



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 87158

(13) C2

(51) МПК (2009)

A61K 9/06

A61K 31/568

A61K 47/10

A61P 15/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД(54) ТЕСТОСТЕРОНОВИЙ ГЕЛЬ, ЩО МІСТИТЬ ПРОПІЛЕНГЛІКОЛЬ ЯК ПІДСИЛЮВАЧ ПРОНИКАЮЧОЇ
ЗДАТНОСТІ

1

2

(21) a200703868

(22) 07.09.2005

(24) 25.06.2009

(86) PCT/EP2005/010293, 07.09.2005

(31) 04292170.0

(32) 09.09.2004

(33) EP

(31) 60/638,360

(32) 23.12.2004

(33) US

(46) 25.06.2009, Бюл.№ 12, 2009 р.

(72) САЛЕН-ДРУЕН ДОМІНІК, FR

(73) ЛАБОРАТУАР БЕЗЕН ЕНТЕРНАСЬОНАЛЬ,
FR

(56) WO 03/088974 A, 30.10.2003

WO 02/051421 A, 04.07.2002

WO 99/20257 A, 29.04.1999

WO 03/047548 A, 12.06.2003

(57) 1. Фармацевтична композиція, що містить, в
мас. % :

- від 0, 5 до 5,0 тестостерону,
- від 40,0 до 75,0 щонайменше одного C₂-C₆ спир-
ту,
- від 0,1 до 5,0 щонайменше однієї желеутворюю-
чої речовини,
- від 0, 05 до 5,0 пропіленгліколю,
- від 0,05 до 5,0 ізопропілміристату,
- необов'язково, воду.

2. Фармацевтична композиція за п. 1, в якій C₂-C₆
спирт вибрано із групи, що містить етанол, пропан-
1-ол і пропан-2-ол, а також їх суміші.3. Фармацевтична композиція за п. 1 або 2, в якій
желеутворююча речовина вибрана з групи, що
містить полімери на основі акрилової кислоти, ка-
рбоксиметилцелюлози, гідроксипропілцелюлози,
гідроксietилцелюлози, похідні целюлози та їх су-
мішей.4. Фармацевтична композиція за будь-яким з по-
передніх пунктів, в якій дана желеутворююча ре-
човина являє собою щонайменше одну желеутво-рюючу речовину, вибрану з групи, що складається
з карбомерів, таких як Carbopol®980,
Carbopol®934P, Carbopol®1342, Carbopol®1382 та
їх сумішей.5. Фармацевтична композиція за будь-яким з по-
передніх пунктів, яка додатково містить основу,
переважно вибрану із групи, що складається з
триетаноламіну, гідроксиду натрію, гідроксиду
амонію, гідроксиду калію, аргініну, амінометилпро-
панолу, трометаміну та їх сумішей.6. Гель, що використовується для трансдермаль-
ного або черезшкірного введення, який містить
фармацевтичну композицію за будь-яким з пунктів
1-5.7. Дозувальний пакет, який містить фармацевтич-
ну композицію за будь-яким з пунктів 1-5 або гель
за пунктом 6.8. Дозувальний пакет за п. 7, в якому дозувальним
пакетом є блок із дозувальних пакетів.9. Дозувальний пакет за п. 7, в якому дозувальним
пакетом є дозувальний пакет з багатьма дозуван-
нями.10. Дозатор, оснащений ручним насосом, що міс-
тить фармацевтичну композицію за будь-яким із
пунктів 1-5 або гель за пунктом 6.11. Спосіб приготування фармацевтичної компо-
зиції за будь-яким із пунктів 1-5, що містить опера-
ції, за якими:

- готують суміш, що містить принаймні один C₂-C₆
спирт, пропіленгліколь, ізопропілміристат та тес-
тостерон;

- додають до суміші желеутворюючу речовину і
перемішують;

- необов'язково додають воду і перемішують;

- необов'язково додають основу і знов перемішу-
ють.

12. Спосіб за п. 11, який відрізняється тим, що
фармацевтична композиція виконана у формі ге-
лю.

(13) C2

(11) 87158

(19) UA

Даний винахід відноситься до фармацевтичних композицій і гелів, що містять тестостерон, а також до способів їх використання.

Тестостерон в організмі чоловіків

Тестостерон є основним андрогеном, циркулюючим в чоловічому людському організмі, який синтезується з холестеролу. Приблизно, 500 мільйонів клітин Лейдіга в яєчках секретують (виділяють) більше 95% від 6-7мг тестостерону, який виробляється за одну добу. Два гормони, що виробляються гіпофізом, а саме, лютеїнізуючий гормон («LH») і фолікулостимулюючий гормон («FSH»), необхідні для розвитку і підтримки у нормальному стані тестикулярної функції і негативно регулювання утворення тестостерону. Циркулюючий тестостерон метаболізується у різні 17-кетостероїди по двох різних шляхах. Тестостерон може бути метаболізований у дигідротестостерон («DHT») за допомогою ензиму 5-альфа-редуктази або у естрадіол («E2») за допомогою ароматаза-ензимового комплексу. Тестостерон циркулює в крові на 98% пов'язаним з протеїном. В чоловіків, приблизно, 40% зв'язків належить до статевий-гормон-зв'язуючого глобуліну високого афінитету («SHBG»). Інші 60% слабко зв'язані з альбуміном. При цьому кількісні вимірювання тестостерону узяті з клінічних лабораторій

Надана нижче таблиця з медичного центру UCLA-Harbor Medical Center дає уявлення про концентрацію гормону у нормальних дорослих чоловіків:

Рівні гормону у нормальних чоловіків:	Нормальний діапазон наявності гормонів
Тестостерон (загальний)	від 298 до 1043нг/дл
Вільний тестостерон	від 3,5 до 17,9нг/дл
DHT	від 31 до 193нг/дл
Відношення DHT/T	від 0,052 до 0,33
DHT+T	від 372 до 1349нг/дл
SHBG	від 10,8 до 46,6нмол/л
FSH	від 1,0 до 6,9мЛ а.о.м.*/мл
LH	від 1,0 до 8,1мЛ а.о.м.*/мл
E2	від 17,1 до 46,1пг/мл

* а.о.м. - атомна одиниця маси

В літературі зустрічаються повідомлення про терміни напівжиття тестостерону, які становлять від 10 до 100 хвилин. Проте дослідники, дійсно, погоджуються з тим, що циркулюючий тестостерон відрізняється добовими коливаннями у нормальних молодих чоловіків. Максимальні рівні виникають, приблизно, від 6:00 до 8:00 ранку, при цьому рівні знижуються протягом дня. Характеристичні профілі мають максимальний рівень тестостерону 720нг/дл і мінімальний рівень тестостерону 430нг/дл. Проте, фізіологічна значущість такого добового циклу, якщо він спостерігається, не ясна.

Тестостерон у жінок

Виділення андрогенних стероїдів з сечею у дорослих жінок було продемонстроване більше 50

років тому назад. З тих пір фізіологи і клініцисти досліджують джерела і біологічні функції тестостерону і інших ендогенних андрогенних гормонів в організмі жінки. Відомо, що у жінок андрогени секретуються яєчниками і наднирковими залозами. Кожне джерело виробляє близько 50% тестостерону (безпосередньо або через попередника) від загальної кількості, яка складає, приблизно, до 300мгг тестостерону, що виробляються щодоби в здоровому «циркулюючому» жіночому організмі. Якщо несприятлива дія надмірного вироблення андрогену, що має місце при синдромі полікістозного яєчника і деяких андроген-утворюючих пухлинних новоутвореннях, була досконально описана, то нормальна фізіологічна дія андрогенів на процеси, що відбуваються в жіночому організмі, ще мало вивчена. Виходячи з результатів експериментів, що проводяться над тваринами, фізіологія чоловічого організму і симптоми жіночого організму з дефіцитом вироблення андрогену, основні фізіологічні вияви наявності андрогену в нормальному організмі жінки включають, але не обмежуються анаболічними ефектами, що виявляються в стані м'язів, шкіри, волосся і кісток; стимулюючою дією на еритро(цито)поез; модулюючою дією на імунні функції; психологічною дією на настрій, самопочуття і сексуальну функцію.

Крім того, ендогенні андрогени грають важливу роль в зростанні лобкового волосся, причому існує припущення, що вони модулюють дію естрогену і прогестинів на різноманітність репродуктивних тканин-мішеней. Крім того, існує впевненість в тому, що андрогени грають важливу роль в модуляції секреторної функції слизних залоз.

П'ятдесят відсотків циркулюючого тестостерону є похідними від прямої секреції яєчників в клітини слизової оболонки, яка здійснюється під контролем лютеїнізуючого гормону. Інша половина є похідною від периферійної конверсії дегідроепіандростерону, андростенедіону і дегідроепіандростерон-сульфату попередників андрогену надниркової залози. Тестостерон може бути також перетворений в дигідротестостерон або естрадіол. Таким чином, тестостерон виконує функцію, як гормону, так і прогормону.

Тестостерон циркулює в крові на 98% пов'язаним з протеїном. В жінок, приблизно 66% зв'язків представляють собою статевий гормон-зв'язуючий глобулін високого афінитету. Інші 34% характеризуються слабким зв'язком з альбуміном. При цьому цілий ряд вимірювань тестостерону отримані з клінічних лабораторій. Впорядкованість афінитету стероїдів, найбільш сильно зв'язаних статевий гормон-зв'язуючим глобуліном, є наступною: дигідротестостерон>тестостерон>андростенедіон>естрадіол>естрон. Статевий гормон-зв'язуючий глобулін більш інтенсивно зв'язує дигідротестостерон, чого не можна сказати про дигідротестостерон-сульфат. Надана нижче таблиця демонструє приблизні гормональні рівні у нормальної жінки у віці, попередньому до менопаузи.

