



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 80965

(13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 31/56

A61K 31/505

A61K 31/714 (2006.01)

A61P 15/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**(54) НАБІР, ЯКИЙ ВКЛЮЧАЄ СТЕРОЇДИ, ТЕТРАГІДРОФОЛАТНІ КОМПОНЕНТИ І ВІТАМІН В<sub>12</sub>, ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ В СПОСІБІ ГОРМОНАЛЬНОЇ КОНТРАЦЕПЦІЇ АБО ГОРМОНЗАМІСНОЇ ТЕРАПІЇ**

1

2

(21) 20040907578

(22) 15.11.2002

(24) 26.11.2007

(86) PCT/NL02/00741, 15.11.2002

(31) 02075695.3

(32) 21.02.2002

(33) EP

(72) КОЕЛІНГ БЕННІНК ХЕРМАН ЯН ТІЙМЕН,  
NL/NL(73) БАЙЄР ШЕРІНГ ФАРМА  
АКЦІЄНГЕЗЕЛЬШАФТ

(56) WO 0124772 A, 12.04.2001

WO 9965337 A, 23.12.1999

WO 9804248 A, 05.02.1998

(57) 1. Набір для застосування в способі  
гормональної контрацепції або гормонзамісної  
терапії особин ссавців жіночої статі, який включає  
принаймні 10 пероральних стандартних доз, які  
містять:а) принаймні 1 мкг одного або декількох стероїдів,  
вибраних з ряду, який включає естрогени і  
прогестогени;б) принаймні 0,1 мг одного або декількох  
тетрагідрофолатних компонентів, вибраних з ряду,  
який включає (6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-  
метил-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-форміл-  
(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 10-форміл-(6R)-  
тетрагідрофолієву кислоту, 5,10-метилен-(6R)-  
тетрагідрофолієву кислоту, 5,10-метеніл-(6R)-  
тетрагідрофолієву кислоту, 5-форміміно-(6S)-  
тетрагідрофолієву кислоту, фармацевтично  
прийнятні солі вказаних тетрагідрофолієвих кислот  
і глутамільні похідні вказаних тетрагідрофолієвих  
кислот; ів) принаймні 0,1 мг вітаміну В<sub>12</sub>.2. Набір за п. 1, який включає принаймні 10  
стандартних доз, які містять:а) від 2 мкг до 30 мг одного або декількох  
стероїдів;б) від 0,2 до 15 мг одного або декількох  
тетрагідрофолатних компонентів ів) від 0,2 до 20 мг вітаміну В<sub>12</sub>.3. Набір за п. 1 або п. 2, який додатково включає  
одну або декілька стандартних доз, переважно 3-8  
стандартних доз, які містять один або декілька  
тетрагідрофолатних компонентів і вітамін В<sub>12</sub> у  
вказаних кількостях, але не містять естроген або  
прогестоген.4. Набір за будь-яким з пп. 1-3, де один або  
декілька тетрагідрофолатних компонентів  
вибирають з ряду, який включає 5-  
формілтетрагідрофолієву кислоту, 5-  
метилтетрагідрофолієву кислоту і глутамільні  
похідні вказаних тетрагідрофолієвих кислот.5. Набір за будь-яким з пп. 1-4, де стандартні дози  
містять від 3 до 40 мкг, переважно від 10 до 30 мкг  
етинілестрадіолу.6. Набір за п. 5, де спосіб передбачає практично  
постійне введення одного або декількох  
тетрагідрофолатних компонентів і вітаміну В<sub>12</sub>  
протягом проміжку часу, що складає принаймні 40  
днів, переважно принаймні 90 днів.7. Набір за п. 6, де спосіб передбачає наявність 3-  
8-денного інтервалу, протягом якого вводять один  
або декілька тетрагідрофолатних компонентів і  
вітамін В<sub>12</sub>, але протягом якого не вводять  
естроген або прогестоген.8. Набір за будь-яким з пп. 1-7, де один або  
декілька тетрагідрофолатних компонентів  
вибирають з ряду, який включає фолінову кислоту,  
фармацевтично прийнятні солі фолінової кислоти,  
глутамілові похідні фолінової кислоти і  
попередники вказаних речовин.9. Набір за будь-яким з пп. 1-8, де стандартні дози  
містять принаймні 3 мг вітаміну В<sub>6</sub>, більш  
переважно від 5 до 250 мг вітаміну В<sub>6</sub>.10. Набір, який включає декілька оральних  
стандартних доз, що містять стероїд, призначений  
для застосування в способі гормональної  
контрацепції особин ссавців жіночої статі, де  
спосіб полягає в тому, що особині ссавця жіночої  
статі вводять орально принаймні один раз на день  
одну або декілька стандартних доз, які містять  
стероїди, таким чином, щоб забезпечувати  
кількість стероїдів, ефективну для інгібування

(13) C2

(11) 80965

(19) UA

овуляції, і де стандартні дози додатково містять принаймні 0,1 мг одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів, вибраних з ряду, який включає (6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-метил-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-форміл-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 10-форміл-(6R)-тетрагідрофолієву кислоту, 5,10-метилен-(6R)-тетрагідрофолієву кислоту, 5,10-метеніл-(6R)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-форміміно-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, фармацевтично прийнятні солі вказаних тетрагідрофолієвих кислот і глутамільні похідні вказаних тетрагідрофолієвих кислот, і принаймні 0,1 мг вітаміну В<sub>12</sub>.

11. Набір за п. 10, де стероїди вибирають з ряду, який включає естрогени і прогестогени.

12. Набір за п. 10 або 11, де стандартні дози вводять для забезпечення терапевтично ефективної кількості одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів для запобігання або відновлення дефіцитів фолатного компонента.

13. Набір за будь-яким з пп. 10-12, де спосіб передбачає схему прийому лікарського засобу, яка забезпечує введення жінці принаймні протягом 18 послідовних днів добових доз, які містять:

а) від 2 мкг до 30 мг одного або декількох стероїдів;

б) від 0,2 до 15 мг одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів і

в) від 0,2 до 20 мг вітаміну В<sub>12</sub>.

14. Набір за будь-яким з пп. 10-13, де один або декілька тетрагідрофолатних компонентів вибирають з ряду, який включає 5-формілтетрагідрофолієву кислоту, 5-метилтетрагідрофолієву кислоту, а також фармацевтично прийнятні солі і глутамільні похідні вказаних кислот.

