецепторів вітаміну на застосовуваних клітинах скелетної мускулатури людини. На фіг. 1 і 2 показаний вплив нандролону і  $1\alpha$ , 25-дигідроксивітаміну D3 на частку клітин, у яких експресія рецепторів андрогену і вітаміну D змінилася в порівнянні з клітинами, забарвленими тільки вторинними антитілами. У лінії клітин hSkMC2 після впливу нандролону і  $1\alpha$ , 25-дигідроксивітаміну D3 спостерігали збільшення числа клітин з рецепторами андрогену і вітаміну D. На гістограмах також показано збільшення інтенсивності фарбування клітин, що вказує на збільшення числа рецепторів на клітину у клітин, що вже містили рецептори до обробки гормоном. Ці результати вказують на те, що рецептори андрогену реєструються у більшого числа клітин, а у клітин, що містили рецептори до обробки, кількість рецепторів на клітину підвищується. Вплив на лінії клітин hSkMC1 менш виражений (дані не показані).

Приведені дослідження рецепторів показали, що клітини скелетної мускулатури людини містять як рецептори андрогену, так і рецептори вітаміну D, і що нандролон і  $1\alpha$ , 25-дигідроксивітамін D3 стимулюють експресію нових рецепторів.

## Приклад 3

## Дослідження проліферації

Збільшення частки клітин з рецепторами андрогену і рецепторами вітаміну D під впливом двох компонентів, як показано в прикладі 1, вказує на те, що на обробку потенційно може реагувати більше число клітин.

Проліферацію клітин скелетної мускулатури людини застосовували як контрольний параметр для з'ясування того, чи має комбінація нандролону і  $1\alpha$ , 25-дигідроксивітаміну D3 синергічний вплив на м'язову масу.

На фіг. 3 показано (а), що в лінії клітин hSkMC1 окремі компоненти не впливали на проліферацію, але при поєднанні  $1\alpha$ , 25-дигідроксивітаміну D3 з нандролоном спостерігається достовірний ефект для всіх 4 досліджених комбінацій ( $P < 0,001$ , крім комбінації, що містить 100 нМ нандролону і 100 нМ  $1\alpha$ , 25-дигідроксивітаміну D3, для якої  $P < 0,05$ ). У лінії клітин hSkMC2 (б) високі концентрації  $1\alpha$ , 25-дигідроксивітаміну D3 посилювали проліферацію, а 4 досліджених комбінації також показали достовірний ефект в порівнянні з контролем ( $P < 0,05$ , крім комбінації, що містить 100 нМ нандролону і 10 нМ  $1\alpha$ , 25-дигідроксивітаміну D3, для якої  $P < 0,001$ ). Частка клітин перевищувала контроль для різноманітних лікарських засобів, представлених в таблиці 1. В лінії клітин hSkMC1 збільшення при застосуванні будь-якої з комбінацій перевищувало сумарне збільшення при застосуванні окремих компонент, що входять в комбінацію. Це доводить синергічну дію комбінації нандролону і  $1\alpha$ , 25-дигідроксивітаміну D3 на клітини скелетної мускулатури людини. У лінії клітин hSkMC2 синергічну дію спостерігали у трьох з чотирьох досліджуваних комбінацій.

Таблиця 1

Процентне збільшення (%  $\Delta$ ) проліферації клітин скелетної мускулатури людини (hSkMC1 і hSkMC2) за рахунок впливу нандролону і  $1\alpha$ , 25-дигідроксивітаміну D3 (dhvit D3) окремо і в комбінації в порівнянні з контролем.  $\Sigma$  означає: суму %  $\Delta$  від нандролону плюс %  $\Delta$  від dhvit D3, що застосовуються в різних комбінаціях

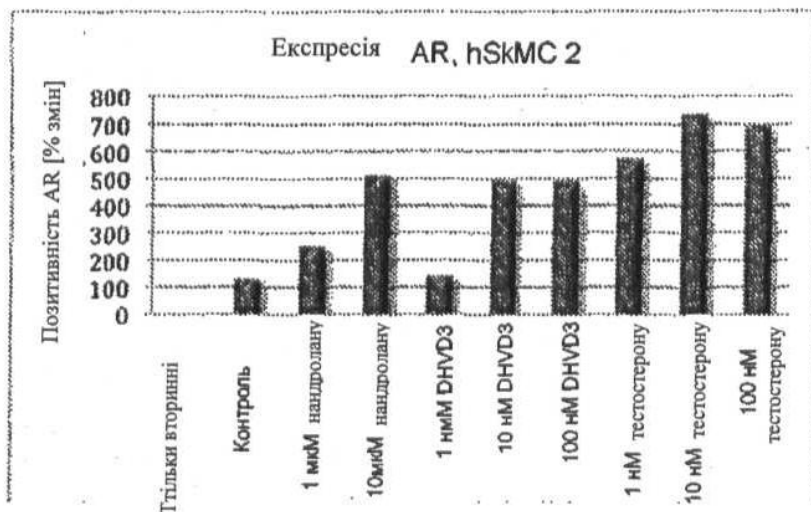
|                                      | hSkMC1     |          | hSkMC2     |          |
|--------------------------------------|------------|----------|------------|----------|
|                                      | % $\Delta$ | $\Sigma$ | % $\Delta$ | $\Sigma$ |
| 100 нМ нандролону                    | 3          |          | 4          |          |
| 1000 нМ нандролону                   | 1          |          | 1          |          |
| 10 нМ dhvit D3                       | 1          |          | 1          |          |
| 100 нМ dhvit D3                      | -5         |          | 8          |          |
| 100 нМ нандролону + 10 нМ dhvit D3   | 12         | 4        | 11         | 5        |
| 100 нМ нандролону + 100 нМ dhvit D3  | 11         | -2       | 13         | 12       |
| 1000 нМ нандролону + 10 нМ dhvit D3  | 13         | 2        | 13         | 2        |
| 1000 нМ нандролону + 100 нМ dhvit D3 | 10         | -4       | 15         | 9        |