Гормональні рівні у нормальної жінки у віці, попередньому до менопаузи

Гормон	Середнє значення +/-sd(стандартне відхилення)	Серединне значення	Діапазон
Тестостерон (нмол/л)	1,20+/-0,69	0,98	0,4-2,7
Вільний тестостерон (пмол/л)	12,80+/-5,59	12,53	4,1-24,2
% Вільного тестостерону від загальної кількості тестостерону	1,4+/-1,1	1,1	0,4-6,3
Лютеїнізуючий гормон (IU(вакцинуюча доза)/л)	7,2+/-3,3	6,7	3,0-18,7
Фолікулостимулюючий гормон (IU(вакцинуюча доза)/л)	4,7+/-3,6	4,2	1,5-21,4
Статевий гормон-зв'язуючий глобулін (нмол/л)	66,1+/-22,7	71,0	17,8-114,0

На відміну від станів, визначених дефіцитом інших гормонів, стан, визначений дефіцитом тестостерону в жінок, повсюдно не сприймається як дійсно існуючий клінічний стан. Проте, існує цілий ряд чітко визначених об'єктів (пацієнтів), в яких вироблення андрогену характеризується явним дефіцитом, причому у зв'язку із даними випадками вже існує опис їх асоційованої симптоматології, включаючи, наприклад, молодих ооварієктомізованих/гісторекомізованих жінок (жінок, що перенесли операції по видаленню яєчників/матки), жінок, що характеризуються входженням в період менопаузи після естроген-заміщувальної терапії, жінок після орального прийому контрацептивів, жінок з дисфункцією надниркових залоз, жінок з кортикостероїд-індукованим придушенням функції надниркових залоз, а також жінок, інфікованих вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ).

Оскільки підвищення концентрацій тестостерону змінює сексуальну активність і лібідо, дослідники вивчили способи введення тестостерону в організм чоловіків, а також і жінок. Ці способи включають внутрішньом'язові ін'єкції, оральне вживання, імплантати у вигляді кульок, гранул і трансдермальних накладок.

Проте дані способи введення тестостерону страждають одним або декількома недоліками. Наприклад, підшкірні імплантати у вигляді кульок, гранул і т.п., а також ін'єкції ефіру болючі і вимагають хірургічного втручання та/або відвідання лікаря. Крім того, у гіпогонадальних чоловіків терапія імплантації включає ризик екструзії (виштовхування) (8,5%), кровотечі (2,3%) або зараження (0,6%). Багато які з цих способів, що пов'язані з оральними/под'язичними/трансбукальними препаратами, мають небажані фармакокінетичні профіль-утворюючі суперфізіологічні тестостеронові концентрації, за якими слідує повернення в початковий стан. Трансдермальні накладки не забезпечують оптимальних фармакокінетичних характеристик, крім того, вони викликають незручності для багато яких об'єктів використання і пов'язані із значними подразненнями шкірного покриву. На додаток до сказаного, треба зазначити, що такі накладки не забезпечують гнучкості в дозуванні, візуально непривабливі і мають тенденцію відвалюватися, особливо під час фізичних вправ, що супроводяться різкими рухами. Оральний прийом призводить до вироблення незадовільних рівнів тестостерону і до непередбачуваної картини абсорбції (лікарської речовини) у пацієнтів. Більш того, оскільки печінка метаболізує препарат, існує не-

безпека його токсичної дії на печінку, не говорячи вже про основний шлях метаболізму.

Не так давно однопроцентний гель тестостерону був схвалений як препарат для чоловіків. Даний препарат характеризується гнучкістю дозування і має не більше ніж мінімальну подразнювальну дію на шкіру. Гель існує на комерційному ринку Сполучених Штатів Америки і захищений товарним знаком AndroGel®, Unimed Pharmaceutical, Inc., DeerfieldJll., Solvay Pharmaceutical, Inc.Co., Marietta, GA30062.

Склад AndroGel®

Склад AndroGel® речовина	Кількість (вага/вага) на 100г гелю
Тестостерон	1,0г
Карбопол 980	0,90г
Ізопропілміристат	0,50г
0,1N NaOH	4,72г
Етанол (95% об'єм/об'єм)	72,5г*
Очищена вода (qs)	100г

* відповідає 67г абсолютного етанолу

Даний винахід забезпечує фармацевтичні композиції, гелі, що містять тестостерон, і способи їх використання. Більш конкретно, даний винахід забезпечує водно-спиртові/спиртові фармацевтичні композиції і гелі, придатні для поверхневого і трансдермального застосування, причому, дані композиції містять пропіленгліколь. Крім того, на додаток до здатності дуже ефективно доставляти тестостерон до призначеної цілі, композиція за даним винаходом дуже приваблива естетично. Було знайдено, що пропіленгліколь має високу потенційну здатність підсилювати проникаючу здатність композиції за даним винаходом, і може використовуватися як одиночний підсилювач проникаючої здатності препарату, так і в поєднанні з іншим(и) підсилювачем(ами) проникаючої здатності, наприклад, з ізопропілміристатом.

Даний винахід відноситься до фармацевтичної композиції, що містить тестостерон, щонайменше, один C2-C6 спирт, щонайменше, один желеутворюючий агент, принаймні, один підсилювач проникаючої здатності і воду.

Дана фармацевтична композиція може бути виготовлена в різних формах, наприклад, у вигляді гелю, розчину, крему, лосьйону, розпилюваного розчину, мазі, аерозолі. Переважною формою даної фармацевтичної композиції є гель.

Термін «тестостерон» в контексті даного винаходу відноситься не тільки до, власне, тестостерону, але також і до енантіомерів, ізомерів, таутомерів, солі, хелатів, ефірів, амідів, похідних і промедикаментів, а також їх попередників, наприклад, DHT (дигідротестостерону), 17-метилтестостерону, 17[альфа]-метил-тестостерон 3-циклопентиленолефіру, тестостероненантату, тестостеронципіонату, тестостеронундеканоату, тестостеронциклодекстрину, тестостеронбіцикла-ту. Відповідно до винаходу тестостерон може бути природного походження або результатом синтезу або напівсинтезу.

Спирти C2-C6 відомі з рівня техніки. Перелік таких спиртів включає етанол, пропанол, ізопропанол (пропан-2-ол), бутанол, Бутан-1-ол, Бутан-2-ол, тер-бутанол, пентаноли, гексаноли. Перевага віддається етанолу, оскільки він забезпечує ефективність трансдермального проникнення тестостерону при швидкому випаровуванні під час контакту зі шкірою.

Желеутворюючі агенти також відомі з рівня техніки. Термін «желеутворюючий агент», в основному, відноситься до сполуки, можливо, полімерної природи, що має здатність до желеутворення при контакті із спеціальним розчином, наприклад, водою. Желеутворюючі агенти сприяють підвищенню в'язкості фармацевтичних композицій відповідно до даного винаходу, але, крім того, вони можуть виконувати роль розчинювальних агентів. Прикладами желеутворюючих речовин можуть служити аніонні полімери, наприклад, полімери на основі акрилової кислоти (включаючи полімери на основі поліакрилової кислоти, наприклад, CARBOPOL[®] виробництва B.F. Goodrich Specially Plymers та Chemical Division Cleveland, Ohio), похідні целюлози, поллоксамери і поллоксаміни, більш конкретно, Карбомери або полімери на основі акрилової кислоти, наприклад, Carbopol[®] 980 або 940, 981 або 941, 1382 або 1382, 5984, 2984, 934 або 934P (полімери Carbopol[®] завжди є полімерами акрилової кислоти, зв'язаними перехресним зв'язком з алільною сахарозою або алілпентаеритритолом), Pemulen TR1[®] або TR2[®], Ultrez, Synthalen CR та інші); похідні целюлози, наприклад, етилцелюлози, гідроксипропілцелюлози, гідроксиетилцелюлози, гідроксипропілметилцелюлози (HPMC), карбоксиметилцелюлози (СМС) і інші; поллоксамери або поліетилен-поліпропіленспівполімери, наприклад, Lurtol[®] марки 68 або 127, поллоксаміни і інші желеутворюючі агенти, наприклад, цитозан, декстран, пектини і природні смоли. Всі з вказаних желеутворюючих агентів, самостійно або в певних поєднаннях, можуть бути використані у фармацевтичних композиціях за даним винаходом. Дані желеутворюючі речовини можуть бути відібрані, виходячи з показника рН композиції, відповідної до даного винаходу, і заданої в'язкості.

Гідроксипропілцелюлоза, Carbopol[®] 980 і Lurtol[®] є особливо переважними, виходячи з контексту даного винаходу.

З рівня техніки відомі також речовини, що підсилюють проникаючу спроможність. Термін «підсилювач проникаючої спроможності», в основному, відноситься до речовини, яка відома своєю

здатністю прискорювати введення лікарської речовини або активного першоджерела (елемента) через шкірний покрив. Дані речовини також зустрічаються під назвою прискорювачів проникнення, ад'ювантів і промоторів абсорбції. Даний клас включає речовини з різними механізмами дії, які, наприклад, здатні поліпшувати розчинність лікарських речовин і їх здатність дифундувати, а також речовини, які поліпшують трансдермальну абсорбцію шляхом зміни здатності stratum corneum утримувати вологу, сприяють пом'якшенню шкіри, поліпшенню її проникності, діючи як активізатори проникаючої спроможності або як речовини, що сприяють відкриванню фолікул волосся, або тимчасово змінюють стан шкіри, наприклад, її граничний шар.

Якщо інше не обумовлене, процентний вміст (%) співвідноситься з ваговими кількостями, виходячи із загальної ваги композиції.