15. Набір за будь-яким з пп. 10-14, де спосіб передбачає схему прийому лікарського засобу, яка забезпечує введення жінці принаймні протягом 18 послідовних днів добових доз естрогену, еквівалентних 3-40 мкг етинілестрадіолу, і/або прогестогену, еквівалентних 30-750 мкг левоноргестрелу.

16. Набір за будь-яким з пп. 10-15, де спосіб передбачає практично постійне введення стандартних доз, які містять стероїди, протягом проміжку часу, що складає принаймні 40 днів, переважно принаймні 90 днів.

17. Набір за будь-яким з пп. 10-16, де стандартні дози містять від 3 до 40 мкг, переважно від 10 до 30 мкг етинілестрадіолу.

18. Набір за будь-яким з пп. 10-17, де спосіб передбачає практично постійне введення одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів і вітаміну В<sub>12</sub> протягом проміжку часу, що складає принаймні 40 днів, переважно принаймні 90 днів.

19. Набір за п. 18, де спосіб передбачає наявність 3-8-денного інтервалу, протягом якого вводять один або декілька тетрагідрофолатних компонентів і вітамін В<sub>12</sub>, але протягом якого не вводять естроген або прогестоген.

20. Набір за будь-яким з пп. 10-19, де один або декілька тетрагідрофолатних компонентів вибирають з ряду, який включає фолінову кислоту, фармацевтично прийнятні солі фолінової кислоти,

глутамілові похідні фолінової кислоти і попередники вказаних речовин.

21. Набір за будь-яким з пп. 10-20, де стандартні дози містять принаймні 3 мг вітаміну В<sub>6</sub>, більш переважно від 5 до 250 мг вітаміну В<sub>6</sub>.

22. Набір, який включає декілька оральних стандартних доз, що містять стероїд, призначений для застосування в способі гормонзамісної терапії особини ссавця жіночої статі на перименопаузальній, менопаузальній або постменопаузальній фазі, який полягає в тому, що особині жіночої статі вводять орально принаймні один раз на день одну або декілька стандартних доз, які містять стероїди, таким чином, щоб забезпечувати кількість стероїдів, ефективну для запобігання або пригнічення симптомів гіпогонадизму, і де стандартні дози додатково містять принаймні 0,1 мг одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів, вибраних з ряду, який включає (6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-метил-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-форміл-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 10-форміл-(6R)-тетрагідрофолієву кислоту, 5,10-метилен-(6R)-тетрагідрофолієву кислоту, 5,10-метеніл-(6R)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-форміміно-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, фармацевтично прийнятні солі вказаних тетрагідрофолієвих кислот і глутамільні похідні вказаних тетрагідрофолієвих кислот, і принаймні 0,1 мг вітаміну В<sub>12</sub>.

23. Набір за п. 22, де стероїди вибирають з ряду, який включає естрогени і прогестогени.

24. Набір за п. 22 або 23, де стандартні дози вводять для забезпечення терапевтично ефективної кількості одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів для запобігання або відновлення дефіцитів фолатного компонента.

25. Набір за будь-яким з пп. 22-24, де спосіб передбачає схему прийому лікарського засобу, яка забезпечує введення жінці принаймні протягом 18 послідовних днів добових доз, які містять:

а) від 2 мкг до 30 мг одного або декількох стероїдів;

б) від 0,2 до 15 мг одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів і

в) від 0,2 до 20 мг вітаміну В<sub>12</sub>.

26. Набір за будь-яким з пп. 22-25, де один або декілька тетрагідрофолатних компонентів вибирають з ряду, який включає 5-формілтетрагідрофолієву кислоту, 5-метилтетрагідрофолієву кислоту, а також фармацевтичні солі і глутамільні похідні вказаних кислот.

27. Набір за будь-яким з пп. 22-26, де спосіб передбачає схему прийому лікарського засобу, яка забезпечує введення жінці принаймні протягом 18 послідовних днів добових доз естрогену, еквівалентних 3-40 мкг етинілестрадіолу, і/або прогестогену, еквівалентних 30-750 мкг левоноргестрелу.

28. Набір за будь-яким з пп. 22-27, де спосіб передбачає практично постійне введення стандартних доз, які містять стероїди, протягом проміжку часу, що складає принаймні 40 днів, переважно принаймні 90 днів.

29. Набір за будь-яким з пп. 22-28, де стандартні дози містять від 3 до 40 мкг, переважно від 10 до 30 мкг етинілестрадіолу.

30. Набір за будь-яким з пп. 22-29, де спосіб передбачає практично постійне введення одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів і вітаміну В<sub>12</sub> протягом проміжку часу, що складає принаймні 40 днів, переважно принаймні 90 днів.

31. Набір за п. 30, де спосіб передбачає наявність 3-8-денного інтервалу, протягом якого вводять один або декілька тетрагідрофолатних

компонентів і вітамін В<sub>12</sub>, але протягом якого не вводять естроген або прогестоген.

32. Набір за будь-яким з пп. 22-31, де один або декілька тетрагідрофолатних компонентів вибирають з ряду, який включає фолінову кислоту, фармацевтично прийнятні солі фолінової кислоти, глутамілові похідні фолінової кислоти і попередники вказаних речовин.

33. Набір за будь-яким з пп. 22-32, де стандартні дози містять принаймні 3 мг вітаміну В<sub>6</sub>, більш переважно від 5 до 250 мг вітаміну В<sub>6</sub>.

Даний винахід стосується фармацевтичного набору, який включає декілька стандартних доз для орального введення, який призначений для застосування в гормональній контрацепції або в гормонзамісній терапії особин ссавців жіночої статі, де набір складається з принаймні 10 стандартних доз, які містять один або декілька стероїдів, вибраних з ряду, який включає естрогени і прогестогени; один або декілька тетрагідрофолатних компонентів і вітамін В<sub>12</sub>.

Одним з об'єктів даного винаходу є спосіб гормональної контрацепції і спосіб гормонзамісної терапії особин ссавців жіночої статі, де вказані способи полягають у тому, що особині ссавця жіночої статі вводять оральним шляхом принаймні один раз на день одну або декілька стандартних доз для забезпечення кількості стероїдів, достатньої для інгібування овуляції і/або для запобігання або пригнічення симптомів гіпогонадізму, причому стандартні дози містять крім того одну або декілька тетрагідрофолатних компонентів і вітамін В<sub>12</sub>.

