



УКРАЇНА

(19) UA (11) 94033 (13) C2

(51) МПК

A61K 31/444 (2006.01)

A61K 31/4545 (2006.01)

A61K 31/4166 (2006.01)

A61K 31/47 (2006.01)

A61K 31/4704 (2006.01)

A61K 8/49 (2006.01)

A61Q 19/06 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

## (54) ЗАСТОСУВАННЯ ІНГІБІТОРА ФДЕЗВ

1

(21) a200705721  
(22) 06.12.2005  
(24) 11.04.2011  
(86) РСТ/ЕР2005/013041, 06.12.2005  
(31) MI2004A002371  
(32) 14.12.2004  
(33) IT  
(31) MI2005A001739  
(32) 20.09.2005  
(33) IT  
(46) 11.04.2011, Бюл.№ 7, 2011 р.  
(72) ЛАНДІНІ МАССІМІЛІАНА, ІТ, ДЖУЛІАНІ САНДРО, ІТ, ДЖІОЛІТТІ АЛЕССАНДРО, ІТ  
(73) МЕНАРІНІ РІЧЕРКЕ С.П.А., ІТ  
(56) FR 2802811 A, 29.06.2001  
(57) 1. Застосування інгібітора ФДЕЗВ, вибраного з групи: анагрелід, цилостазол, пімобендан, мілпринон, амринон, олпринон, епоксимон, цилостамід, веснаринон, треквінзин, 6-[4-(2-бензил-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно)-феніл]-5-метил-4,5-дигідро-2-Н-піридазин-3-он; 3-[2-[4-(4,4-диметил-5-оксо-4,5-дигідро-1-Н-піразол-3-іл)-2,3-дифлуорфеніламіно]-6-оксо-циклогекс-1-енілметил]-бензонітрил; 5-[4-[2-(2,6-дихлорбензил)-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно]-2-флуорфеніл]-4,4-диметил-2,4-дигідропіразол-3-он; 5-[4-(2-бензил-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно)-феніл]-4,4-диметил-2,4-дигідропіразол-3-он; 5-[4-[2-(3-нітро-бензил)-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно]-2-флуорфеніл]-4,4-диметил-2,4-дигідропіразол-3-он; 6-[4-(2-бензил-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно)-2-флуорфеніл]-5-метил-4,5-дигідро-2-Н-піридазин-3-он.  
2. Застосування за п. 1, яке відрізняється тим, що інгібітор ФДЕЗВ вибрано з групи: мілпринон, цилостамід або треквінзин.  
3. Застосування за п. 1 або 2, яке відрізняється тим, що місцева фармацевтична композиція має форму гелю, гелю для нанесення розпиленням,

2

крему, знежиреного крему, жиру-знежиреної композиції, мазі або лейкопластиру.

4. Застосування за п. 1 або 2, яке відрізняється тим, що місцева фармацевтична композиція має форму, прийнятну для місцевої інтрадермальної ін'єкції або мезотерапії.

5. Застосування за п. 4, яке відрізняється тим, що композиція має форму розчину, готового для ін'єкції.

6. Застосування за будь-яким з пп. 1-5, яке відрізняється тим, що кількість інгібітора ФДЕЗВ складає від 0,1 до 3 мас. %.

7. Застосування за будь-яким з пп. 3 або 6, яке відрізняється тим, що зазначена кількість складає від 1 до 2 мас. %.

8. Застосування за будь-яким з пп. 4 або 6, яке відрізняється тим, що зазначена кількість складає від 0,1 до 1 мас. %.

9. Застосування за будь-яким з пп. 1-8, яке відрізняється тим, що місцева фармацевтична композиція містить сполуку, суміш речовин або екстракт, які діють на мікроциркуляцію.

10. Застосування за п. 9, яке відрізняється тим, що композиція крім того містить екстракт арніки, Ginkgo biloba, ананасу, донг кваю (Angelica sinensis), Centella asiatica.