Відповідно до одного з аспектів даного винаходу, вказана фармацевтична композиція містить від 0,5 до 5,0% (вага/вага), переважно, від 0,5 до 2,5% (вага/вага), більш переважно, від 0,6 до 2,0% (вага/вага), ще більш переважно, від 0,7 до 1,5% (вага/вага), і ще більш переважно, від 0,75 до 1,25% (вага/вага), навіть ще більш переважно, від 0,8 до 1,2% (вага/вага), і навіть ще більш переважно, від 0,9 до 1,1% (вага/вага), а найбільш переважно, близько 1,0% (вага/вага) тестостерону.

Відповідно до іншого аспекту даного винаходу, вказана фармацевтична композиція містить від 0,5 до 5,0% (вага/вага), переважно, від 0,5 до 2,5% (вага/вага), більш переважно, від 0,75 до 2,25% (вага/вага), ще більш переважно, від 0,9 до 2,0% (вага/вага), і ще більш переважно, від 1,0 до 1,8% (вага/вага), навіть ще більш переважно, від 1,25 до 1,75% (вага/вага), і навіть ще більш переважно, від 1,3 до 1,6% (вага/вага), а найбільш переважно, близько 1,5% (вага/вага) тестостерону.

Відповідно до ще одного аспекту даного винаходу, вказана фармацевтична композиція містить від 40,0 до 75,0% (вага/вага), переважно, від 40,0 до 70,0% (вага/вага), більш переважно, від 45,0 до 65,0% (вага/вага), ще більш переважно, від 50,0 до 60,0% (вага/вага), і ще більш переважно, від 52,0 до 58,0% (вага/вага), навіть ще більш переважно, від 53,0 до 57,0% (вага/вага), і навіть ще більш переважно, від 54,0 до 56,0% (вага/вага), а найбільш переважно, близько 56% (вага/вага), принаймні, одного спирту C2-C6.

Відповідно до іншого аспекту винаходу, вказаний спирт C2-C6 вибирають з групи, що включає етанол, пропан-1-ол, пропан-2-ол і їх суміші. Переважним спиртом C2-C6 є етанол.

Відповідно до ще одного аспекту даного винаходу, вказана фармацевтична композиція містить від 0,1 до 5,0% (вага/вага), переважно, від 0,15 до 4,5% (вага/вага), більш переважно, від 0,2 до 4,0% (вага/вага), ще більш переважно, від 0,25 до 3,5% (вага/вага), і ще більш переважно, від 0,3 до 3,0% (вага/вага), навіть ще більш переважно, від 0,4 до 2,5% (вага/вага), і навіть ще більш переважно, від 0,5 до 2,0% (вага/вага), а найбільш переважно, приблизно, від 0,5 до 1,0% (вага/вага), принаймні, одного желеутворюючого агента.

Відповідно до ще одного об'єкту даного винаходу, даний желеутворюючий агент вибирають з групи, до складу якої входять полімери на основі акрилової кислоти, включаючи целюлозу, включаючи ефіри целюлози і її похідні (похідними целюлози є етилцелюлоза, гідроксипропілцелюлоза, гідроксиетилцелюлоза, гідроксипропілметилцелюлоза (HPMC), карбоксиметилцелюлоза (CMC) і інші); Карбомери, такі як полімери Carborol[®], наприклад, Carborol[®] 980 або 940, 981 або 941, 1382 або 1382, 5984, 2984, 934 або 934P, Pemulen TR1[®] або TR2[®], Ultrez, Synthalen CR і др.); полоксами, полоксамери або поліетилен-поліпропіленспівполімери, наприклад, Lurtol.

Відповідно до ще одного аспекту даного винаходу, вказана фармацевтична композиція містить від 0,1 до 5,0% (вага/вага), переважно, від 0,15 до 4,5% (вага/вага), більш переважно, від 0,2 до 4,0% (вага/вага), ще більш переважно, від 0,3 до 3,5% (вага/вага), і ще більш переважно, від 0,4 до 3,0% (вага/вага), навіть ще більш переважно, від 0,5 до 2,5% (вага/вага), а найбільш переважно, від 0,5 до 2,0% (вага/вага) пропіленгліколю. Пропіленгліколь є у високому ступені ефективним і сумісним підсилювачем проникаючої спроможності відносно вмісту тестостерону і композицій по даному винаходу. Крім того, використання етиленгліколю відповідно до даного винаходу забезпечує фармацевтичним композиціям дуже привабливий вигляд. Фармацевтичні композиції за даним винаходом дуже прозорі і візуально привабливі, вони мають дуже приємну текстуру, що сприятливо впливає на психічний стан пацієнта. При цьому фармацевтичні композиції за даним винаходом не потребують високого вмісту спиртів. Більш того, композиції за даним винаходом дуже стабільні, причому, пропіленгліколь отримав оцінку речовини, що добре поєднується із стандартними нейтралізаторами, наприклад, триетаноламіном. Композиції за винаходом можуть містити декілька підсилювачів проникаючої спроможності.

Відповідно до даного винаходу, дана фармацевтична композиція може додатково містити воду.

В одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 0,5 до 5,0% (вага/вага) тестостерону
- від 40,0 до 75,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 5,0% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,1 до 5,0% (вага/вага) пропіленгліколю
- необов'язково, воду.

В іншому прикладі здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 0,75 до 1,25% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 4,0% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,2 до 4,0% (вага/вага) пропіленгліколю
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 0,8 до 1,2% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 3,0% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,3 до 3,0% (вага/вага) пропіленгліколю
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 0,9 до 1,1% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 2,5% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,4 до 2,5% (вага/вага) пропіленгліколю
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- близько 1,0% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 2,5% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,4 до 2,5% (вага/вага) пропіленгліколю
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 1,0 до 2,0% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 75,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 5,0% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,1 до 5,0% (вага/вага) пропіленгліколю
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 1,25 до 1,75% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 4,0% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,2 до 4,0% (вага/вага) пропіленгліколю
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 1,4 до 1,6% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 3,0% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,3 до 3,0% (вага/вага) пропіленгліколю
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- близько 1,5% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту

- від 0,1 до 2,5% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,4 до 2,5% (вага/вага) пропіленгліколю
- необов'язково, воду.

Дана фармацевтична композиція придатна для контрольованого введення тестостерону в організм людини. При цьому дана фармацевтична композиція може наноситися пацієнтом, ним або нею, самостійно і не вимагає присутності лікаря. Крім того, введення даної композиції не вимагає ні хірургічного втручання, ні ін'єкцій.

Перевагою даного винаходу є те, що пропіленгліколь діє як дуже активний підсилювач проникаючої спроможності тестостерону, зокрема, в поєднанні з дозою тестостерону і желеутворюючого агента(ів), відповідно до винаходу.

В іншому аспекті фармацевтична композиція за винаходом додатково містить основу. Дана основа є фармацевтично сумісною і, переважно, вибирається з групи, що включає триетаноламін, гідроокис натрію, гідроокис амонію, гідроокис калію, аргінін, амінометилпропанол або трометамін і їх суміші. Там, де показник рН даної фармацевтичної композиції не оптимізований для трансдермального введення, наприклад, там, де вказаний вище желеутворюючий агент містить, принаймні, один полімер, на основі акрилової кислоти, згадана основа сприяє забезпеченню нейтралізації фармацевтичної композиції, що заявляється, для нанесення на поверхню людської шкіри. Крім того, дана основа (нейтралізатор) забезпечує оптимальне набухання полімерних ланцюгів в процесі нейтралізації зарядів і формуванні солей полімерів. Зокрема, коли даний желеутворюючий агент містить полімер на основі акрилової кислоти, дана основа, переважно, містить триетаноламін. Це також забезпечує композиції за даним винаходом досягнення оптимальної в'язкості. Кваліфікований фахівець знає, як вибрати відповідну кількість основи для даної композиції, особливо, відносно природи присутнього в композиції желеутворюючого агента і вміст в ній спирту, щоб отримати необхідне остаточне значення показника рН для даної композиції. Наприклад, за наявності карбомерів та/або при високому вмісті спирту, трометамін та/або NaOH можуть бути використані як основи в кількості, вибраній так, щоб отримати задане остаточне значення рН композиції. Крім того, в одному з прикладів здійснення фармацевтична композиція по справжньому винаходу містить від 0,1 до 5,0% (вага/вага), переважно, від 0,15 до 4,5% (вага/вага), більш переважно, від 0,2 до 4,0% (вага/вага), ще більш переважно, від 0,25 до 3,5% (вага/вага), і ще більш переважно, від 0,3 до 3,0% (вага/вага), навіть ще більш переважно, від 0,4 до 2,5% (вага/вага), ще більш переважно, від 0,5 до 2,0% (вага/вага), а найбільш переважно, від 0,5 до 1,0% (вага/вага) триетаноламіну.

Переважно, значення показника рН фармацевтичної композиції відповідно до винаходу повинне складати від 2 до 9, переважно, від 3 до 8, а ще більш переважно, від 3 до 7.

Відповідно до ще одного аспекту даного винаходу фармацевтична композиція, що заявляється, додатково містить ізопропілміристант. При створенні винаходу було несподівано знайдено, що

добавка ізопропілміристанту як додаткового підсилювача проникаючої спроможності, у разі використання разом з пропіленгліколем, призводить до відчутно поліпшених результатів. Переважно, дана фармацевтична композиція містить від 0,05 до 5,0% (вага/вага), більш переважно, від 0,1 до 4,0% (вага/вага), ще більш переважно, від 0,15 до 3,5% (вага/вага), і ще більш переважно, від 0,25 до 2,5% (вага/вага), навіть ще більш переважно, від 0,25 до 2,0% (вага/вага), ще більш переважно, від 0,25 до 1,5% (вага/вага), від 0,25 до 1,0% (вага/вага), а найбільш переважно, від 0,5 до 0,75% (вага/вага) ізопропілміристанту. Відповідно, в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 0,5 до 5,0% (вага/вага) тестостерону
- від 40,0 до 75,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 5,0% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,1 до 5,0% (вага/вага) пропіленгліколю
- від 0,1 до 4,0% (вага/вага) ізопропілміристанту
- необов'язково, воду.