Передумови створення винаходу

Повторюване введення гормональних препаратів, зокрема, для гормональної контрацепції і гормонзамісної терапії зв'язано із зниженням рівня фолату [Martindale, The Complete Drug Reference, MICROMEDEX® Healthcare Series, т. III, дата закінчення 3/2002]. У деяких публікаціях відзначалося також зниження рівня вітаміну В<sub>12</sub> в особин, які користуються оральною контрацепцією (див., наприклад, Martindale).

У [WO 99/53910] описані фармацевтичні композиції, що містять фолат, які призначені для застосування або для оральної контрацепції, або при гормонзамісній терапії. Ці композиції призначені для застосування в способах введення фолату індивідуумам, які страждають від порушення, яке піддається лікуванню фолатом, або які мають підвищений ризик виникнення такого

порушення. У [WO 99/53910] вказано, що у вагітних жінок для корекції низьких рівнів фолату потрібно принаймні 2 місяці і що його резерви можуть зберігатися всього лише протягом декількох тижнів. Встановлено також, що застосування фолату безпосередньо перед припиненням застосування орального контрацептиву або відразу після одержання позитивного результату тесту на вагітність може бути неефективним для оптимального захисту плоду, який розвивається. Крім того, встановлено, що зниження рівнів фолату в індивідуумів, які застосовують оральний контрацептив, створює додатковий ризик для таких користувачів, які завагітніли протягом трьох-шести місяців після припинення їх застосування.

Спільне застосування фолату й орального контрацептиву або композиції для гормонзамісної терапії, як описано в [WO 99/53910], дає перевагу, яка полягає в тому, що воно допомагає запобігати дефіциту фолату в індивідуумів, які застосовують оральні контрацептиви і композиції для гормонзамісної терапії.

Однак включення фолату в оральні контрацептиви і композиції для гормонзамісної терапії створює серйозний ризик для здоров'я, який полягає в тому, що воно приводить до пригнічення симптомів дефіциту вітаміну В<sub>12</sub>, таких як мегалобластична анемія. Гематологічні аномалії, зв'язані з дефіцитом вітаміну В<sub>12</sub>, піддаються лікуванню фолатом при його індивідуальному застосуванні. Однак нейропсихіатричні аномалії, обумовлені дефіцитом вітаміну В<sub>12</sub>, не піддаються корекції і навіть можуть посилюватися. Наприклад, введення фолату індивідууму, який страждає від мегалобластичної анемії, яка є результатом дефіциту вітаміну В<sub>12</sub>, маскує ранні симптоми, внаслідок чого на пізній стадії виявляються

неврологічні симптоми, такі як атаксія і парестезії (комбіноване системне захворювання).

Дефіцит вітаміну В<sub>12</sub> являє собою порушення багатьох систем, що супроводжується зовсім різними клінічними проявами, яке, як вважають, зустрічається в 0,4% населення США. Симптоми дефіциту вітаміну В<sub>12</sub> включають виражену анемію, яка виявляється, наприклад, у зниженні гематокритного числа або рівня гемоглобіну, і яка супроводжується макроцитарною анемією еритроцитів, або неврологічними симптомами периферичної невротії і/або атаксії. Гематологічні аномалії, що виявляються, обумовлені дефіцитом внутрішньоклітинного фолату, оскільки фолат необхідний для багатьох ферментативних реакцій, які мають важливе значення і які відбуваються при синтезі ДНК і РНК, і оскільки присутня в сироватці форма фолату (5-формілтетрагідрофолат) повинна бути метаболізована за допомогою залежного від вітаміну В<sub>12</sub> ферменту, який представляє собою метіонінсинтазу, з утворенням тетрагідрофолату до того, як вона буде піддана дії зв'язаних із РНК або ДНК ферментів.

Частота зустрічальності дефіциту фолату серед населення невідома, однак передбачається, що вона, як правило, поширена серед індивідумів, які знаходяться на різних стадіях алкоголізму, серед індивідумів, які страждають від малабсорбції або порушення харчування, серед жінок, які застосовують гормональні контрацептиви, серед вагітних жінок і в деяких хворих на рак пацієнтів. Загальноприйнятим шляхом лікування або запобігання дефіциту фолату є оральне введення фолату. Для полегшення або запобігання симптомам, зв'язаним з дефіцитом фолату, фолати повинні бути перетворені в результаті декількох стадій метаболізму в їх форму, яка має метаболічну активність. Після абсорбції фолат відновлюється до дигідрофолату і потім до тетрагідрофолату (ТГФ) за допомогою фолат- і дигідрофолатредуктази. Для дії обох цих ферментів потрібен як кофактор НАДФН (який залежить від ніацину). Потім відбувається об'єднання серину з піридоксал-5'-фосфатом, що забезпечує перенесення гідроксиметильної групи в ТГФ. Це приводить до утворення 5,10-метилентетрагідрофолату і гліцину. Ця молекула має вирішальне значення, оскільки вона є попередником 5-метилтетрагідрофолату, який має метаболічну активність, що приймає участь у метаболізмі гомоцистеїну, і метилідентетрагідрофолату (що приймає участь у синтезі нурину), а також приймає участь сама по собі в утворенні тимицинових бокових ланцюгів, необхідних для включення в ДНК. Встановлено, що біологічна доступність фолієвої кислоти при оральному введенні змінюється в широких межах. У науковій літературі опубліковані дані про те, що в деяких індивідумів, які мають адекватну реакцію на внутрішньом'язову ін'єкцію фолієвої кислоти, спостерігалось недостатнє поглинання фолієвої кислоти в кишечнику. Відомо, що на метаболізм фолату, який вводиться оральним шляхом, що

приводить до утворення активних метаболітів, впливають різні фізіологічні, зв'язані з харчуванням і фармацевтичні фактори. Зокрема, відомо, що відновлення фолатів до ТГФ стимується зовнішніми факторами, такими як використання гормональних контрацептивів і певних лікарських засобів (наприклад, метотрексату, 5-флуорурацилу, сульфасалазину, дифенілгідантоїну, триметоприму, піриметаміну і сульфонамідів). Так, введення фолієвої кислоти або фолату жінкам, які застосовують гормональні контрацептиви, має недоліки, які полягають у тому, що (а) цей шлях є неефективним з погляду відновлення нормальних рівнів фолату в сироватці і, що є більш важливим, (б) ефективність такого введення змінюється від індивідуума до індивідуума внаслідок індивідуальних відмінностей у метаболізмі фолату.