11. Застосування за п. 9, яке відрізняється тим, що сполукою є сапонін або флавіон.

12. Застосування за п. 11, яке відрізняється тим, що сполукою є ескін.

13. Застосування за будь-яким з пп. 9-12, яке відрізняється тим, що сполука, суміш речовин або екстракт, які діють на мікроциркуляцію, мають концентрацію у межах 0,1 - 4 мас. %.

14. Спосіб лікування целюліту, який полягає в введенні суб'єкту за необхідності цього місцевої фармацевтичної композиції або композиції, прийнятної для місцевої інтрадермальної ін'єкції чи мезотерапії, яка містить активний інгредієнт, інгібітор

(13) C2

(11) 94033

(19) UA

ФДЕЗВ, вибраний з групи: анагрелід, цилостазол, пімобендан, мілринон, амринон, олпринон, епоксимон, цилостамід, веснаринон, треквінзин, 6-[4-(2-бензил-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно)-феніл]-5-метил-4,5-дигідро-2-Н-піридазин-3-он; 3-{2-[4-(4,4-диметил-5-оксо-4,5-дигідро-1-Н-піразол-3-іл)-2,3-дифлуорфеніламіно]-6-оксо-циклогекс-1-енілметил}-бензонітрил;

5-{4-[2-(2,6-дихлорбензил)-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно]-2-флуорфеніл}-4,4-диметил-2,4-дигідропіразол-3-он; 5-[4-(2-бензил-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно)-феніл]-4,4-диметил-2,4-дигідропіразол-3-он; 5-{4-[2-(3-нітробензил)-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно]-2-флуорфеніл}-4,4-диметил-2,4-дигідропіразол-3-он; 6-[4-(2-бензил-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно)-2-флуорфеніл]-5-метил-4,5-дигідро-2-Н-піридазин-3-он, для виготовлення фармацевтичної композиції для місцевого або мезотерапевтичного лікування целюліту.

15. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що інгібітор ФДЕЗВ вибрано з групи: мілринон, цилостамід і треквінзин.

16. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що місцева композиція має форму гелю, розпиленого

гелю, крему, знежиреного крему, жирознежиреної композиції, мазі або лейкопластиру.

17. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що місцева фармацевтична композиція містить інгібітор ФДЕЗВ у кількості від 1 до 2 мас. %.

18. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що композиція, прийнятна для місцевої інтрадермальної ін'єкції або мезотерапії, містить інгібітор ФДЕЗВ у кількості від 0,1 до 1 мас. %.

19. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що місцева фармацевтична композиція крім того містить сполуку, суміш речовин або екстракт, які діють на мікроциркуляцію.

20. Спосіб за п. 19, який **відрізняється** тим, що композиція містить екстракт арніки, *Ginkgo biloba*, ананасу, донг квау (*Angelica sinensis*), *Centella asiatica*.

21. Спосіб за п. 19, який **відрізняється** тим, що зазначеною сполукою є сапонін або флавіон.

22. Спосіб за п. 21, який **відрізняється** тим, що зазначеною сполукою є ескін.

23. Спосіб за п. 19, який **відрізняється** тим, що сполука, суміш речовин або екстракт, які діють на мікроциркуляцію, мають концентрацію у межах 0,1-4 мас. %.

Винахід стосується фармацевтичних композицій для місцевого або мезотерапевтичного лікування целюліту, які містять як активний інгредієнт інгібітор ФДЕЗ, який, як варіант, поєднаний з іншими речовинами, які мають антицелюлітну активність.

Целюліт або "набряково-фіброклеротична гіподермопатія" є порушенням, яке уражує гіподерму, тканину, яка розташована нижче дерми і яка має в основному жирову природу. Целюліт в основному уражує жінок і від нього страждають приблизно 80-85% популяції зрілих жінок. Підшкірна жирова тканина складає 25 мас.% у жінок і виконує 3 основні функції: а) забезпечує фізичний і механічний захист; б) вивільняє ліпідні і протеїнові речовини, які приймають участь у ліпідному метаболізмі; і в) викликає ендокринну і паракринну активність.