В іншому прикладі здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 0,75 до 1,25% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 4,0% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,2 до 4,0% (вага/вага) пропіленгліколю
- від 0,15 до 2,0% (вага/вага) ізопропілміристанту
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 0,8 до 1,2% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 3,0% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,3 до 3,0% (вага/вага) пропіленгліколю
- від 0,35 до 1,5% (вага/вага) ізопропілміристанту
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 0,9 до 1,1% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 2,5% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,4 до 2,5% (вага/вага) пропіленгліколю
- від 0,4 до 1,0% (вага/вага) ізопропілміристанту
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- близько 1,0% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 2,5% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини

- від 0,4 до 2,5% (вага/вага) пропіленгліколю
- близько 0,5% (вага/вага) ізопропілміристату
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 1,0 до 2,0% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 75,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 5,0% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,1 до 5,0% (вага/вага) пропіленгліколю
- від 0,1 до 4,0% (вага/вага) ізопропілміристату
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 1,25 до 1,75% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 4,0% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,2 до 4,0% (вага/вага) пропіленгліколю
- від 0,15 до 2,0% (вага/вага) ізопропілміристату
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- від 1,4 до 1,6% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 3,0% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,3 до 3,0% (вага/вага) пропіленгліколю
- від 0,35 до 1,5% (вага/вага) ізопропілміристату
- необов'язково, воду.

Ще в одному з прикладів здійснення даний винахід розкриває фармацевтичну композицію, що включає:

- близько 1,5% (вага/вага) тестостерону
- від 50,0 до 70,0% (вага/вага), принаймні, одного C2-C6 спирту
- від 0,1 до 2,5% (вага/вага), принаймні, однієї желеутворюючої речовини
- від 0,4 до 2,5% (вага/вага) пропіленгліколю
- від 0,4 до 2,5% (вага/вага) ізопропілміристату
- необов'язково, воду.

Додатково дана фармацевтична композиція може містити звичайні фармацевтичні добавки, включаючи, сіль(солі), пом'якшувальний засіб(и), стабілізатор(и), протимікробну речовину(и), ароматизатор(и) і носій(і). Згадана вище фармацевтична композиція може також включати, принаймні, ще один активний додатковий інгредієнт, наприклад, додатковий гормон.

Даний винахід забезпечує також гель, використовуваний для трансдермального або черезшкірного введення, включаючий вказану фармацевтичну композицію за даним винаходом. Таким чином, даний винахід також направлений на створення водо-спиртового гелю, що містить тестостерон.

Відповідно до ще одного прикладу здійснення, даний винахід забезпечує пакет дозування, блок з пакетів дозувань або пакет дозування з множин-

ними дозуваннями, які містять фармацевтичну композицію або водо-спиртовий гель, що заявляється. Таке пакування фармацевтичної композиції робить її застосування більш зручною для пацієнтів. Крім того, вказані форми пакування можуть відображати графік прийому, указуючи, наприклад, на щоденний або щотижневий прийом.

Відповідно до ще одного прикладу здійснення, передбачено використання дозуючого пристрою, який містить фармацевтичну композицію або водо-спиртовий гель, що заявляється, який (пристрій) оснащений, наприклад, ручним насосом або клапаном. Такі дозуючі пристрої дають можливість варіювати дози, що призначаються, відповідно до кількості композиції, яка повинна бути використана.

Відповідно до одного з прикладів здійснення винаходу, дані пакети або дозуючі пристрої можуть бути укомплектовані інструкціями для користувачів.

Фармацевтичні композиції, гелі, пакети і контейнери за даним винаходом призначені для лікування стану обумовленого дефіцитом тестостерону, а також для лікування та/або запобігання станів та/або порушень (захворювань), пов'язаних з дефіцитом тестостерону.

Термін «лікувати», «лікування» в контексті даного винаходу відноситься до будь-якого способу лікування стану, порушення в стані (розладу) або захворювання, пов'язаного з депресивним розладом, і включає, але, не обмежується перерахованим нижче, попередження виникнення стану, порушення або захворювання у об'єкта, який має нахил до виникнення такого стану, порушення або захворювання, але якому ще не був поставлений діагноз щодо наявності ознак вказаного стану, розладу або захворювання як такого; пригнічення такого стану, розладу або захворювання, наприклад, припинення розвитку такого стану, розладу або захворювання; послаблення такого стану, розладу або захворювання, наприклад, забезпечення регресії такого стану, розладу або захворювання; послаблення стану, викликаного захворюванням або розладом, наприклад, припинення розвитку симптомів захворювання або розладу.

Термін «запобігати», «запобігання» відносно стану, розладу або захворювання означає відсутність розвитку стану, розладу або захворювання, якщо навіть вони і не були виявлені, або відсутність подальшого розвитку стану, розладу або захворювання, якщо розвиток такого стану, розладу або захворювання вже був виявлений.

В контексті даного винаходу термін «дефіцит тестостерону» відноситься до більш низьких сироваткових рівнів вільного тестостерону в пацієнта в порівнянні з середніми сироватковими рівнями здорового об'єкта такого ж віку. Наприклад, нормальні циклюючі жінки виробляють, приблизно, 300мг тестостерону за добу. Їх загальні сироваткові рівні тестостерону, приблизно, складають, в основному, від 20нг/дл до 80нг/дл, що в середньому дорівнює 40нг/дл. У здорових жінок, наприклад, середні рівні вільного тестостерону складають, в основному, близько 3,6пг/мл. Проте деякі чинники можуть впливати на сироваткові рівні, як загально-го, так і вільного тестостерону. Наприклад, у регу-

лярно овулюючих жінок присутній невеликий, але дуже важливий сплеск рівнів тестостерону в плазмі під час середньої третини менструального циклу. Проте середні рівні тестостерону (1,2нмол/л або 33нг/дл) і середні рівні вільного тестостерону (12,8пмол/л або 3,6пг/мл) під час лютеальної і фолікулярної фаз значно не відрізняються один від одного. Крім того, вироблення тестостерону безперервно знижується після 30 років, внаслідок чого у 60-річній жінки сироваткові рівні тестостерону складають тільки 50% від рівнів молоді 30-річної жінки. Хоча процентний вміст вільного тестостерону, в основному, не змінюється, з віком, все-таки спостерігається абсолютне зниження вільного тестостерону. Таке зниження не трапляється раптом, з настанням менопаузи, навпаки, все відбувається поступово і безперервно в результаті зниження з віком андрогену, що виробляється, наднирковими залозами і яєчниками. При цьому жінки починають відчувати симптоми, асоційовані з менопаузою в тому віці, який безпосередньо передують менопаузі. Зниження тестостерону, що слідує за менопаузою, відбувається в результаті поєднання таких чинників, як згасання функції яєчників, зниження ниркової секреції, а також периферична конверсія (зміни). Так, наприклад, після видалення яєчників концентрації тестостерону знижуються на 50%. Діагноз дефіциту тестостерону відомий лікарю середньої кваліфікації, що практикує у відповідній області медицини.

Фармацевтичні композиції і гелі за даним винаходом використовуються також для лікування низки фізіологічних і психологічних параметрів та/або станів, пов'язаних з дефіцитом тестостерону у чоловіка або жінки. Наприклад, фармацевтичні композиції і гелі заданим винаходом корисні для:

- підвищення лібідо і поліпшення сексуальної функції та/або лікування статевої дисфункції; нормалізація гіпогонадизму;
- підвищення мінеральної густини кістки і посилення відповідних генів-маркерів, зростання м'язової маси тіла і зниження жирової маси тіла, поліпшення стану м'язів і їх функціональних характеристик;
- нормалізація рівнів глюкози, зниження виявів діабетичної ретинопатії, а також зниження потреби в інсуліні у хворих діабетом, лікування, попередження або зниження загрози утворення катаракти;
- лікування, запобігання або зниження ризику виникнення серцево-судинних захворювань, включаючи нормалізацію гіпертензії і лікування ожиріння, нормалізацію рівнів холестеролу, нормалізацію порушень в електрокардіограмах пацієнтів, а також лікування, запобігання або зниження вазомоторних симптомів;
- попередження виснажуючого синдрому, викликаного вірусом людського імунodefіциту;
- попередження остеопорозу, остеопенії, вагінальної сухості і стоншування вагінальної стінки, послаблення симптомів менопаузи і приливів, лікування передменструальних синдромів;
- лікування, попередження або зниження ризику виникнення хвороби Альцгеймера, недоумства;

- поліпшення пізнавальних здібностей, поліпшення настрою і підвищення самооцінки, лікування та/або попередження депресивних станів, лікування, попередження або послаблення станів, пов'язаних із зниженням розумових здібностей;

- лікування аутоімунних захворювань.

Дані фармацевтичні композиції і гелі можуть бути також використані в «комбінованій терапії» з іншим гормоном або стероїдом, або фармацевтичною речовиною, які збільшують рівні тестостерону у об'єкта (пацієнта), або з естрогенним гормоном, або іншою фармацевтичною речовиною, наприклад, антидепресантом.

Даний винахід відноситься також до способу приготування фармацевтичної композиції, наприклад, у вигляді гелю або розчину, відповідно до даного винаходу.

В одному з аспектів даний спосіб включає операцію розчинення тестостерону з перемішуванням в розчиннику, який складається, принаймні, з одного із спиртів C2-C6 і, принаймні, одного підсилювача проникаючої спроможності (наприклад, пропіленгліколю та/або ізопропілміристату).

В іншому аспекті даний спосіб включає операцію додавання води до отриманої суміші, що супроводжується перемішуванням.

