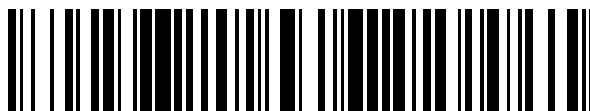


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 693 745**

51 Int. Cl.:

A61K 9/06 (2006.01)
A61P 5/26 (2006.01)
A61K 31/568 (2006.01)
A61K 47/14 (2007.01)
A61K 47/32 (2006.01)
A61K 47/10 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.10.2006** **E 11181638 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.09.2018** **EP 2450041**

54 Título: **Gel de testosterona mejorado para su uso en el tratamiento del hipogonadismo**

30 Prioridad:

12.10.2005 US 725276 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

13.12.2018

73 Titular/es:

UNIMED PHARMACEUTICALS, LLC (50.0%)
c/o Abbott Laboratories, 100 Abbott Park Road,
Department 0377, Building AP6A-1
Abbott Park, IL 60064-6008 , US y
BESINS HEALTHCARE LUXEMBOURG SARL
(50.0%)

72 Inventor/es:

MALLADI, RAMANA y
MILLER, JODI

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 693 745 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Gel de testosterona mejorado para su uso en el tratamiento del hipogonadismo

Antecedentes de la invención

5 La testosterona, el principal andrógeno circulante en los hombres, es sintetizada a partir del colesterol. Los aproximadamente 500 millones de células de Leydig en los testículos secretan más del 95% de los 6-7 mg de testosterona producidos por día. Dos hormonas producidas por la glándula pituitaria, la hormona luteinizante ("LH") y la hormona estimulante del folículo ("FSH"), son necesarias para el desarrollo y mantenimiento de la función testicular y regulan negativamente la producción de testosterona. La testosterona circulante se metaboliza a diversos 17-cetoesteroides a través de dos vías diferentes. La testosterona se puede metabolizar a dihidrotestosterona ("DHT") 10 por la enzima 5 α -reductasa o a estradiol ("E2") por un complejo de la enzima aromatasa.

La testosterona circula en la sangre con el 98% ligada a la proteína. En los hombres, aproximadamente el 40% es a la globulina que se une a la hormona sexual con alta afinidad ("SHBG"). El restante 60% está unido débilmente a la albúmina. De este modo, un número de mediciones para la testosterona están disponibles de los laboratorios clínicos. El término testosterona "libre" como se usa en este documento se refiere a la fracción de testosterona en la sangre 15 que no se une a proteínas. El término "testosterona total" o "testosterona", como se usa en este documento significa la testosterona libre más testosterona ligada a proteínas. El término "testosterona biodisponible" tal como se utiliza en este documento se refiere a la testosterona no ligada a SHBG e incluye la testosterona débilmente unida a la albúmina.

En la tabla siguiente del UCLA-Harbor Medical Center se resume el intervalo de las concentraciones hormonales en los hombres adultos normales:

20 Tabla 1: Niveles hormonales en los hombres normales

Hormona	Intervalo normal
Testosterona	298 a 1043 ng/dl
Testosterona libre	3,5 a 17,9 ng/dl
DHT	31 a 193 ng/dl
Relación de DHT/ T	0,052 a 0,33
DHT + T	372 a 1349 ng/dl
SHBG	10,8 a 46,6 nmoles/l
FSH	1,0 a 6,9 mIU/ml
LH	1,0 a 8,1 mIU/ml
E ₂	17,1 a 46,1 pg/ml

25 Existe una variación considerable en la semivida de la testosterona reportada en la literatura, varía de 10 a 100 minutos. Los investigadores están de acuerdo, sin embargo, en que la testosterona circulante tiene una variación diurna en hombres jóvenes normales. Los niveles máximos se producen aproximadamente de 6:00-8:00 de la mañana con niveles decrecientes a lo largo del día. Los perfiles característicos tienen un nivel de testosterona máximo de 720 ng/dl y un nivel mínimo de 430 ng/dl. La significación fisiológica de este ciclo diurno, si existe, sin embargo, no está clara.