Статистично ця вада головним чином вражає жінок білої раси. Ця проблема менш часто виникає у жінок інших рас. Жінок, які найбільш схильні до цих порушень називають "Середньоземноморськими" жінками, головним чином тому, що їх гормональне забезпечення більш збагачене естрогенами.

Навіть худі жінки мають тенденцію до більш значного накопичення жиру на стегнах.

Деякі фактори мають шкідливий вплив, спричиняючи локальні зміни, які уражують мікроциркуляцію жирової маси. З часом це призводить до анатомічних і функціональних пошкоджень тканин судинної системи, що викликає проблеми, які уражують гіподерму і шар, який знаходиться безпосередньо над нею, а саме дерму.

Целюліт спричинений дегенерацією мікроциркуляції жирової тканини, з наступною зміною її найбільш важливих метаболічних функцій.

Видимою наступною деградацією тканини є зростання об'єму жирових клітин, затримання рідини і застою рідини у міжклітинних проміжках.

Целюліт може мати генетичну (спадкову схильність), органічну, гормональну і судинну причини, часто погіршені малорухомим способом життя, стресом, хворобою печінки, бідним раціоном, шлушковими розладами або розладами, які характеризуються значним затриманням рідини.

Гормональні дисбаланси (ураження оваріальних, гіпофізних і щитовидних гормонів) є причиною целюліту; завдяки активації естрогенів і їх дії на мікроциркуляцію, жінки схильні до цих станів, особливо під час пубертатного періоду, вагітності і передменопаузного періоду, коли активність оваріальних гормонів є піковою.

Тому схильність до целюліту в основному є гормонального характеру, ніж генетичного.

Існує чіткий статевий диморфізм у структурних характеристиках підшкірної сполучної тканини, який викликає схильність жінок до розвитку нерівномірних витіснень жирової тканинної характерних для целюліту у дермі. Це говорить про те, що переважає антиліполітичної активності ( $\alpha_2$ -адренергічно-залежний рецептор) підшкірної жирової тканини у жінок у порівнянні з чоловіками може викликати зростання відкладень жиру у стегнах, і як наслідок, - появу целюліту (Rosenbaum et al., *Plastic and Reconstructive Surgery*, 101(7): 1934-1939, 1998. (Розенбаум та інші, Пластична і Реконструктивна Хірургія, 101(7): 1934-1939, 1998)).

Крім того, ліполітична реакція на катехоломіні адипоцитів, які походять з підшкірної жирової тканини сідниць, стегон або зон стегон є меншою, ніж адипоцитів з вісцеральної жирової тканини (Lafontan and Berlan, TIPS, 24: 276-283, 2003), яка спричиняє схильність до акумуляції жирової тканини у цих зонах.

Зараз звичайно целюліт лікують за допомогою:

- фізичних методів

Такі техніки, як електrolіполіз і більш сучасну лазерну терапію, іонофорез, ультразвукову терапію і озонову терапію зараз широко застосовують на додаток до техніки масажу, але жодна з цих технік не вирішує проблему до кінця.

- дієтичних добавок

Багато дієтичних добавок є доступними на ринку (мінеральні солі, зокрема калій, вітаміни, жироспалюючі або діуретичні рослинні екстракти, регулятори кишечника і біофлавоноїди), які підвищують метаболізм, покращують циркуляцію, захищають ушкодження клітин і знижують поглинання жиру; але не відомі ефективні клінічні випробування, які підтверджують ефективність цих добавок у лікуванні целюліту.

- фармакологічно-активних продуктів

Згідно з науковими публікаціями у *European J. of Dermatology*, 10(8) 596-603, 2000, найбільш звичайною активною складовою у 32 проаналізованих целюлітних продуктах, є кофеїн, який присутній у 14 медикаментозних продуктах.