Потім, з метою отримання композиції у вигляді гелю, до отриманої суміші додають при перемішуванні, принаймні, одну желеутворюючу речовину, наприклад, Carborol®.

До суміші, перемішуючи, можуть додавати основу/нейтралізатор, наприклад, триетаноламін.

Ще в одному аспекті даний винахід відноситься до способу приготування фармацевтичної композиції або гелю по даному винаходу, при цьому спосіб включає операції, при яких:

- готують суміш, що містить, принаймні, один спирт C2-C6, принаймні, один підсилювач проникаючої спроможності (наприклад, пропіленгліколь та/або ізопропілміристант) і тестостерон;
- можуть додавати воду і перемішувати;
- до отриманої суміші можуть додавати желеутворюючу речовину і перемішувати;
- можуть додавати основу і знову перемішувати.

Ще в одному аспекті даний винахід відноситься до використання гелю або розчину згідно із даним винаходом для приготування медичного продукту для трансдермального застосування, з метою лікування фізіологічного стану, пов'язаного з дефіцитом андрогена/тестостерона.

В іншому аспекті даний винахід відноситься до способу лікування.

В одному з прикладів здійснення даний спосіб містить операцію введення тестостерону в організм пацієнта, потребуючого в цьому.

Відповідно до одного з аспектів, фармацевтична композиція або гель за даним винаходом наноситься на здорову шкіру, наприклад, на область плеча або на зовнішню частину передпліччя, стегно або гомілку.

Щоб виміряти і визначити, яка кількість тестостерону повинна бути введена в організм пацієнта, потребуючого в цьому, за допомогою стандартної випробувальної техніки повинні бути виміряні концентрації сироваткового тестостерону.

Звідси витікає, що кваліфікований фахівець повинен знати, як визначити кількість композиції, яка повинна бути призначена, виходячи з точної дози тестостерону в даній фармацевтичній композиції.

В основному, звичайна денна доза фармацевтичної композиції у вигляді гелю або розчину відповідно винаходу складає від 2,5 до 5г препарату на добу.

Переваги винаходу видно з наступних прикладів здійснення, які виконують ілюстративну функцію і не обмежують об'єму захисту винаходу.

Кваліфікований фахівець повинен розуміти, що даний винахід може об'єднувати в собі будь-яке число переважних ознак, описаних вище.

Згадані в даному документі цитати включені до нього методом посилання. Інші приклади здійснення даного винаходу, які не показані в даному описі, очевидні для кваліфікованого фахівця і тому входять в об'єм захисту даного винаходу. Промислове застосування даного винаходу, якщо інше не вказане, може бути здійснено за допомогою технологій і технічних засобів, традиційних для фармакології і фармацевтики, відомої з рівня техніки.

Приклади

Приклад 1

Дослідження в області черезшкірного введення композицій тестостеронового гелю були проведені на шкірі тварин і людини з використанням тестостерону з радіоактивною міткою (^{14}C) і рідинного мерехтливості титрування. Дані дослідження дають доступ до кінетичних параметрів (виділена кількість через 24 години і після перенесення). Вивчалися два аспекти:

- результати фізико-хімічних досліджень (розчинність тестостерону і в'язкість гелю);
- черезшкірне введення (вплив концентрації тестостерону, природа желеутворюючої речовини, присутність підсилювача проникаючої спроможності)

Матеріали і методи

1. Матеріали

Хімічні речовини Тестостерон (Fluka)

Тестостерон ^{14}C (Amersham)

Желеутворюючі речовини

Carbopol[®] 934P (Carb. [®] 934P)(Polyplastic)

Carbopol[®] 980 (Carb. [®] 980)(Lot 4419, Laboratoires Besins Iscovesco)

Klucel[®]

Нейтралізатор

Триетаноламін (Lot 4343, Laboratoires Besins Iscovesco)

Підсилювачі проникаючої спроможності

Транскутанол (черезшкірний засіб)

(Gattefosse)

Олеїнова кислота (OA)(Prolabo)

Пропіленгліколь (PG)(Gattefosse)

Пропіленгліколь-

діпеларгонат(PGDP)(Gattefosse)

Модель шкіри тварини

Чоловіча особа голої криси, 5 тижнів

Модель шкіри людини

Біопсія хірургії черевної області, біла жінка, 35 років

2. Приготування тестостеронового гелю з радіоактивною міткою

Желеутворюючий агент (полімер) набухає протягом 12 годин в заданій кількості води. Мічений і немічений тестостерон розчиняють в етанолі, можливо, у присутності підсилювача проникаючої спроможності (здатності). Водна і спиртова фази перемішуються, потім нейтралізуються триетаноламіном. Перемішування здійснюється шпателем до повної гомогенізації. Готували сімнадцять композицій для черезшкірного введення. Їх склад наданий в таблиці, приведеній нижче (у вагових відсотках, виходячи із загальної ваги композиції). Композиції 13 і 14 відповідають нежелеутворюючим розчинам.

Таблиця 1

№	Тестостерон	Желеутворююча речовина	95%	Триетаноламін	PG	OA	Ізопропілміристат
11	1	1% Carb.934P	58	1,35	0	0	0
12	0,5	1% Carb.934P	58	1,35	0	0	0
13	0,5	0	58	0	0	0	0
14	0,75	0	58	0	0	0	0
15	2,5	1% Carb.934P	58	1,35	0	0	0
16	2,5	1% Carb.934P	58	1,35	5	0	0
17	2,5	2% Klucel	58	1,35	0	0	0
18	2,5	2% Klucel	58	1,35	5	0	0
19	2,5	1% Carb.934P	58	1,35	0	0	5
20	2,5	0,5% Carb.980	58	1,35	0	0	0
21	1	0,5% Carb.980	58	0,6	0	0	0
22	1	0,5% Carb.980	58	0,6	2	0	0
23	1	1% Carb.980	58	1,35	2	0	0
24	1	1% Carb.934P	58	1,35	2	0	0
25	1	1% Carb.934P	58	1,35	2	2	0
26	1	0,5% Carb.980	58	0,5	1	0	0
27	1	0,5% Carb.980	58	0,5	1	0	0

(Carb.=Carbopol®)

3. Кінетичний протокол дермального проникнення

3.1 Камера дермального проникнення

Використовуються камери статичного перенесення, що містять двоє відділень неоднакових розмірів (Фіг.1). Верхнє відділення циліндричної форми (перетин: 2,54см²) є відділенням донора 1, призначеним для нанесення лікувальної сполуки (у вигляді розчину або накладки) на шкіру 2. Дане верхнє відділення 1 сполучене з нижнім відділенням 4 металевим кільцем. Нижнє приймальне відділення 4 (середній об'єм 10мл) забезпечене верхнім отвором також розміром 2,54см². Боковий шунт 5 забезпечений голкою і катетерною системою, яка дає можливість брати проби. Гомогенізація середовища в нижньому відділенні забезпечується магнітною мішалкою 3 (Фіг.1).

3.2 Біологічна мембрана.

Шкіра тварини.

Біопсії шкіри чоловічої особи голої криси (криси IOPS, 5 тижнів) були узяті з черевної ділянки. Жирові тканини, зосереджені на внутрішній стороні, були видалені, а шкіра посічена для відбору зразків розміром більше 2,54см². Кожний зразок наклеюється на нижнє відділення, причому, зовнішня поверхня шкіри повернута догори.

Шкіра людини

Експерименти проводяться на зразках, отриманих в результаті пластичного хірургічного втручання в черевну область 35-річної жінки. Зразки використовуються відразу ж після їх отримання, іннервовані на товщині близько 250мкм.

3.3 Протокол дослідження

Двоє відділень 1, 4 камери дермального проникнення сполучено з фрагментом шкіри 2. Приймальне відділення 4 заповнюється точно вимірним об'ємом 0,5% розчину альбуміну. Після цього камера поміщається на 15 годин в термостатичну ванну з температурою 37°C на віброуючу підставку для одержання рівноважного стану між шкірою і

середовищем, що приймає зразок шкіри. Кінетичний процес починається після нанесення композиції на шкіру 2. Наносять близько 20мг на ділянку шкіри площею 2,54см². Протягом 24 годин зразки 2мл відбираються з приймального відділення 4 через рівні проміжки часу і відразу ж 2мл свіжого розчину альбуміну додаються у відділення для підтримки постійного об'єму. Для кожної сполуки використовують п'ять камер проникнення. Після зберігання в охолодженому стані зразки титрують рідинною сцинтиляцією.

4. Титрування ¹⁴C тестостерону

Зразки розщеплюються на дві 1мл-фракції, до яких додають 4мл сцинтиляційної рідини (Pico Fluor 40®), час вимірювання складає 5 хвилин.

Після цього зразки титрують рідинною сцинтиляцією, використовуючи β-спектрофотометр (Beckman). Під час сцинтиляції гасіння призводить до зниження ефективності виявлення, яке точно оцінюється при побудові калібруючої кривої, названої кривою гасіння. Для кожного зразка результат вимірювання, що залежить від гасіння, підраховується, використовуючи зовнішнє стандартне джерело, і визначається дійсна радіоактивність.

Результати

1. Розчинність тестостерону

Задана кількість розчину (2мл) перемішується при температурі 37°C в закритому пристрої Erlenmeyer. Починаючи від заданої кількості тестостерону, поступово додаються фракції. Визначається вагова кількість тестостерону, що залишилася, для визначення наявної кількості в Erlenmeyer (по різниці).

Розчинність тестостерону при 37°C в сумішах вода/етанол і різних підсилювачах проникаючої спроможності, наприклад, пропіленгліколи (PG), олеїнової кислоти (OA), пропіленгліколь-дипеларгонаті (PGDP), транскутолі визначають методом інкремента.