Основною метою даного винаходу є реалізація переваг такого введення фолату при використанні методів гормональної контрацепції і гормонзамісної терапії, яке не супроводжувалося б вказаними вище негативними наслідками для індивідумів, які страждають від дефіциту вітаміну В<sub>12</sub>. При створенні винаходу було встановлено, що при використанні методів оральної гормональної контрацепції і гормонзамісної терапії цю задану можна вирішувати дуже ефективним і надійним шляхом за допомогою спільного введення тетрагідрофолату і вітаміну В<sub>12</sub>.

Крім того, згідно із даним винаходом запобігання дефіциту фолату можна забезпечувати дуже ефективним і надійним шляхом за допомогою введення тетрагідрофолату, вибраного з ряду, який включає (6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-метил-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-форміл-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 10-форміл-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 5,10-метилен-(6R)-тетрагідрофолієву кислоту, 5,10-MeTeHm-(6R)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-форміміно-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, фармацевтично прийнятні солі вказаних тетрафолієвих кислот і глутамілові похідні вказаних тетрагідрофолієвих кислот. На відміну від фолатів фізіологічна дія перерахованих вище тетрагідрофолатів є передбачуваною і надійною, оскільки вона не залежить від зовнішніх факторів, таких, наприклад, як одночасне введення орального контрацептиву.

Таким чином, одним з об'єктів даного винаходу є набір, призначений для застосування в способі гормональної контрацепції або гормонзамісної терапії особин ссавців жіночої статі, який включає принаймні 10 оральних стандартних доз, які містять принаймні 1мкг одного або декількох стероїдів, вибраних з ряду, який включає естрогени і прогестогени; принаймні 0,1мг одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів, вибраних з ряду, який включає (6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-метил-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-форміл-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 10-форміл-(6S)-тетрагідрофолієву кислоту, 5,10-метилен-(6R)-тетрагідрофолієву кислоту, 5,10-метеніл-(6R)-тетрагідрофолієву кислоту, 5-форміміно-(6S)-

тетрагідрофолієву кислоту, фармацевтично прийнятні солі вказаних тетрафолієвих кислот і глутамільні похідні вказаних тетрагідрофолієвих кислот; і принаймні 0,1 мг вітаміну B<sub>12</sub>.

У контексті даного опису поняття «фолат» означає фолієву кислоту, а також солі фолієвої кислоти. Аналогічним чином поняття «тетрагідрофолат» означає тетрагідрофолієві кислоти, а також солі цих кислот. У найбільш переважному варіанті здійснення винаходу один або декілька тетрагідрофолатних компонентів вибирають з ряду, який включає 5-формілтетрагідрофолієву кислоту (фолінову кислоту), 5-метилтетрагідрофолієву кислоту, а також фармацевтично прийнятні солі і глутамільні похідні вказаних кислот. Ще більш переважно один або декілька тетрагідрофолатних компонентів вибирають з ряду, який включає фолінову кислоту і фармацевтично прийнятні солі і глутамільні похідні фолінової кислоти. Найбільш переважно тетрагідрофолатне похідне являє собою фолінову кислоту.

Фолінову кислоту (5-формілтетрагідрофолієву кислоту або леуковорінову кислоту) давно застосовують у терапевтичних дозах при лікуванні деяких захворювань. Прикладами її застосування є екстрене усунення токсичності при хіміотерапії з використанням метотрексату і застосування в комбінації з флуорурацилом, яка має синергетичну дію, при лікуванні різних видів раку. Її застосування показане також при лікуванні гострої анемії. Запатентовано застосування 5-метилтетрагідрофолієвої кислоти у високих дозах (наприклад, 50 мг/день) для лікування депресії й інших неврологічних порушень [EP 382019 і EP 388827 на ім'я Le Grazie, 1990 р., і EP 482493 на ім'я Le Greca, 1992 р.].

Поняття вітамін B<sub>12</sub> використовується для позначення сполук із сімейства кобальтових кориноїдів, зокрема, сполук із групи кобаламінів. Найбільш часто застосовуваною сполукою з цієї групи є ціанокобаламін і тому поняття вітамін B<sub>12</sub> іноді використовується для позначення ціанокобаламіну. У даному описі поняття вітамін B<sub>12</sub> вживається в його найбільш широкому змісті і воно включає всі кобальтові кориноїди з групи кобаламінів, до якої належать, зокрема, ціанокобаламін, гідроксикобаламін, метилкобаламін і нітрокобаламін. Даний винахід стосується застосування вітаміну B<sub>12</sub> *per se*, а також як попередників вітаміну B<sub>12</sub>, які мають здатність вивільняти вітамін B<sub>12</sub> *in vivo* при їх застосуванні згідно із даним способом і метаболітів вітаміну B<sub>12</sub> (наприклад, кон'югатів з поліпептидом), які мають таку ж функціональну активність *in vivo*, що і вітамін B<sub>12</sub>, насамперед у відношенні здатності полегшувати симптоми, зв'язані з дефіцитом вітаміну B<sub>12</sub>.

Дефіцит вітаміну B<sub>12</sub> може зустрічатися в здорових в інших відношеннях індивідуумів, які мають проблеми, зв'язані з абсорбцією в кишечнику (малабсорбція), і деякі інші стани. Він може бути зумовлений також застосуванням певних лікарських засобів. Крім того, дефіцит вітаміну B<sub>12</sub> порівняно часто зустрічається в осіб,

які не вживають у їжу ніяких продуктів тваринного походження і вегетаріанців.

Прикладами естрогенів, які переважно можна застосовувати в стандартних дозах лікарського засобу, запропонованих у даному винаході, є етинілестрадіол, местранол, хінестранол, естрадіол, естрон, естран, естріол, естетрол, кон'юговані кінські естрогени і їх попередники, які мають здатність вивільняти такий естроген *in vivo*, при їх застосуванні відповідно до способу, запропонованого в даному винаході.