30 El hipogonadismo en el hombre se origina a partir de una variedad de alteraciones patofisiológicas en las que la concentración de testosterona está disminuida por debajo del intervalo normal. La condición hipogonádica a veces está vinculada con una serie de cambios fisiológicos, tales como la disminución del interés en el sexo, impotencia, reducción de la masa corporal magra, disminución de la densidad ósea, disminución del estado de ánimo, y disminución de los niveles de energía.

35 Los investigadores suelen clasificar el hipogonadismo en uno de tres tipos. El hipogonadismo primario incluye la insuficiencia testicular debido a la anorquia congénita o adquirida, síndrome XYY, síndrome de Noonan, hombres XX, digénesis gonadal, tumores de las celdas de Leydig, testículos maldescentes, varicocele, síndrome de solo celdas de Sertoli, criptorquidia, torsión bilateral, síndrome de los testículos desaparecidos, orquiectomía, síndrome de Klinefelter, quimioterapia, daño tóxico del alcohol o metales pesados, y enfermedad en general (insuficiencia renal, cirrosis hepática, diabetes, miotonía distrofica). Los pacientes con hipogonadismo primario muestran un mecanismo de retroalimentación intacto en el que las bajas concentraciones de testosterona en suero están asociadas con niveles

altos de concentraciones de FSH y de LH. Sin embargo, a causa de fallos testiculares u otros fallos, las altas concentraciones de LH no son eficaces en la estimulación de la producción de testosterona.

El hipogonadismo secundario implica una gonadotropina idiopática o deficiencia de la liberación de la hormona LH. Este tipo de hipogonadismo incluye el síndrome de Kallman, el síndrome de Prader- Labhart-Willi, el síndrome de Laurence-Moon-Biedl, la insuficiencia pituitaria / adenomas, síndrome de Pasqualini, la hemocromatosis, hiperprolactinemia, o lesiones pituitario-hipotalámicas causadas por tumores, traumatismo, radiación, u obesidad. Dado que los pacientes con hipogonadismo secundario no demuestran una ruta de retroalimentación intacta, las concentraciones de testosterona más bajas no están asociadas con mayores niveles de FSH o LH. Por lo tanto, estos hombres tienen bajos niveles de testosterona en suero, pero tienen gonadotropinas en niveles de intervalo normal a

El hipogonadismo puede estar relacionado con la edad. Los hombres experimentan una lenta pero continua disminución de la testosterona sérica promedio después de aproximadamente 20 a 30 años de edad. Los investigadores estiman que la disminución es de aproximadamente 1-2% por año. Los estudios cruzados en hombres han encontrado que el valor promedio de la testosterona a la edad de 80 años es aproximadamente el 75% del valor de la de la edad de los 30 años. Debido a que la concentración sérica de SHBG aumenta a medida que los hombres envejecen, la caída de la testosterona biodisponible y libre es aún mayor que la caída de la testosterona total. Los investigadores han estimado que aproximadamente el 50% de los hombres sanos entre las edades de 50 y 70 tienen niveles de testosterona biodisponible que están por debajo del límite inferior normal. Además, a medida que los hombres envejecen, el ritmo circadiano de la concentración de testosterona es a menudo silenciado, disminuido, o se pierde por completo. El principal problema con el envejecimiento parece estar dentro de la unidad hipotalámico-pituitaria. Por ejemplo, los investigadores han encontrado que con el envejecimiento, los niveles de LH no aumentan a pesar de los bajos niveles de testosterona. Independientemente de la causa, estas deficiencias de testosterona no tratadas en hombres mayores pueden conducir a una variedad de cambios fisiológicos, incluyendo disfunción sexual, disminución de la libido, pérdida de masa muscular, disminución de la densidad ósea, depresión y disminución de la función cognitiva. El resultado neto es el hipogonadismo geriátrico o lo que comúnmente se conoce como "menopausia masculina". Hoy en día, el hipogonadismo es la deficiencia hormonal más común en los hombres, afectando a 5 de cada 1.000 hombres. En la actualidad, se estima que sólo un cinco por ciento de aproximadamente los cuatro a cinco millones de hombres americanos de todas las edades con hipogonadismo actualmente reciben terapia de reemplazo de testosterona.