Таблиця 2

Розчинність тестостерону в різних носіях

Розчинник	PG (100%)	PG/OA (50/50)	OA (100%)	PGDP (100%)	Транскутол
Розчинність (мг/мл)	86	79	66	18	140

Розчинність тестостерону оцінюється також як функція вмісту етанолу.

Таблиця 3

Розчинність тестостерону в суміші вода/етанол

95% етанол (об'єм/об'єм)	Розчинність тестостерону	
	мг/мл	г/г
42/58	14	0,015
53/47	20	0,023
56/44	24	0,027
63/37	30	0,035
74/26	52	0,061
84/16	120	0,195
100/0	340	0,420

Див. графіки на Фіг.2

2. В'язкість гелю

Реологія гелю була охарактеризована за допомогою Carri-Med реометра контрольованих напруг, геометрія вимірювання: площини.

на/площина, діаметр 2см, зазор 1мм, температура 20°C.

Реограми будуються відносно потоку, що слідує за позначеним циклом фрагментації:

- верхня фаза (сходження кривої): напруга зростає від 0 до 300н/м² через 2хв.;
- полого ділянка кривої: постійна напруга;
- нижня фаза (низходження кривої): напруга знижується від 300н/м² до 0 через 2хв.

Всі гелі характеризуються фрагментарним розм'якшенням (псевдопластичним станом) без вияву ознак гістерезисного циклу.

Були проведені два радіологічних дослідження у відношенні:

- впливу вмісту етанолу на в'язкість Carborpol®934;
- впливу вмісту полімеру на в'язкість Carborpol®980.

2.1 В'язкість водно-спиртового гелю Carborpol®934P

Вплив вмісту етанолу на водо-спиртовий гель Carborpol®934 вивчається при зміні вмісту 95% етанолу від 50% до 70%.

Таблиця 4

Етанол (1% за вагою)	В'язкість (Па.с)	Максимальний градієнт швидкості (інтенсивності) (с ⁻¹)
50	15,00	22,5
55	6,500	50
60	2,375	140
65	0,800	400

При вмісту етанолу понад 55% показник в'язкості зменшується, причому спостерігаються великі коливання в даних показниках, пов'язані із змінами вмісту етанолу. Показник в'язкості збільшений при 50% етанолу.

2.2 В'язкість гелю Carborpol®980

Вплив вмісту полімеру на водо-спиртові гелі з 40% етанолу вивчається шляхом зміни вмісту Carborpol®980 від 0,3% до 0,7%.

В'язкість виміряли на пологій ділянці графіка при навантаженні до 3000н/м² протягом 1 хвилини.

Таблиця 5

Carborpol®980 (%)	В'язкість (Па.с)	Максимальний градієнт швидкості (інтенсивності) (с ⁻¹)
0,3	0,125	1400
0,4	0,610	500
0,5	3,50	90
0,6	6,10	50
0,7	12	30

3. Дермальне проникнення сполук тестостерону на шкіру криси

Дермальне проникнення сполук, перерахованих в Таблиці 1, оцінюється in vitro на шкірі криси.

Сполука 25 не може бути оцінена через гетерогенність (фазове розділення). Виділена кількість за 24 години і ефективність виділення за 24 години дані в наведеній нижче таблиці.

Таблиця 6

Номер сполуки	Тестостерон (%)	Виділена кількість (24 години) (мкг/см ²)	Ефективність виділення (24 години) (%)
11	1	28,1	35
12	0,5	11,6	29
13	0,5	24,4	61
14	0,75	36,7	61
15	2,5	16,2	8
16	2,5	30,9	15
17	2,5	10,5	5
18	2,5	36,9	18
19	2,5	44,5	22
20	2,5	18,5	9
21	1	21,6	27
22	1	33,5	42
23	1	34,4	43
24	1	36,9	46
25	1	-	-
26	1	30,1	37,5
27	1	62,0	77

Сполуки 11-27: 8мг/см² депозитовані.
3. Проникнення тестостерону на шкіру людини

Сполуки 26 і 27 оцінювалися на шкірі людини разом із сполукою 15, як еталонним зразком для посилання. Докладні результати наведені нижче.

Композиція 26
Середні значення параметрів проникнення на 5 камерах:

Час (години)	Кількість (Q) (мкг)	Кількість/площа Q/S (мкг/см ²)	Відхилення від стандартного Q/S (n=5)
2	0	0	0
4	1,9	0,75	0,4
6	3,5	1,4	0,6
9	5,6	2,2	0,6
12	7,4	2,9	0,8
24	15,3	6,01	1,6

Графік середніх показників кінетики даних на Фіг.3.
Середній перенос: 0,26мкг/см².годину

Композиція 27
Середні значення параметрів проникнення на 5 камерах:

Час(години)	Кількість (Q) (мкг)	Кількість/площа Q/S (мкг/см ²)	Відхилення від стандартного Q/S (n=5)
2	0	0	0
4	3	1,2	0,9
6	5,6	22,2	1,1
9	8,6	3,4	1,2
12	11,7	4,6	1,4
24	22,1	8,7	2,5

Графік середніх показників кінетики даних на Фіг.4. Середній перенос: 0,39мкг/см².годину
Композиція 15 (для посилання)

Середні значення параметрів проникнення на 5 камерах:

Час(години)	Кількість (Q) (мкг)	Кількість/площа Q/S (мкг/см ²)	Відхилення від стандартного Q/S (n=5)
2	0	0	0
4	1.1	0.45	0,3
6	2,2	0,85	0,5
9	6,6	1,3	0,6
12	4,3	1,7	0,7
24	9,1	3,6	1,2

Графік середніх показників кінетики даний на Фіг.5. Середній перенос: 0,15мкг/см².годину

Приклад 2

Матеріал і способи

1. Матеріал

[1,2,6,7-³H]тестостерон (Amersham Laboratories): MW(молекулярна вага)=295, розчин при 1mCi/mL (мКі/мл)(37MBq/mL)(мБк/мл) в етанолі; специфічна(індивідуальна) (радіо)активність 99Ci/mmol (Кі/ммол)(3,66TBQ/mmol)(тБк/ммол), тобто 336mCi/mg(МКі/мг) (серія 18).

Абсолютний етанол Carlo Erba серія V4N051154N

Матеріал, контрольований Laboratoires Besins

Carbopol®980	серія 92010/4420
Carbopol®934	серія /3898
Тестостерон	серія 92039/4461
Ізопропілміристат	серія 91169/5781
Триетаноламін (TEA)	серія 9304020/5721
Пропіленгліколь(PG)	

Композиції для нанесення на шкіру: (у ваговій кількості на 100г кінцевої композиції).

Композиція	Тестостерон	Желеутворююча речовина	Абсолютний етанол	Нейтралізатор	Пропіленгліколь	Ізопропілміристат
1(посилання)	2,5	Carb.934: 1.0	57	TEA: 1,35	-	-
2	1	Carb.980: 0,6	58	TEA: 0,60	0,5	-
3	1	Carb.980: 0,8	58	TEA: 0,80	0,5	-
4	1	Carb.980: 0,9	67	NaOH (0.1M):4,725	-	0,5
5	1	Carb.980:0,5	67	TEA: 0,50	-	0,5

Композиції готуються таким чином:

Композиція 1:

1г гелю з радіоактивною міткою готують таким чином:

- 100мкл (100мКі (Кюрі)) розчину тестостерону з радіоактивною міткою (³H) висушують і повторно суспензують з

- 595мг розчину, що містить 2,5г тестостерону в 57г абсолютного етанолу;

- 391,5мг основного гелю, отриманого шляхом забезпечення набухання 1г Carbopol®934 в 38,15г води; після повного набухання і перед використанням слизиста маса гомогенізується протягом декількох секунд (ultra-turax);

- 13,5мг TEA.

Радіоактивна концентрація композиції: 100мКі/г гелю, тобто 0,8мКі і 200мкг тестостерону на завантажувальну порцію 8мг (близько 10мкл) для однієї камери розміром 1,77см².

Композиція 2:

1г гелю з радіоактивною міткою готують відповідно до наступного протоколу:

- 100мкл (100мКі (Кюрі)) розчину тестостерону з радіоактивною міткою (³H) висушують і повторно суспензують з

- 595мг розчину, що містить 1г тестостерону і 0,5г PG в 58г абсолютного етанолу;

- 393мг основного гелю, отриманого шляхом забезпечення набухання 0,6г Carbopol®980 в 38,7г води; після повного набухання і перед використанням слизиста маса гомогенізується протягом декількох секунд (ultra-turax);

- 12мг TEA, наполовину розчинених у воді.

Радіоактивна концентрація композиції: 100мКі/г гелю, тобто 0,8мКі і 80мкг тестостерону на завантажувальну порцію 8мг (біля 10мкл) для однієї камери.

Композиція 3:

1г гелю з радіоактивною міткою готують відповідно до наступного протоколу:

- 100мкл (100мКі (Кюрі)) розчину тестостерону з радіоактивною міткою (³H) висушують і повторно суспензують з:

- 595мг розчину, що містить 1г тестостерону і 0,5г PG в 58г абсолютного етанолу;

- 389мг основного гелю, отриманого шляхом забезпечення набухання 0,8г Carbopol®980 в 38,1г води; після повного набухання і перед використанням слизиста маса гомогенізується протягом декількох секунд (ultra-turax);

- 16мг TEA, наполовину розчинених у воді.

Радіоактивна концентрація композиції: 100мКі/г гелю, тобто 0,8мКі і 80мкг тестостерону на завантажувальну порцію 8мг (біля 10мкл) для однієї камери.