Іншими сполуками, які широко використовують, є:

а) Амінофілін, завдяки його спроможності підвищувати цАМФ і ліполіз; були опубліковані сприятливі і несприятливі отримані дані стосовно його антицелюлітної дії.

б) Левотироксин, який використовує спроможність гормонів щитовидної залози підвищувати метаболізм. З погляду на високу дозу левотироксину, системне поглинання може відбуватися з наступними ефектами кардіостимуляції і взаємодії з щитовидною залозою, що є особливо згубним у пацієнтів з гіпертиреозом.

с) Есцин, завдяки його судинозахисній гепаринідазній спроможності.

- Мезотерапія

Ця техніка включає місцеві інтрадермальні ін'єкції ліків, які звичайно вводять системним шляхом. Ця техніка дозволяє ін'єкувати безпосередньо у місце целюліту невелику кількість продукту; тому ця техніка є несистемною і не дуже інвазивною. Довготривалий терапевтичний ефект можна отримати мезотерапією, тому що поглинання ліків на дермальному рівні є повільною. Сполуками, які у теперішній час використовують у мезотерапії для лікування целюліту є кофермент А, фосфатидилхолін, амінофілін, есцин і гомеопатичні продукти.

Адипоцит є клітиною, яка легко модифікує свої розміри: при ліпогенезі її об'єм зростає, а при ліполізі - зменшується.

Ліпогенез відбувається за допомогою ЛПЛ (ліпопротеїн-ліпаза): адипоцити прилеглі до капілярів синтезують і вивільняють ЛПЛ, яка гідролізує тригліцериди (ТГ), які присутні у ліпопротеїнах дуже

низької густини (ЛДНГ) і у кіломікронах. Гліцерин та жирні кислоти вивільняються, захоплюються адипоцитами і естерифікуються у тригліцериди.

Ліполіз відбувається за допомогою гормоночутливої ліпази (ГЧЛ): вона гідролізує ТГ, які присутні у адипоцитах, у вільні жирні кислоти і гліцерин. Активний фермент фосфорилується за допомогою цАМФ-залежної протеїн-кінази А.

Синтез цАМФ залежить від двох протилежних ферментних систем

д) аденілат-циклази, яка трансформує АТФ у цАМФ. Це негативно регулюється за допомогою  $\alpha_2$ -адренергічних рецепторів і позитивно за допомогою  $\beta$ -адренергічних рецепторів.

е) фосфодіестерази, яка руйнує цАМФ у АМФ, який є неактивним ГЧЛ.

Ця активність інгібується кофеїном, теофіліном і амінофіліном.

Крім того, адипоцит секретує декілька таких факторів, як лептин (фактор насичення), ангіогенічні фактори (ангіотензиноген), простагландини  $\text{PGE}_2$  (антиліполізні властивості) і  $\text{PGI}_2$  (диференціація клітин), лізофосфатидна кислота (проліферація клітин) і стероїди.

Стратегії лікування

Розвиток фармакологічних основ для лікування целюліту пройшов численні етапи. У вісімнадцятому столітті використовували інгібування фосфодіестерази (ФДЕ) ксантином (кофеїн). У дев'ятнадцятому столітті робили спроби вирішувати проблему пошуками вдосконалення венолімфатичної недостатності рослинними екстрактами, які мають дренажну і антидемагогну активність (флавоноїди і сапонозиди). Останнім часом, намагалися реструктурувати сполучну тканину компонентами зовнішньоклітинного матриксу і розкладальними ферментами.

Але більшість терапевтичних підходів стосувалось однієї мети - підвищити адипоцитний метаболізм і ліполіз.

Ліполіз може бути здійснений: а) стимуляцією  $\beta$ -адренергічних рецепторів; б) інгібуванням аденозін- або  $\alpha_2$ -адренергічних рецепторів; с) інгібуванням фосфодіестерази.