El documento de patente de los Estados Unidos US2005/020552 describe una composición de gel hidroalcohólica, Androgel, que comprende el 1% p/p de testosterona, el 0,7% p/p de miristato de isopropilo, el 69% p/p de etanol, carbopol 940 como agente gelificante y agua.

Compendio de la invención

La presente invención se refiere a una formulación de gel de testosterona hidroalcohólica transdérmica mejorada que proporciona, entre otras cosas, un perfil farmacocinético deseable de la hormona, para los usos definidos en las reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama de Pareto estandarizado que demuestra el efecto de los factores de prueba testosterona, miristato de isopropilo y alcohol etílico sobre la respuesta de la variable viscosidad.

La figura 2 es un diagrama de Pareto estandarizado que demuestra el efecto de los factores de prueba testosterona, miristato de isopropilo y alcohol etílico sobre el porcentaje permeado.

La figura 3 es un diagrama de Pareto estandarizado que demuestra el efecto de los factores de prueba testosterona, miristato de isopropilo y alcohol etílico sobre la relación CAR.

La figura 4 es un gráfico de superficie estimado de la respuesta, que ilustra la respuesta estimada (relación CAR) para una combinación dada de testosterona, y miristato de isopropilo con un contenido de alcohol (95% v/v) de 74,3% en peso.

La figura 5 es un diagrama de contorno que ilustra los contornos del gráfico de superficie estimado de la respuesta en la figura 4.

La figura 6 es un gráfico que muestra la cantidad acumulada de testosterona liberada en función del tiempo para diversas formulaciones de testosterona (F57 a F59) en comparación con la formulación de referencia (F56).

La figura 7 es un gráfico que muestra las cantidades acumuladas de testosterona permeada en función del tiempo para la formulación F57.

La figura 8 es un gráfico que muestra las cantidades acumuladas de testosterona permeada en función del tiempo para la formulación F58.

La figura 9 es un gráfico que muestra las cantidades acumuladas de testosterona permeada en función del tiempo para la formulación F59.

La figura 10 es un gráfico que muestra los perfiles concentración-tiempo en suero promedio para la testosterona observados en el día 1.

- 5 La figura 11 es un gráfico que muestra los perfiles concentración-tiempo en suero promedio para la testosterona observados en el día 14.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a una formulación en gel de testosterona mejorada para su uso como se define en las reivindicaciones.

- 10 En una realización, la presente invención se dirige a un gel hidroalcohólico para su uso en un método para la administración percutánea de testosterona. El gel comprende testosterona (o un derivado de testosterona), uno o más alcoholes inferiores, elegidos de etanol o isopropanol; miristato de isopropilo, usado como agente para aumento de la penetración; un espesante; y agua. Además, la presente invención puede incluir opcionalmente sales, emolientes, estabilizantes, antimicrobianos, fragancias y propelentes.

- 15 La presente invención también incluye kits, métodos, combinaciones, y composiciones farmacéuticas para su uso en tratar, prevenir, revertir, detener o retardar la progresión del hipogonadismo u otros trastornos asociados a la testosterona baja en un individuo una vez que se vuelve clínicamente evidente o el tratamiento de los síntomas asociados o relacionados con el hipogonadismo o trastornos asociados con la testosterona baja. El individuo puede ya tener un diagnóstico de hipogonadismo y/o bajos niveles de testosterona en el momento de la administración o
20 estar en riesgo de desarrollar hipogonadismo y/o baja testosterona. La invención presente, preferentemente, es para uso en el tratamiento de sujetos adultos de más de 18 años de edad. Aún más preferiblemente la presente invención es para el uso en el tratamiento de sujetos adultos de más de 21 años de edad.

- 25 El término "derivado" se refiere a un compuesto que se produce de otro compuesto de estructura similar por el reemplazamiento o sustitución de un átomo, molécula o grupo por otro. Por ejemplo, un átomo de hidrógeno de un compuesto puede ser sustituido con alquilo, acilo, amino, etc., para producir un derivado de ese compuesto.