Композиція 4:

1г гелю з радіоактивною міткою готують відповідно до наступного протоколу:

- 100мкл (100мКі (Кюрі)) розчину тестостерону з радіоактивною міткою (³H) висушують і повторно суспензують з:

- 685мг розчину, що містить 1г тестостерону і 0,5г ізопропілміристату в 67г абсолютного етанолу;

- 267,75мг основного гелю, отриманого шляхом забезпечення набухання 0,9г Carbopol®980 в 25,875г води; після повного набухання і перед використанням слизиста маса гомогенізується протягом декількох секунд (ultra-turax);

- 47,25мг NaOH(0,1M).

Радіоактивна концентрація композиції: 100мКі/г гелю, тобто 0,8мКі і 80мкг тестостерону на завантажувальну порцію 8мг (біля 10мкл) для однієї камери.

Композиція 5:

1г гелю з радіоактивною міткою готують відповідно до наступного протоколу:

- 100мкл (100мКі (Кюрі)) розчину тестостерону з радіоактивною міткою (³H) висушують і повторно суспензують з:

- 685мг розчину, що містить 1г тестостерону і 0,5г ізопропілміристату в 67г абсолютного етанолу;

- 305мг основного гелю, отриманого шляхом забезпечення набухання 0,9г Carbopol®980 в 30г води; після повного набухання і перед використо-

уванням слизиста маса гомогенізується протягом декількох секунд (ultra-turax);

- 10мг ТЕА, наполовину розчинених у воді.

Радіоактивна концентрація композиції: 100мкКі/г гелю, тобто 0,8мкКі і 80мкг тестостерону на завантажувальну порцію 8мг (біля 10мкл) для однієї камери.

2. Способи

Дермальна абсорбція in vitro

Принцип

Проводяться кількісні дослідження трансдермальної абсорбції in vitro на дермальній біопсії, отриманій з черевної області людини і поміщеній в статичну дифузійну камеру (Franz-камеру), яка забезпечує контакт дермісу (шкіри) з живильним рідким середовищем (рецепторним середовищем), в якому повинна бути дозована черезшкірна абсорбція.

Камера

Дермальна біопсія утримується горизонтально між двома частинами камери з утворенням двох відділень:

- одне з відділень представляє собою епідермальне відділення, відділене скляним циліндром, що має точно певну площу основи, що дорівнює 1,77см², розміщеним на зовнішній поверхні шкіри;

- інше відділення, дермальне, прикладене до нижньої поверхні зовнішнього покриву шкіри, містить резервуар заданого об'єму з боковим збірником.

Обидва елементи зібрано за допомогою затискного пристрою.

Нижнє відділення (дермальне) наповнюється живильним рідким середовищем, що складається з розчину хлориду натрію при 9г/л з додаванням бичачого сироваткового альбуміну при 15г/л.

В кожний призначений момент часу живильна рідина повністю відбирається через боковий збірник і замінюється новою рідиною.

Нижня частина камери піддається термостатичній обробці при 37°C. Рівномірність температури і гомогенність вмісту в потоці рецептору підтримується шляхом перемішування (в мішалці з магнітним перемішуванням).

Верхня частина (епідермальне відділення) відкрита назовні, забезпечуючи, таким чином, доступ повітря з лабораторного оточення до епідермальної поверхні.

Приготування дермальних біопсій людської шкіри, отриманої методом хірургічного висічення з черевної області шкірного покриву. Зразки узяті з шкіри білої людини, отриманої з черевної області методом пластичної хірургії. Перед використанням шкіру витримують при температурі - 20°C. В'язкий підшкірний жир відділяється скальпелем, при цьому товщину шкіри доводять до 0,5мм за допомогою дерматома. При здійсненні кожного дослідження зразки порівну розподіляються між серіями.

Загальний протокол

Franz-камери звичайно встановлюються за день до заповнення досліджуваною сполукою. Епідермальне відділення контактує з атмосферою повітря в лабораторії, в дермальному відділенні створюється і підтримується термостатична

температура 37°C та забезпечується контакт шкіри з альбумінізованим сироваточним розчином на протязі 17 годин. В таких умовах шкіра стає у високому ступені гідратованою.

Розчин в кількості 10мкл (біля 8мкл, близько 8мкКі) наноситься мікропіпеткою на всю поверхню епідермісу, обмежену скляним циліндром. Відбір зразків рідини, що міститься в дермальному відділенні, здійснюється за допомогою бокового збірника у встановлені моменти часу 2год., 4год., 6год., 8год. і 24год. В кожний встановлений момент часу живильна рідина повністю відбирається для досліджень і замінюється новою рідиною. В кінці експерименту оброблена дермальна поверхня промивається 200мкл різних розчинників, відповідно до наступного протоколу:

- 1-а промивка: Cetavlon®/вода (1/9, об'єм/об'єм);

- 2-а промивка: вода;

- 3-я промивка: Cetavlon®/вода (1/9, об'єм/об'єм);

- 4-а промивка: вода;

- 5-а промивка: вода.

Після цього зона нанесення сполуки протирається з використанням Q-tip®.

Далі епідермальний і дермальний шари механічно розділяються скальпелем і піддаються біологічній обробці в 1мл і 3мл Soluene® (Packard), відповідно.

Вимірювання радіоактивності

Виявлення здійснюється за допомогою методу рідинної сцинтиляції і з використанням лічильника частинок Packard-tricarb 4530.

Приготування радіоактивних зразків

Живильна рідина, що відібрана з нижнього відділення дифузійної камери, відразу ж приєднується до 15мл коктейлю із сцинтиляційної рідини (Pico-fluor 40R, Packard) і піддається вимірюванню радіоактивності.

Рідини промивок і Q-tip® вливають в колбу, що містить біля 30мл 95-процентного етанолу, що піддаються точному зважуванню. Після 12-годинного інкубаційного періоду при температурі 4°C радіоактивність точно зваженої аліквотної проби із даного розчину визначається з використанням тієї ж процедури, що і для живильних рідин.

Епідермальний і дермальний шари повинні спочатку розчинюватися в сильних органічних основах. Вони розчиняються внаслідок контактування протягом 24 годин при 37°C з Soluene 350® Packard (1мл на 100мг тканини), до яких додають 15мл рідинного сцинтиляційного коктейлю (Nipic Fluor 30® Packard), а потім проводять вимірювання.

Вимірювання радіоактивності

Інтенси́вність вимірювання коригується, якщо мова йде про гасіння флуоресценції, по методу зовнішньої калібровки для одержання числа розпадів на хвилину (dpm), в залежності від дійсної активності кожного зразка. Фон для кожного зразка визначається числом імпульсів на хвилину (cpm). Для кожної сцинтиляційної рідини встановлений спеціальний графік гасіння флуоресценції.

Результати надані у ваговій кількості або представлені процентним вмістом речовини, знайденої у зразках у відношенні до заданої (прийнятої) кількості, визначених на підставі вимірювання інтенсивності відповідним чином розбавлених калібровок.

Трансдермальна абсорбція:

Інтенсивність трансдермальної абсорбції оцінюється шляхом підрахунку процентного вмісту абсорбції (%) введеної кількості (Q_i), в залежності від часу:

$$\% = (Q_i / Q_t) \times 100,$$

де Q_t - кількість, поглинена у момент часу t .

Середнє значення переносу и поглиненої кількості для кожного інтервалу часу також визна-

чається і представляється, відповідно, в $\text{нг}/\text{см}^2/\text{годину}$ і нг .

Середні результати відповідають 6-8 експериментальним детермінаціям и асоціюються із стандартними відхиленнями (девіаціями) (S_d).

Порівняння середніх результатів виконується шляхом дисперсного аналізу.

3. Результати

Концентрації, що представлені у процентному вмісту, являють собою вагу речовини на 100г кінцевої сполуки.

In vitro - тестостерон-пенетрація в Franz-камерах (Кумулятивні дані (зведені))

Середнє значення $\pm S_d$ в залежності від часу

Сполука	Значення	Живильна рідина				
		2год.	4год.	6год.	8год.	24год.
1 n=6	% час.	0,23%	0,42%	0,54%	0,63%	0,97%
	$\pm S_d$	0,08%	0,12%	0,13%	0,15%	0,24%
	Кількість (нг)	501	902	1184	1378	2113
	$\pm S_d$	169	254	278	322	518
2 n=8	% час.	0,40%	0,77%	1,03%	1,23% [@]	1,98% [@]
	$\pm S_d$	0,18%	0,29%	0,36%	0,41%	0,59%
	Кількість (нг)	351	666	892	1068	1721
	$\pm S_d$	159	256	317	360	508
3 n=8	% час.	0,35%	0,72%	0,97%	1,17%	1,94% [@]
	$\pm S_d$	0,21%	0,34%	0,41%	0,47%	0,59%
	Кількість (нг)	313	639	868	1047	1735
	$\pm S_d$	188	302	370	418	530
4 n=7	% час.	0,52%	0,94% [@]	1,21% [@]	1,40% [@]	2,17% [*]
	$\pm S_d$	0,15%	0,27%	0,34%	0,38%	0,58%
	Кількість (нг)	462	834	1071	1243	1927
	$\pm S_d$	133	237	301	341	514
5 n=7	% час.	0,56%	1,04% [@]	1,3 3% [@]	1,53% [@]	2,47% [*]
	$\pm S_d$	0,49%	0,71%	0,78%	0,81%	0,99%
	Кількість (нг)	484	899	1153	1324	2138
	$\pm S_d$	424	615	673	707	861

[@]: відміна від еталону (значення для посилання) (дисперсійний аналіз, відноситься до тесту Fisher при $p < 5\%$)

^{*}: відміна від еталону (значення для посилання) (ановарія, відноситься до тесту Fisher і Scheffe F при $p < 5\%$)

Відновлені кількості (Кумулятивні дані)