Прикладами прогестогенів, які переважно можна застосовувати в стандартних дозах лікарського засобу, запропонованих у даному винаході, є левоноргестрел, норгестимат, норетистерон, дідростерон, дроспіренон, 3-бета-гідроксидезогестрел, 3-кетодезогестрел (етоноргестрел), 17-діацетилноргестимат, 19-норпрогестерон, ацетоксипрегненолон, алілестерон, анагестон, хлормадинон, ципротерон, демегестон, дезогестрел, діногест, дигідрогестерон, диметистерон, етистерон, етинодіюдилацетат, фторгестонацетат, гастринон, гестоден, гестринон, гідроксиметилпрогестерон, гідроксипрогестерон, лінестренон (ліноестренон), медгестон, медроксипрогестерон, мегестрол, меленгестрол, номегестрол, норетиндрон (норетистерон), норетинодрел, норгестрел (включаючи d-норгестрел і dl-норгестрел), норгестриєнон, норметистерон, прогестерон, хінгестанол, (17-альфа)-17-гідрокси-11-метил-19-норпрегна-4,15-дієн-20-ін-3-он, тиболон, тримегестон, алгестонацетифенід, несторон, промегестон, складні ефіри 17-гідроксипрогестерону, 19-нор-17-гідроксипрогестерон, 17-альфа-етинілтестостерон, 17-альфа-етиніл-19-нортестостерон, оксим d-бета-ацетокси-13-бета-етил-17-альфа-етинілгон-4-ен-3-ону і попередники цих сполук. Переважно прогестоген, який застосовується на прогестогеновій стадії, вибирають з ряду, який включає левоноргестрел, норгестимат, норетистерон, дроспіренон, дідростерон, а також їх попередники, які мають здатність вивільняти такий прогестоген *in vivo*, при їх застосуванні відповідно до способу, запропонованого в даному винаході.

Набір, запропонований у даному винаході, переважно включає принаймні 10 стандартних доз для орального введення, які містять від 2 мг до 30 мг одного або декількох стероїдів; від 0,2 до 15 мг одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів і від 0,2 до 20 мг вітаміну B<sub>12</sub>. Прикладами придатних стандартних доз для перорального введення є таблетки і капсули. Вони можуть містити ексципієнти, такі як зв'язувальні речовини (наприклад, гідроксипропілметилцелюлозу, полівінілпіролідон, інші похідні целюлози і крохмаль), розріджувачі (наприклад, лактозу й інші нукри, крохмаль, вторинний кислий фосфат кальцію і похідні целюлози), рознушувачі (наприклад, полімери на основі крохмалю і похідні целюлози) і замаслювачі (наприклад, стеарати і тальк).

Набір, запропонований у даному винаході, переважно являє собою контейнер або смужку, що містить декілька пероральних стандартних доз. При використанні смужки на ній можна розміщати для відповідного послідовного введення дози, призначені для щоденного (або іншого періодичного) введення. Переважний варіант здійснення винаходу являє собою набір, який включає фармацевтичну упаковку, яка містить декілька стандартних доз, призначених для послідовного щоденного введення.

Набір, запропонований у даному винаході, можна застосовувати в різних методах оральної контрацепції. У широко відомих методах оральної контрацепції протягом циклу введення застосовують так звані однофазні композиції, які містять постійну кількість естрогену і прогестогену. Більш сучасні композиції, відомі як дво- або трифазні композиції, містять різні кількості естрогену і прогестогену; у більшості випадків вони містять відносно постійні дози естрогену і ступінчасто збільшуються протягом циклу дози прогестогену. Одно-, дво- і трифазні контрацептиви звичайно називають комбінованими контрацептивами.

Практично всі комбіновані контрацептиви мають загальну особливість, яка полягає в тому, що їх застосування ґрунтується на режимі, який включає інтервал часу, що складається приблизно з 7 днів, протягом якого контрацептиви не вводять і протягом якого відбувається припинення кровотечі, зв'язаної з природною менструацією. Таким чином, 21-денні інтервали введення гормону чергуються з 7-денними інтервалами, протягом яких гормони не вводять.

Як альтернатива до вказаних вище методів контрацепції запропонований так званий послідовний метод. Як правило, послідовний метод контрацепції включає дві послідовні фази, а саме, одну фазу, протягом якої застосовують естроген і не застосовують прогестерон, і іншу фазу, протягом якої застосовують комбінацію естрогену і прогестогену. Спочатку в послідовних методах, також як в описаних вище методах комбінованої контрацепції, передбачався інтервал часу, що складає приблизно 7 днів, протягом якого лікарський засіб не застосовують (вільний від введення період). В останні роки були запропоновані послідовні методи, які не включають такий вільний від введення лікарського засобу (або плацебо) період, це означає, що естроген застосовують протягом усього циклу і що здійснюють спільне застосування прогестогену тільки протягом частини цього циклу. У [WO 17895 (на ім'я Erlich і ін.)] описаний такий безперервний послідовний метод.

Іншим прикладом методу оральної контрацепції, у якому використовується безперервне постійне введення, є так званий постійний комбінований метод, у якому використовується комбіноване введення естрогену і прогестогену протягом більше ніж 28 днів, зокрема, більше 2 місяців. Ще одним прикладом методу оральної контрацепції, у якому використовується постійне введення, є метод

введення тільки прогестогену, у якому використовується постійне введення прогестогену без естрогену протягом періоду часу більше 28 днів, зокрема, більше 2 місяців.

При використанні набору, запропонованого в даному винаході, у методі контрацепції, у якому передбачається інтервал часу, протягом якого не застосовують стероїди, переважно продовжують застосовувати тетрагідрофолатний компонент і вітамін В<sub>12</sub> (і інших не обов'язкових вітамінів, таких як вітамін В<sub>6</sub>) протягом вказаного інтервалу часу. Тому вказаний набір переважно містить одну або декілька стандартних доз, переважно 3-8 стандартних доз, які містять одну або декілька тетрагідрофолатних компонентів і вітамін В<sub>12</sub> у вказаних у даному описі кількостях, але які не містять прогестоген або естроген.

Було встановлено, що тривале безперервне застосування одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів і вітаміну В<sub>12</sub> є більш ефективним у відношенні запобігання і лікування дефіцитів будь-якого з вказаних або обох компонентів у порівнянні з протоколом, відповідно до якого вказане введення припиняють на декілька днів протягом кожного (4-тижневого) циклу. Таким чином, у переважному варіанті здійснення винаходу спосіб полягає в тому, що здійснюють практично постійне введення одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів і вітаміну В<sub>12</sub> (і інших не обов'язкових вітамінів, таких як вітамін В<sub>6</sub>) протягом проміжку часу, що складає принаймні 40 днів, переважно принаймні 90 днів. Відповідно до іншого переважного варіанта здійснення винаходу спосіб передбачає 3-8-денний інтервал, протягом якого застосовують один або декілька тетрагідрофолатних компонентів і вітамін В<sub>12</sub>, але протягом цього інтервалу часу не вводять естроген або прогестоген. Як вказано вище, переважно продовжувати безперервне введення тетрагідрофолатного компонента і вітаміну В<sub>12</sub> навіть у тому випадку, якщо відповідно до протоколу контрацепції (наприклад, у випадку використання комбінованого контрацептиву) передбачається, що протягом певного проміжку часу не слід застосовувати естроген або прогестоген.