Серією клінічних досліджень було оцінено ефективність місцевого застосування  $\beta$ -адренергічного стимулятора (ізопреналіну), і  $\alpha_2$ -адренергічного антагоністу (йохімбіну) і інгібітору фосфодіестерази (амінофіліну). Результати показують, що зменшення локалізованого жиру можна отримати фармакологічно, без дієти або виконання вправ (Greenway et al., *Obes res*, 3: 561S-568S, 1995).

Стимуляція  $\beta$ -адренергічного рецептору підвищує концентрацію цАМФ у адипозних клітинах, таким чином стимулюючи ліполіз. Іншим шляхом підвищення цАМФ є попередження його руйнування інгібуванням ферменту фосфодіестераза.

Найпоширеніші інгібітори ФДЕ (кофеїн, теофілін і амінофілін) є незадовільними, оскільки мають низьку специфічність і низьку спроможність до місцевого всмоктування. ФДЕЗ, і особливо ФДЕЗВ, є присутніми у адипоцитах людини; внаслідок цього з'являється необхідність вибірково подавляти ці

підтипи ферментів для отримання ефекту, який обмежує жирові тканини.

Патенти, які стосуються предмету винаходу:

EP692250 стосовно застосування рослинних флавоноідів для покращення мікроциркуляції, GB1588501, FR2797765, EP1261310 і EP1259221 стосуються застосування ксантину у косметичці для активації ліпази.

З інформації, яка наведена вище, стає очевидним, що ліполітична активність є суттєвою, але недостатньою, для лікування целюліту. Методи лікування, які застосовуються зараз, часто використовуючи такі інгібітори фосфодіестерази, як ксантин, не забезпечують в цілому задовільного результату, тому необхідні нові, ефективні методи лікування для такого багатофакторного морфологічного перетворення підшкірного жиру. Група арилдигідропіридазонів і арилдиметилпіразолонів в якості селективних інгібіторів ФДЕЗВ, потенційно корисних у лікуванні ожиріння описана у документі Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, (2003), 13, 3983-3987.

На теперішній час знайдено, що інгібітори ФДЕЗ (фосфодіестераза-3), зокрема інгібітори ізоформи ФДЕЗВ, яка в основному виражена у жировій тканині людини, є несподівано ефективними проти целюліту.

Винахід стосується застосування інгібіторів ФДЕЗ, особливо ФДЕЗВ, для отримання фармацевтичної композиції для місцевого або мезотерапевтичного лікування целюліту.

Серед інгібіторів ФДЕЗ сполуки анагрелід, цілостазол, пімобендан, мілринон, амринон, олпринон, еноксимон, цилостамід, веснаринон, треквінзин і їх фармацевтично прийнятні солі є переважними. Особливо переважними є мілринон, треквінзин і цилостамід.

Додатковою групою переважних інгібіторів ФДЕЗ згідно винаходу є сполуки, описані у Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, (2003), 13, 3983-3987; зокрема сполуки:

1) 6-[4-(2-бензил-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно)-феніл]-5-метил-4,5-дигідро-2-Н-піридазин-3-он (сполука 8a)

2) 3-{2-[4-(4,4-диметил-5-оксо-4,5-дигідро-1-Н-піразол-3-іл)-2,3-дифлуорфеніламіно]-6-оксо-циклогекс-1-енілметил}-бензонітрил (сполука 18n)

3) 5-[4-[2-(2,6-дихлор-бензил)-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно]-2-флуорфеніл]-4,4-диметил-2,4-дигідро-піразол-3-он (сполука 18h)

4) 5-[4-(2-бензил-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно)-феніл]-4,4-диметил-2,4-дигідропіразол-3-он (сполука 18a)

5) 5-[4-[2-(3-нітро-бензил)-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно]-2-флуорфеніл]-4,4-диметил-2,4-дигідро-піразол-3-он (сполука 18f)

6) 6-[4-(2-бензил-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно)-2-флуорфеніл]-5-метил-4,5-дигідро-2-Н-піридазин-3-он (сполука 14l).