Сполука	Знач.	Кількості о 24год					
		3	4	5	6	7	8
1	2	E	D	E+D	C+D	W	T
1 n=6	%	36,35%	0,98%	37,33%	1,95%	47,03%	85,33%
	$\pm S_d$	8,15%	0,55%			6,69%	
	Кільк. (нг)	79072	2131	81203	4244	102306	185622
	$\pm S_d$	18516	1193			21075	
2 n=8	%	44,36% [@]	1,55%	45,91%	3,53%	36,06%	83,95%
	$\pm S_d$	8,44%	1,42%			5,23%	
	Кільк. (нг)	38513	1349	39862	3069	31301	72844
	$\pm S_d$	7325	1235			4539	
3 n=8	%	40,56%	1,91%	42,47%	3,85%	41,47%	85,88%
	$\pm S_d$	4,98%	1,02%			6,93%	
	Кільк. (нг)	36200	1701	37900	3436	3715	76650
	$\pm S_d$	4443	916			3189	

Відновлені кількості (Кумулятивні дані)

1	2	3	4	5	6	7	8
4 n=7	%	44,56%@	2,10%	46,66%	4,27%	31,77%	80,60%
	+/-Sd	5,37%	0,65%			4,99%	
	Кільк. (нг)	39506	1865	41371	3792	28164	71462
	+/-Sd	4763	577			4419	
5 n=7	%	29,27%°	2,97%*	32,24%	5,44%	46,58%	81,29%
	+/-Sd	7,35%	1,18%			8,18%	
	Кільк. (нг)	25393	2580	27973	4718	40397	70508
	+/-Sd	6374	1022			7096	

E: епідерміс; D: дерміс; C: камера; W: промивка; T: загальне значення

@: відміна від еталону (значення для посилення) (дисперсійний аналіз, відноситься до тесту Fisher при $p < 5\%$)

°: відміна від сполук 2, 3, 4 (ановарія, відноситься до тесту Fisher, $p < 5\%$)

*: відміна від еталону (значення для посилення)(ановарія, відноситься до тесту Fisher і Scheffe F при $p < 5\%$)

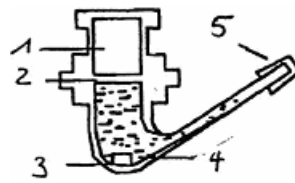
In vitro - тестостерон-пенетрація в Franz-камерах (Не кумулятивні дані)

Середнє значення +/-Sd в залежності від часу

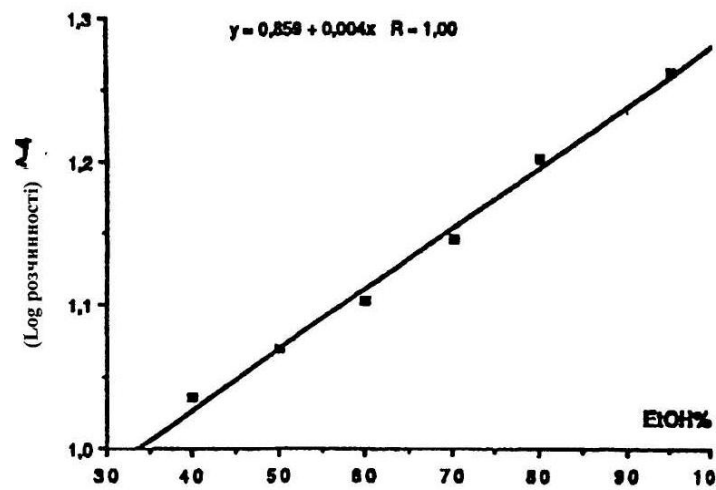
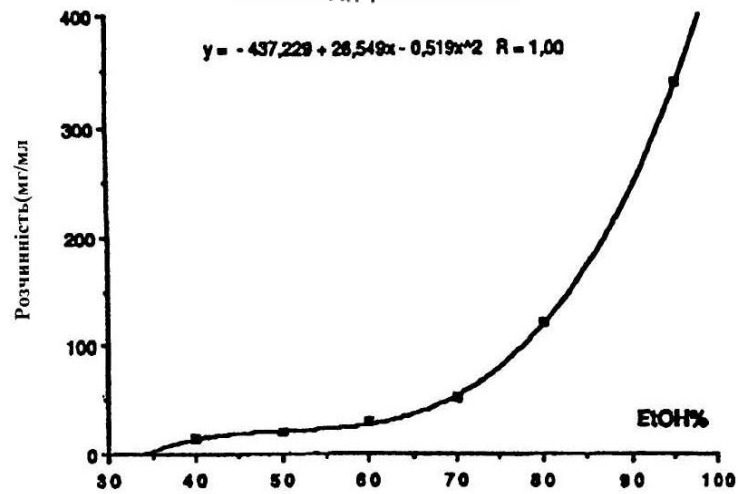
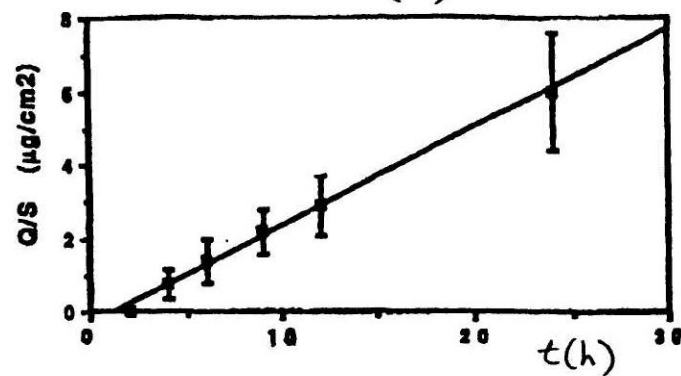
Сполука	Значення	Живильна рідина в камері				
1 n=6		0-2ч.	2-4ч.	4-6ч.	6-8ч.	8-24ч.
	%	0,23%	0,18%	0,13%	0,09%	0,34%
	+/-Sd	0,08%	0,05%	0,04%	0,03%	0,12%
	Кільк. (нг)	501	401	281	194	735
	+/-Sd	169	101	91	59	256
	Перенос (нг/см ² /год.)	141,60	113,34	79,41	54,88	25,95
	+/-Sd	47,71	28,65	25,78	16,53	9,03
2 n=8	%	0,40%	0,36%@	0,26%@	0,20%*	0,75%*
	+/-Sd	0,18%	0,13%	0,09%	0,07%	0,22%
	Кільк. (нг)	351	315	226	174	654
	+/-Sd	159	113	82	63	194
	Перенос (нг/см ² /год.)	99,14	88,97	63,98	49,24	23,10
	+/-Sd	45,03	31,91	23,13	17,74	6,86
3 n=8	%	0,35%	0,36%@	0,26%@	0,20%*	0,77%*
	+/-Sd	0,21%	0,15% I	0,09%	0,07%	0,21%
	Кільк. (нг)	313	325	229	179	688
	+/-Sd	188	136	84	61	184
	Перенос (нг/см ² /год.)	88,45	91,94	64,82	50,68	24,29
	+/-Sd	53,09	38,33	23,86	17,25	6,49
4 n=7	%	0,52%	0,42%@	0,27%@	0,19%@	0,77%*
	+/-Sd	0,15%	0,15%	0,09%	0,06%	0,21%
	Кільк. (нг)	462	372	237	172	684
	+/-Sd	133	132	81	50	185
	Перенос(нг/см ² /год)	130,51	105,15	67,00	48,49	24,16
	+/-Sd	37,61	37,22	22,82	14,26	6,53
5 n=7	%	0,56%@	0,48%*	0,29%*	0,20%@	0,94%*
	+/-Sd	0,49%	0,23%	0,08%	0,05%	0,20%
	Кільк. (нг)	484	415	254	171	814
	+/-Sd	424	198	73	46	177
	Перенос(нг/см ² /год)	136,86	117,14	71,74	48,22	28,53
	+/-Sd	116,80	55,98	20,67	13,04	6,26

@: відміна від еталону (значення для посилення) (дисперсійний аналіз, відноситься до тесту Fisher при $p < 5\%$)

*: відміна від еталону (значення для посилення)(дисперсійний аналіз, відноситься до тесту Fisher і тесту Scheffe F при $p < 5\%$).



Фиг. 1

Фиг. 2
(26)

Фиг. 3

(27)

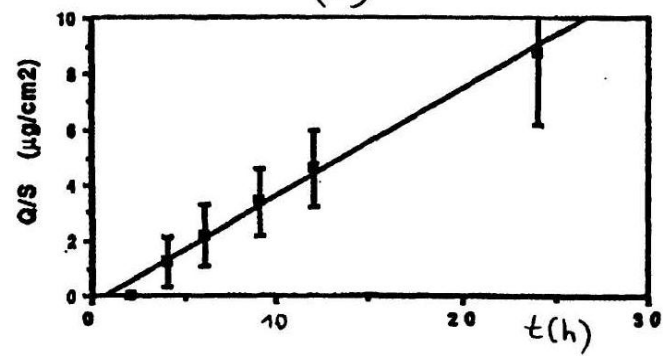
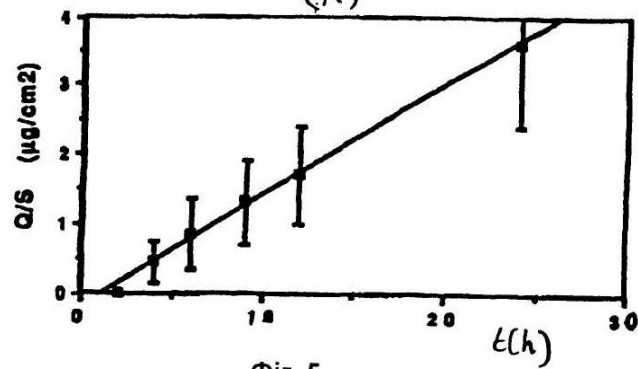
Fig. 4
(R)

Fig. 5