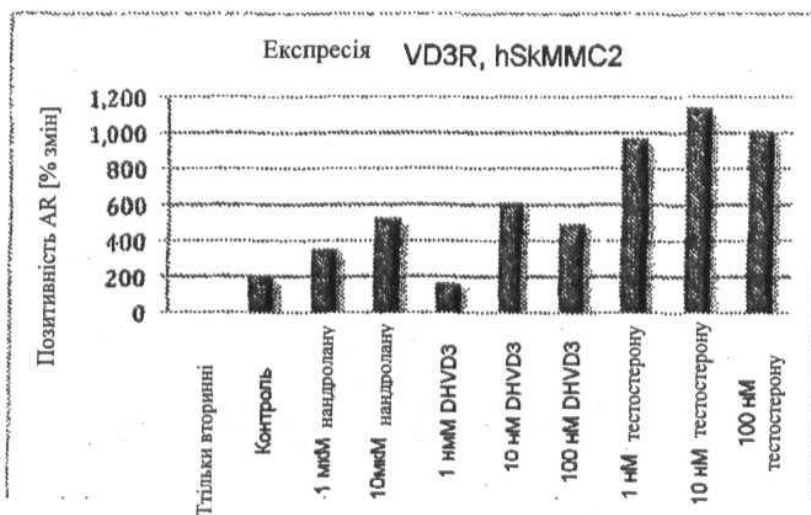
## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб лікування старезності у літніх пацієнтів, зокрема у віці 60 років або старше, що включає одночасне парентеральне введення ефективної дози комбінації анаболічного стероїду і вітаміну D.
2. Спосіб за п. 1, де введення проводять щонайменше раз на місяць і переважно раз на тиждень.
3. Спосіб за п. 1 або 2, де введення проводять протягом періоду часу, що складає щонайменше 3 місяці, переважно 6 місяців.
4. Спосіб за будь-яким з попередніх пунктів, де анаболічний стероїд вибраний з групи, яка складається з норболетону, оксиметолону, оксандролону, нандролону і їх складних ефірів, і переважно являє собою нандролону деканоат.
5. Спосіб за будь-яким з попередніх пунктів, де вітамін D вибраний з групи, яка складається з ергокальциферолу, холекальциферолу, кальцидіолу, кальцитріолу, доксеркальциферолу і кальципотриєну.
6. Спосіб за будь-яким з попередніх пунктів, де введення проводять парентеральною ін'єкцією однократної препаративної форми, що містить як анаболічний стероїд, так і вітамін D, переважно комбінацію нандролону деканоату і холекальциферолу.
7. Спосіб за п. 6, де однократна препаративна форма містить від 5 до 600 мг нандролону деканоату і від 17,5 мкг до 15 мг холекальциферолу.
8. Спосіб за будь-яким з попередніх пунктів для застосування як відновної допоміжної терапії для старезних літніх пацієнтів, зокрема, після госпіталізації або хірургічної операції.
9. Спосіб за будь-яким з попередніх пунктів, де пацієнт знаходиться у віці 65 років або старше.
10. Фармацевтична композиція, що включає анаболічний стероїд і вітамін D в рідкому носії, прийнятному для парентерального введення.
11. Фармацевтична композиція за п. 10, де анаболічний стероїд вибраний з групи, яка складається з оксиметолону, оксандролону, нандролону і їх складних ефірів, і переважно являє собою нандролону деканоат.
12. Фармацевтична композиція за п. 10 або 11, де вітамін D вибраний з групи, яка складається з ергокальциферолу, холекальциферолу, кальцидіолу, кальцитріолу, доксеркальциферолу і кальципотриєну.
13. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 10-12, що включає від 5 до 600 мг нандролону деканоату і від 17,5 мкг до 15 мг холекальциферолу.
14. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 10-13 для застосування з метою запобігання старезності, зокрема, як відновної допоміжної терапії у пацієнтів, які не страждають на саркопенію і старезність.
15. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 10-14, де рідкий носій вибраний з групи, яка складається з арахісової олії, бавовняної олії і кунжутної олії.
16. Пристрій для внутрішньом'язового введення рідини, де рідина являє собою композицію за будь-яким з пп. 10-15.
17. Композиція, що включає анаболічний стероїд і вітамін D, для застосування при лікуванні старезності у літніх пацієнтів, зокрема у віці 60 років або старше, яка включає одночасне парентеральне введення ефективної дози комбінації з анаболічного стероїду і вітаміну D.
18. Композиція за п. 17, де введення проводять щонайменше раз на місяць і переважно раз на тиждень.
19. Композиція за п. 17 або 18, де введення проводять протягом періоду часу, що складає щонайменше 3 місяці, переважно 6 місяців.
20. Композиція за будь-яким з пп. 17-19, де анаболічний стероїд вибраний з групи, яка складається з оксиметолону, оксандролону, нандролону і їх складних ефірів, і переважно являє собою нандролону деканоат.
21. Композиція за будь-яким з пп. 17-20, де вітамін D вибраний з групи, яка складається з ергокальциферолу, холекальциферолу, кальцидіолу, кальцитріолу, доксеркальциферолу, і кальципотриєну.
22. Композиція за будь-яким з пп. 17-21, де введення проводять парентеральною ін'єкцією однократної препаративної форми, що містить як анаболічний стероїд, так і вітамін D, переважно комбінацію нандролону деканоату і холекальциферолу.
23. Композиція за п. 22, де однократна препаративна форма містить від 5 до 600 мг нандролону деканоату і від 17,5 мкг до 15 мг холекальциферолу.
24. Композиція за будь-яким з пп. 17-23 для застосування як відновної допоміжної терапії для старезних літніх пацієнтів, зокрема, після госпіталізації або хірургічної операції.