В цьому тексті термін "місцевий" означає місцеве застосування і дію. Місцеві композиції переважно мають форму крему, безмасляного крему, масляних - безмасляних речовин, гелю, спреї-гелю і пластирів. Для застосування у мезотерапії композиції повинні бути у формі, прийнятній для

місцевого підшкірного ін'єктування, переважно у формі розчинів, які можна ін'єктувати.

Для використання у мезотерапії активний інгредієнт присутній у концентраціях на рівні від 0,1 до 3%, переважно від 1 до 2% від загальної маси композиції для місцевих форм і від 0,1 до 1 мас.% для форм, які можна ін'єктувати. На додаток до інгібіторів ФДЕЗ композиції за винаходом можуть містити сполуку, суміш сполук або екстракт, який діє на мікроциркуляцію, переважно сапонін або флавоноід, або екстракти, які їх містять. Найбільш переважними є екстракти *Ginkgo biloba*, арніка, ананас, донг квай (*Angelica sinensis*), *Centella asiatica* /сапонін ескін.

Сполука, екстракт або суміш речовин, які діють на мікроциркуляцію, містяться у композиції при концентрації від 0,1 до 4%.

Композиції за винаходом додатково можуть містити фармацевтично-прийнятні наповнювачі, як-то ад'юванти, зокрема воду або спирти (етанол). Вітаміни, зокрема токоферол, декспантенол або ретинол пальмітат, загусники, консерванти, захисні колоїди, зволожувачі, ароматизатори, електроліти, агенти желатинізації, агенти, які підвищують проникність шкіри, полімери або кополімери, емульгатори, стабілізатори емульсій, і інші фармацевтично прийнятні наповнювачі.

Переважними консервантами є речовини з низькою алергенністю, як-то етиловий спирт або бензиловий спирт.

Місцеві композиції можуть містити ненасичені похідні олеїнової кислоти, як-то 10транс - 12цис лінолева кислота.

Особливо прийнятними агентами желатинізації є карбомер, більш переважно карбомер 940, поліакриламід ізопарафін-лаурет-7, ксантанова смола, карагін, аравійська камедь, гуарова смола, агаровий гель, альгінати і метилгідроксицелюлоза, карбоксиметилцелюлоза, гідроксипропілцелюлоза, гідроксипропілметилцелюлоза, гідроксипропілцелюлоза, етилцелюлоза, поліакрилати, полівініловий спирт, полівінілпіролідол, колоїдний силіцій оксид.

Техніка для приготування фармацевтичних композицій за винаходом відома фахівцям у цій галузі і описана, наприклад, у роботі: Remington's Pharmaceutical Sciences, XVIII Ed. Mack Publishing Co.

Фармацевтичні композиції, які містять інгібітори ФДЕЗ, які описано вище, широко використовують для місцевого лікування целюліту у людини, переважно у жінок.

Наступні приклади більш детально ілюструють винахід.

Приклад 1. Безмасляний крем (мас.%)

Активний інгредієнт	
Амрінон	1
Ескін	2
Наповнювачі	
Гліцерил моностерат	8
Макрогол-цетостеарил-естер	2,5
Рідкий вазелін	2
Білий вазелін	2
Ізопропілміристат	4
Міристиловий спирт	3