Методи контрацепції, у яких не передбачається наявність інтервалів часу, протягом яких не застосовують лікарський засіб (або плацебо), очевидно, з більшою імовірністю приводять до виснаження фолату, ніж методи, у яких передбачається наявність таких інтервалів. Тому переваги даного винаходу виявляються найбільшою мірою при використанні оральних контрацептивів, які не потребують наявності регулярних, наприклад, через кожні 4 тижні, інтервалів, протягом яких не здійснюють їх введення. Аналогічно до цього даний винахід дозволяє одержувати значні переваги при використанні в гормонзамісній терапії, дозволяючи здійснювати постійне безперервне введення стероїдів, насамперед естрогену, у сполученні з прогестогеном. Відповідно до цього в переважному варіанті здійснення винаходу всі

стандартні дози, які входять у набір, запропонований у даному винаході, містять один або декілька стероїдів, одну або декілька тетрагідрофолатних компонентів і вітамін В<sub>12</sub> у вказаних кількостях, це означає, що набір не містить ніяких плацебо.

Іншим об'єктом даного винаходу є спосіб гормональної контрацепції, який полягає в тому, що особині ссавця жіночої статі вводять орально принаймні один раз на день одну або декілька стандартних доз, які містять стероїди, таким чином, щоб забезпечити кількість стероїдів, ефективну для інгібування овуляції, і де стандартні дози додатково містять принаймні 0,1мг одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів і принаймні 0,1мг вітаміну В<sub>12</sub>.

Ще одним об'єктом даного винаходу є спосіб гормонзамісної терапії особини ссавця жіночої статі на перименопаузальній, менопаузальній або постменопаузальній фазі, який полягає в тому, що особині жіночої статі вводять орально принаймні один раз на день одну або декілька стандартних доз, які містять стероїди, таким чином, щоб забезпечити кількість стероїдів, ефективну для запобігання або пригнічення симптомів гіпогонадізму, і де стандартні дози додатково містять принаймні 0,1мг одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів і принаймні 0,1мг вітаміну В<sub>12</sub>.

Стероїди, які застосовують відповідно до описаних вище способів, переважно вибирають з ряду, який включає естрогени і прогестогени. Приклади придатних естрогенів і прогестогенів наведені вище. Переважно естроген вибирають з ряду, який включає етинілестрадіол, 17β-естрадіол, естетрол і їх попередники. Прогестогени переважно вибирають з ряду, які включають левоноргестрел, норгестимат, норетистерон, дроспіренон, дідрогестерон, тримегестон і їх попередники.

Переваги даного винаходу виявляються найбільшою мірою в тому випадку, коли тетрагідрофолатний компонент і вітамін В<sub>12</sub> вводять разом з етинілестрадіолом, оскільки етинілестрадіол особливо сильно знижує концентрацію фолату в сироватці. Етинілестрадіол являє собою естроген, що застосовують практично у всіх оральних контрацептивах, які надходять у продаж у даний час. На відміну від цього, етинілестрадіол важко застосовувати в гормонзамісній терапії. Відповідно до найбільш переважного варіанта здійснення винаходу стандартні дози містять від 3 до 40мкг, переважно від 10 до 30мкг етинілестрадіолу.

Основною метою включення як тетрагідрофолатного компонента, так і вітаміну В<sub>12</sub>, є запобігання або зниження дефіциту будь-якого з цих вітамінів. Дефіцит фолату, як правило, може бути результатом постійного застосування вказаних вище стероїдів. Таким чином, стандартні дози переважно вводять для забезпечення кількості одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів, яка є терапевтично ефективною для запобігання або відновлення дефіциту фолату. Спосіб, запропонований у даному винаході,

особливо ефективний для запобігання або зниження дефіциту фолату, зумовленого тривалим застосуванням вказаних вище стероїдів. Переважно застосовують також вітамін В<sub>12</sub> для забезпечення кількості вітаміну В<sub>12</sub>, терапевтично ефективною для запобігання або відновлення дефіциту вітаміну В<sub>12</sub>.

Наявність дефіцитів вітамінів, як правило, визначають шляхом вимірювання їх рівнів у сироватці. Нормальні рівні вітаміну В<sub>12</sub> у сироватці становлять 211-911пг/мл, при цьому рівні менше приблизно 100 пг/мл свідчать про важливий із клінічної точки зору дефіцит. Однак, рівні вітаміну В<sub>12</sub> у сироватці є порівняно неточною ознакою дефіциту вітаміну В<sub>12</sub>, оскільки тільки в 50% пацієнтів, у яких клінічно підтверджена наявність дефіциту вітаміну В<sub>12</sub>, вказані рівні становлять менше 100пг/мл, у 40% вони становлять 100-200пг/мл, а принаймні в 5-10% вони становлять 200-300пг/мл. Крім того, діагноз ускладнюється тим фактом, що 2,5% здорових пацієнтів мають низькі рівні вітаміну В<sub>12</sub> у сироватці і не мають ніяких симптомів дефіциту вітаміну В<sub>12</sub>.

Нормальні рівні фолату в сироватці перевищують 2,8нг/мл, при цьому рівні менше 2,8нг/мл свідчать про можливу наявність важливого з клінічної точки зору дефіциту. Однак, також як і рівні вітаміну В<sub>12</sub> у сироватці, рівні фолату в сироватці є порівняно неточною ознакою, оскільки лише 50-70% пацієнтів з дефіцитом фолату мають його рівні в сироватці менше 2,8нг/мл. Розробка чутливих методів аналізу рівнів метаболітів у сироватці для гомоцистеїну (ГЦ), цистатіону (ЦТ), метилмалонової кислоти (ММК) і 2-метиллімонної кислоти (2-МЛК) дозволило досліджувати взаємозв'язок між рівнями метаболітів і дефіцитами вітамінів [Stabler і ін., Anal. Biochem. 162, стор. 185-196, 1987; Stabler і ін., J. Clin. Invest. 77, стор. 1606-1612, 1986; Stabler і ін., J. Clin. Invest., 81, стор. 466-474, 1988].