25. Застосування анаболічного стероїду, переважно нандролону деканоату, і вітаміну D, переважно холекальциферолу, при отриманні парентеральної композиції для лікування за будь-яким з пп. 1-9.

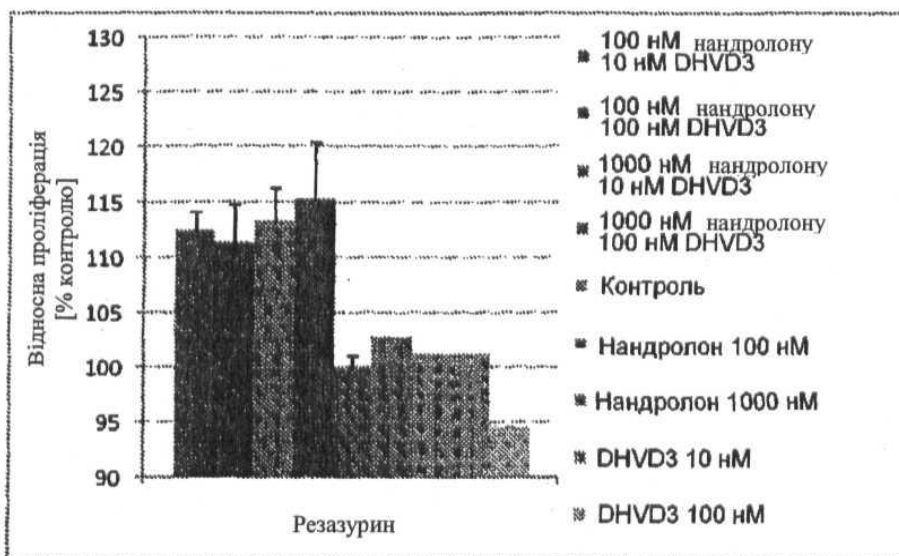


Фіг. 1

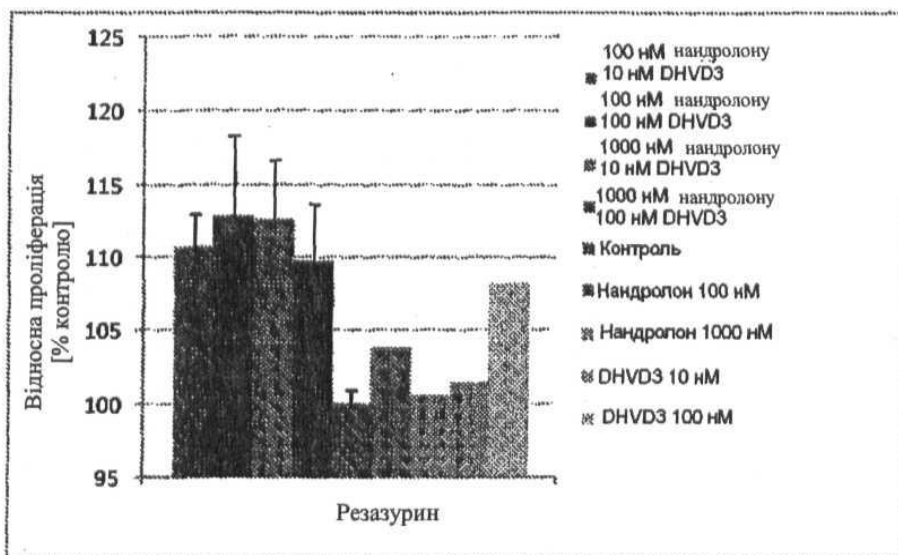


Фіг. 2

(a)



(b)



Фіг. 3

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601