Естери п-гідроксибензойної кислоти	0,3
Вода до	100 г
Приклад 1.2	
Активний інгредієнт:	
Мілринон	1
Наповнювачі:	
Цетостеариловий спирт	4,5
Гліцерил моностеарат	8,0
Рідкий вазелін	2
Білий вазелін	2
Диметикон	0,30
Ізопропілміристат	1
Міристиловий спирт	3
Необхідні олії	q.s.
Вода до	100 г
Приклад 1.3	
Активний інгредієнт:	
Треквінзин	2
Наповнювачі:	
Олеїнова кислота	5,0
Макрогол-Стеарат 40	9,0
Цетостеариловий спирт	6,0
Бутил гідроксіанізол	0,02
Трометамол	0,1
Диметикон	0,3
Карбопол 980	0,3
Пропіленгліколь	20,0
Натрій сульфід	0,1
Необхідні олії	q.s.
Вода до	100 г
Приклад 2.	
Гідроспиртовий гель (мас.%)	
Активний інгредієнт:	
Мілринон	2
Наповнювачі:	
Карбомел	1,5
Етиловий спирт 96° ЕР	40 мл
Основні олії	q.s.
Тріетаноламін для підгонки рН	
Вода до	100 г
Приклад 3. Ліпофільний крем (мас.%)	
Активний інгредієнт:	
Амрінон	1
Наповнювачі:	
Полігліцерил-3 діізостеарат	4
Гліцерил олеат	2
Віск	7
Дикаприл-етер	10
Гексилдеканол/гексилдецил лаурат	10
Гліцерин 85%	5
Магній сульфат-7H <sub>2</sub> O	1
Естери п-гідроксибензойної кислоти	0,1
Основні олії	q.s.
Вода до	100 г
Приклад 4. Безмасляний крем (мас.%)	
Активний інгредієнт:	
3-{2-[4-(4,4-диметил-5-оксо-4,5-дигідро-1-Н-піразол-3-іл)-2,3-дифлуорфеніламіно]-6-оксо-циклогекс-1-енілметил}-бензонітрил:	1
Наповнювачі:	
Олеїнова кислота	5,0
Макрогол стеарат 40	9,0
Цетостеаратовий спирт	6,0

Бутил гідроксіанізол	0,02
Трометамол	0,1
Диметикон	0,3
Карбопол 980	0,3
Пропіленгліколь	20,0
Натрій сульфід	0,1
Вода до	100 г
Наступні активні інгредієнти можуть бути сформовані як безмасляні креми згідно Прикладу 4:	
6-[4-(2-бензил-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно)-феніл]-5-метил-4,5-дигідро-2-Н-піридазин-3-он;	
5-{4-[2-(2,6-дихлор-бензил)-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно]-2-флуорфеніл}-4,4-диметил-2,4-дигідро-піразол-3-он;	
5-[4-(2-бензил-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно)-феніл]-4,4-диметил-2,4-дигідропіразол-3-он;	
5-{4-[2-(3-нітро-бензил)-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно]-2-флуорфеніл}-4,4-диметил-2,4-дигідропіразол-3-он;	
6-[4-(2-бензил-3-оксо-циклогекс-1-еніламіно)-2-флуорфеніл]-5-метил-4,5-дигідро-2-Н-піридазин-3-он.	

Приклад 5: Розчини, які можна ін'єкувати, для мезотерапії (склянки по 5 мл) (кількості виражені у мг/мл):

Активний інгредієнт:	
Мілринон	5
Наповнювачі:	
Натрій метабісульфід, молочна кислота	0,2-0,5
Очищена вода до	5 мл

Приклад 6: Тест на ефективність

Целюліт є проблемою з багатофакторною етіологією, в якій ліпогенез грає ключову роль. Тому демонстрація ліполітичної активності *in vitro* є суттєвим фактором початкової перевірки потенціальних антицелюлітних ліків, хоча взагалі є недостатньою для ідентифікації кінцевого кандидата. Тому тестування *in vitro* ліполітичної активності повинне бути поєднане з тестуванням ефективності *in vivo*.

Тестування *in vitro*

Визначення зовнішньоклітинного гліцерину виконують за допомогою ліполізу адипоцит тригліцеридів.