Було встановлено, що підвищені рівні ГЦ і ММК у сироватці є клінічно важливою ознакою функціональних дефіцитів внутрішньоклітинного вітаміну В<sub>12</sub> і фолату, причому підвищені рівні ГЦ виявлені при дефіциті як вітаміну В тт, так і фолату, а підвищені рівні ММК виявлені при дефіциті вітаміну В<sub>12</sub> [Allen і ін., Am. J. Hematol., 34, стор. 90-98, 1990; Lindenbaum і ін., Am. J. Hematol., 34, стор. 99-107, 1990; Lindenbaum і ін., N. Engl. J. Med., 318, стор. 1720-1728, 1988; Beck, у Neuropsychiatric Consequences of Cobaltamin Deficiency, Mosby Year Book, 36, стор. 33-56, 1991; Moelby і ін., J. Intern. Med., 228, стор. 373-378, 1990; Ueland і Refsum, J. Lab. Clin. Med., 114, стор. 473-501, 1989; Pennypacker і ін., J. Am. Geriatr. Soc. 40, стор. 1197-1204, 1992]. Підвищені рівні ЦТ у сироватці виявлені при дефіцитах обох вітамінів, а підвищені рівні 2-МЛК виявлені при дефіциті вітаміну В<sub>12</sub>.

У переважних варіантах способу, запропонованого в даному винаході, один або декілька тетрагідрофолатних компонентів і вітамін В<sub>12</sub> вводять жінці, яка має підвищені рівні гомоцистеїну, цистатіону, метилмалонової кислоти

або 2-метиллимонної кислоти, у терапевтично ефективній кількості, що дозволяє істотно знижувати рівень у сироватці принаймні однієї з вказаних субстанцій. У найбільш переважному варіанті здійснення винаходу спосіб, запропонований у даному винаході, дозволяє відновлювати рівні вказаних субстанцій до нормальних рівнів у сироватці.

Способи, запропоновані в даному винаході, переважно передбачають схему прийому лікарського засобу, відповідно до якої жінці протягом принаймні 18 послідовних днів вводять добові дози, які включають:

від 2мкг до 30мг одного або декількох стероїдів;

від 0,2 до 15мг одного або декількох тетрагідрофолатних компонентів і

від 0,2 до 20мг вітаміну B<sub>12</sub>.

В іншому переважному варіанті здійснення винаходу способи, запропоновані в даному винаході, передбачають схему прийому лікарського засобу, відповідно до якої жінці протягом принаймні 18 послідовних днів вводять добові дози естрогену, у кількості, еквівалентній 3-40мкг етинілестрадіолу і/або прогестогену в кількості, еквівалентній 30-750мкг левоноргестрелу.

Як вказано вище, переваги винаходу найбільш виражені при його застосуванні в методах гормонзамісної терапії і методах оральної контрацепції, у яких передбачається тривале безперервне введення одного або декількох стероїдів. Таким чином, спосіб, запропонований у даному винаході, переважно передбачає практично постійне введення стандартних доз, які містять стероїди, протягом періоду часу, що складає принаймні 40 днів, переважно принаймні 90 днів.

Поняття «постійне» застосовно до введення однієї або декількох діючих речовин означає, що одну або декілька діючих речовин вводять з відносно регулярними інтервалами без істотних (з терапевтичної точки зору) перерв. Звичайно, допускаються незначні перерви, які не впливають на загальну ефективність способу, запропонованого в даному винаході, і очевидно такі відхилення підпадають під обсяг даного винаходу. У переважному варіанті здійснення винаходу передбачається, буквально вважається, що схема прийому лікарського засобу є постійною, якщо найбільш тривалий проміжок часу між 2 послідовними введеннями не перевищує більш ніж у 3,5 рази середній інтервал. Ще більш переважно, якщо вказаний найбільш тривалий проміжок часу не перевищує середній інтервал більш ніж у 2,5 рази.

Аналогічно до дефіциту вітаміну B<sub>12</sub> дефіцит вітаміну B<sub>6</sub> (піридоксину) також приводить до гематологічних і невропсихіатричних аномалій. Вітамін B<sub>6</sub> потрібен для першої стадії синтезу гему і відіграє основну роль у реакціях трансамінування в метаболізмі амінокислот, у декарбоксилюванні і синтезі нейроактивних амінів гістаміну, тираміну, серотоніну і γ-аміномасляної кислоти. Клінічні прояви включають мікроцитарну гіпохромну

анемію, зміни шкіри, характерні для дерматиту й акродинії, м'язову слабкість і різні невропсихіатричні аномалії, включаючи підвищені збудливість, конвульсії, характерні для епілепсії, депресію і сплутану свідомість [Newberne і Conner, у *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, вид-во Academic Press, Сан-Дієго, ссрр. 796-834, 1989].

В організмі людини, як правило, міститься від 40 до 150мг вітаміну B<sub>6</sub>. Необхідне добове споживання складає 1-2мг. При вагітності, як правило, показано споживати більш високі кількості вітаміну B<sub>6</sub>. Звичайна дієта, як правило, може забезпечувати такі підвищені кількості, однак проведений у США аналіз дієти 26 вагітних жінок встановив, що тільки одна жінка споживала більше 2,5мг вітаміну B<sub>6</sub> на день. Дослідження, проведені в США і Швеції [Hamfelt і Tuveno *Clin Chem. Acta*, 41, стор. 287, 1972 і Lumeng і ін., 29, стор. 1376-1383, 1976], дозволили встановити, що вагітним жінкам може бути показане споживання приблизно 10мг вітаміну B<sub>6</sub> на день. Передбачається, що підвищені вимоги у відношенні вітаміну B<sub>6</sub> можуть пояснюватися важливою роллю цього вітаміну в розвитку плоду. Ця важлива роль підтверджується встановленням того факту, що у вагітних жінок концентрація вітаміну B<sub>6</sub> у крові, взятої з пупкової вени, перевищує концентрацію в материнській крові. Крім того, експериментальні дослідження [Davis і ін., *Science*, 169, стор. 1329, 1970] на щурах дозволили встановити, що дефіцит вітаміну B<sub>6</sub> може викликати вроджені малформації.

Є дані (Martindale) про те, що оральні контрацептиви можуть викликати дефіцит вітаміну B<sub>6</sub> у деяких жінок (споживачів), які застосовують контрацептиви. Таким чином, очевидно, що особи, які застосовують оральні контрацептиви, мають ризик виникнення дефіциту вітаміну B<sub>6</sub>. Зокрема, виражений ризик виникнення дефіциту вітаміну B<sub>6</sub> існує для жінок, які завагітніли незабаром після припинення застосування оральних контрацептивів, насамперед тому, що для відновлення рівнів вітаміну B<sub>6</sub> у сироватці до їх нормальних значень, як правило, потрібен тривалий час.

Відповідно до цього згідно із найбільш переважним варіантом здійснення винаходу стандартні дози містять додатково принаймні 3мг вітаміну B<sub>6</sub>, більш переважно від 5 до 250мг вітаміну B<sub>6</sub>. У контексті даного опису поняття «вітамін B<sub>6</sub>» стосується будь-яких компонентів, які *in vivo* перетворюються в піридоксал, фосфат піридоксалу або сіль піридоксалу. Найбільш переважними є компоненти вітаміну B<sub>6</sub>, які протягом 24год після введення перетворюються *in vivo* у піридоксал, фосфат піридоксалу або сіль піридоксалу, які забезпечують концентрацію принаймні 10мол.%. У живих клітинах людини і тварин фосфат піридоксалу і фосфат піридоксаміну є біологічно активними формами вітаміну B<sub>6</sub>, які приймають участь як коферменте більше ніж у 100 біологічних реакціях.

Дефіцити фолату, вітаміну B<sub>12</sub> і вітаміну B<sub>6</sub>, як правило, встановлюють на основі визначення їх концентрації в сироватці/плазмі крові. Як правило, вважається, що в дорослої людини є дефіцит



фолату, якщо концентрація в сироватці крові становить менше 2,8нг/мл. Аналогічно до цього вважається, що є дефіцит вітаміну B<sub>12</sub> і дефіцит вітаміну B<sub>6</sub>, якщо концентрації вітаміну B<sub>12</sub> у сироватці становлять менше 211пг/мл і концентрація вітаміну B<sub>6</sub> у плазмі (вимірювана за рівнем піридоксал-5-фосфату) становить менше 5нг/мл. Ці стандартні значення були опубліковані клінічними лабораторіями Каліфорнійського університету [Clinical Laboratories of the University of California], Сан-Дієго. Для визначення рівнів фолату, вітаміну B<sub>12</sub> і вітаміну B<sub>6</sub> вказаними клінічними лабораторіями застосовувалися наступні методи:

фолат: хемолюмінісцентний конкурентний метод, код CPT 82746,

вітамін B<sub>12</sub>: хемолюмінісцентний конкурентний метод, код CPT 82607,

вітамін B<sub>6</sub>: радіоімунний аналіз, код CPT 84207.

Нижче винахід більш докладно проілюстрований на наведених нижче прикладах.

#### Приклади

##### Приклад 1

Одержують набір для контрацепції у формі смужки, яка містить 28 пілюль масою 0,25 г кожна. З 28 пілюль 21 пілюля має вказаний нижче склад А і 7 пілюль мали склад Б:

	Композиція А	Композиція Б
Етинілестрадіол	30 мкг	
Левоноргестрел	150 мкг	
Фолінова кислота	0,5 мг	0,5 мг
Вітамін B <sub>12</sub>	1 мг	1 мг
Вітамін B <sub>6</sub>	50 г	50 мг
Експіцієнт	решта	решта

##### Приклад 2

Одержують фармацевтичний набір, призначений для застосування в методі послідовної контрацепції, у формі смужки, яка містить 28 пілюль. Набір містить 14 пілюль, які мають склад А, і 14 пілюль, які мають склад Б:

	Композиція А	Композиція Б
Етинілестрадіол	30мкг	30 мкг
Левоноргестрел		150 мкг
Фолінова кислота	0,5 мг	0,5 мг
Вітамін B <sub>12</sub>	1 мг	1 мг
Вітамін B <sub>6</sub>	50 г	50 мг
Експіцієнт	решта	решта

##### Приклад 3

Групу, яка складається з 40 жінок, довільним чином розділяли на дві групи по 20 жінок у кожній. Протягом 4 місяців одна група приймала набір для контрацепції, описаний у прикладі 1. Протягом цього ж періоду часу інша група приймала такий же набір за винятком того, що пілюлі в цьому наборі не містили ні фолінової кислоти, ні вітаміну B<sub>12</sub>, ні вітаміну B<sub>6</sub>.

Перед початком експерименту, а також після його закінчення визначали концентрації фолату,

вітаміну B<sub>12</sub> і вітаміну B<sub>6</sub> у сироватці за допомогою вказаних вище методів, опублікованих у 2002р. клінічними лабораторіями Каліфорнійського університету, Сан-Дієго. Було встановлено, що рівні вказаних субстанцій у сироватці не зазнавали істотної зміни в процесі експерименту в групі жінок, які приймали оральний контрацептив, який не містив ні фолінової кислоти, ні вітаміну B<sub>12</sub>, ні вітаміну B<sub>6</sub>. Однак у значної частини жінок в іншій групі було виявлено істотне підвищення рівнів фолату, вітаміну B<sub>12</sub> і/або вітаміну B<sub>6</sub>.

На початку експерименту було встановлено, що деякі жінки мали дефіцит фолату, вітаміну B<sub>12</sub> і/або вітаміну B<sub>6</sub>. Після закінчення експерименту в жінок, які мали такий дефіцит і приймали оральний контрацептив, який містить фолінову кислоту, вітамін B<sub>12</sub> і вітамін B<sub>6</sub>, не було виявлено дефіциту ні однієї з вказаних трьох субстанцій.

##### Приклад 4

Проводили такий же експеримент, який описаний у прикладі 3, за винятком того, що застосовували набір, описаний у прикладі 2 замість набору, описаного в прикладі 1.

Було встановлено, що рівні фолату, вітаміну B<sub>12</sub> і вітаміну B<sub>6</sub> у сироватці не зазнавали істотної зміни в процесі експерименту в групі жінок, які приймали оральний контрацептив, який не містив ні фолінової кислоти, ні вітаміну B<sub>12</sub>, ні вітаміну B<sub>6</sub>. Однак після закінчення експерименту в значної частини жінок в іншій групі було виявлено істотне підвищення рівнів фолату, вітаміну B<sub>12</sub> і/або вітаміну B<sub>6</sub>.

Після закінчення експерименту в жінок, які на початку експерименту мали дефіцит фолату, вітаміну B<sub>12</sub> і/або вітаміну B<sub>6</sub> і приймали оральний контрацептив, який містить вказані субстанції, не було виявлено дефіциту ні однієї з вказаних трьох субстанцій.