Тести ліполізу *in vitro* були проведені на адипоцитах людини, отриманих від первинних культур їх попередників, преадипоцитів (Промоцел), індукуванням диференціації. Фактична диференціація адипоцитів була встановлена дослідженням гліцерил-3-фосфат-дегідрогенази (фермент, експресований у зрілих адипоцитах, але не у преадипоцитах) і ліпідів, акумульованих на внутрішньоклітинному рівні, з використанням Oil Red O (Sigma).

Інгібітори ФДЕЗ попередньо інкубували з адипоцитами при різних концентраціях протягом 15 хвилин; 10 нМ ізопреналіну, спроможного викликати слабку стимуляцію ліполізу (25% максимальної реакції, отриманої 1 мкМ ізопреналіну) потім було додано. Після 4 годин культурне середовище було видалено і була визначена кількість внутрішньоклітинних ліпідів, які були акумульовані у кожній лунці, з використанням Oil Red O.

Ліполітична активність була оцінена шляхом визначення гліцерину, вивільненого у зовнішньок-

літінне середовище, як після гідролізу тригліцеридів.

В цьому тесті композиції з інгібіторами ФДЕЗ, які включають селективні інгібітори ФДЕЗВ за винаходом, забезпечили порівнюваний або більший ефект, ніж подібні композиції, які включають неселективні інгібітори ФДЕ (кофеїн, теофілін).

Дія деяких ФДЕ інгібіторів на вивільнення гліцерину, стимульоване 10нМ ізопреналіну, у культивованих адипоцитах людини

% Зростання при ліполізі

	10 мкМ
Амріон	20±6
Анагрелід	114±11
Цилостазол	31±9
Еноксимон	65±4
Мілрион	151±16
Пімобендан	159±22
Теквінзин	276±59
Теофілін	5±4
Кофеїн	10±5

- Визначення продуктування цАМФ у адипоцитах

цАМФ є внутрішньоклітинним месенджером, рівні якого залежать від його синтезу (активність аденілат-циклази) і розпаду (активність фосфодіестерази). Адипоцити переводять у соляний розчин, до якого додають ліполітичні агенти (активатори аденілат-циклази), антиліполітичні агенти (активатори фосфодіестерази) і інгібітори ФДЕЗ. Після прийнятного періоду інкубації процес переривають

і екстрагують цАМФ, утворений у клітинах. Клітинний екстракт ліофілізують, потім видаляють і аналізують за допомогою спеціального комерційно доступного колориметричного ферментного імуноаналізу (Amersham, Cayman). Рівні цАМФ визначають у відповідності з інструкціями постачальника. У цьому тесті композиції з антагоністами ФДЕЗ за винаходом забезпечують більшу ефективність, ніж подібні композиції, які містять неселективні інгібітори ФДЕ (кофеїн, амінофілін).

Тестування in vivo

Були досліджені 10 дорослих жінок, які мали явний целюліт у верхній частині стегна.

Кожна пацієнтка була своїм же контролем для оцінки ефективності і безпечності. Крем, який містить активний компонент (1% Мілрион) був нанесений на верхню частину стегна, а кремова основа (без активного компоненту) була нанесена на таку саму частину іншого стегна шляхом рандомізованого розподілення.

Лікування приблизно 2-3 см крему, нанесеного шляхом масажу протягом 2-3 хвилин до всмоктування, повторювали двічі на добу кожної доби протягом 2 місяців.

Протягом тестування пацієнти не виконували програму з вправ і не мали будь-яких дієтичних обмежень.

Періодично вимірювали обхват кожного стегна, двома - трьома з шляхів між коліном і більшим вертлюгом кістки стегна до закінчення лікування. Зменшення обхвату фармакологічно обробленого стегна порівнянне з стегном, яке не піддавали лікуванню, склало  $2,9 \pm 0,7$  см в інтервалі 1,3-4,7 см.

В кінці періоду обстеження при визначенні ФДЕЗ у крові не було виявлено цієї сполуки.