- 30 Tal como se usa en este documento, el término "alcohol inferior", solo o en combinación, significa un resto de alcohol de cadena lineal o cadena ramificada que contiene de uno a aproximadamente seis átomos de carbono. En una realización, el alcohol inferior contiene de uno a aproximadamente 4 átomos de carbono, y en otra realización, el alcohol inferior contiene de dos a aproximadamente 3 átomos de carbono. Ejemplos de tales restos de alcoholes incluyen metanol, etanol, etanol USP (es decir del 95% v/v), n-propanol, isopropanol, n-butanol, isobutanol, sec-butanol, y terc-butanol.

Como se usa en este documento, el término "etanol" se refiere a C_2H_5OH . Puede ser utilizado como alcohol deshidratado USP, alcohol USP, o en cualquier forma común que incluye en combinación con diversas cantidades de agua.

- 35 La composición se usa en una "cantidad farmacológicamente eficaz". Esto significa que la concentración del fármaco administrado es tal que en la composición produce un nivel terapéutico del fármaco suministrado durante el periodo de tiempo en que el fármaco se va a utilizar. Este suministro depende de un número de variables que incluyen el período de tiempo para el que la unidad de dosificación individual se va a utilizar, la velocidad de flujo del fármaco desde la composición, por ejemplo, la testosterona a partir del gel, área de la superficie del lugar de aplicación, etc.
40 Para la testosterona, por ejemplo, la cantidad de testosterona necesaria puede ser experimentalmente determinada basada en la velocidad del flujo de testosterona a través de gel y a través de la piel cuando se utiliza con y sin potenciadores.

- 45 En una realización, la presente invención se dirige a un gel hidroalcohólico para su uso en un método para la administración percutánea de testosterona como se define en las reivindicaciones. El gel comprende uno o más alcoholes inferiores, elegidos de etanol o isopropanol; miristato de isopropilo como agente potenciador de la penetración; un espesante; y agua. En una realización, el gel comprende un agente espesante de polímero aniónico precursor neutralizado con un agente de liberación de hidróxido, tal como, por ejemplo, hidróxido sódico. Adicionalmente, la presente invención puede opcionalmente incluir sales, emolientes, estabilizantes, antimicrobianos, fragancias, y propelentes.

- 50 Incluido en los métodos y composiciones farmacéuticas de la presente invención están las formas isómeras y tautómeras de los compuestos descritos y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Sales ilustrativas farmacéuticamente aceptables se preparan a partir de los ácidos fórmico, acético, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, mesílico, esteárico, salicílico, p-hidroxibenzoico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, pantoténico, toluensulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, algénico, b-hidroxibutírico, galactárico y galacturónico.
55

Los agentes espesantes (también conocidos como agentes gelificantes) adecuados para uso en la presente invención incluyen polímeros neutralizados aniónicos tales como el ácido poliacrílico. Los ácidos poliacrílicos de carbómero son preferidos, especialmente los fabricados y vendidos por Noveon Inc. de Cleveland, Ohio bajo el nombre registrado Carbopol®. (Véase información en <http://www.noveon.com>, incorporada aquí como referencia.) Particularmente preferidos son los Carbopol® Ultrez 10, 940, 941, 954, 980, 981, ETD 2001, EZ-2 y EZ-3. Los más preferidos son Carbopol® 940 y Carbopol® 980. Otros polímeros aniónicos adecuados incluyen carboxipolimetilcelulosa y carboximetilcelulosa. También son adecuados otros agentes espesantes poliméricos conocidos tales como emulsionantes poliméricos Pemulen®, y policarbófilos Noveon®. Otros agentes espesantes, potenciadores y adyuvantes en general se pueden encontrar en The Science and Practice of Pharmacy de Remington, Meade Publishing Co., y Pharmacopea de los Estados Unidos/National Formulary, todos incorporados aquí como referencia.

En una realización, la formulación es un gel que comprende testosterona; miristato de isopropilo como agente potenciador de la penetración; un agente espesante, tal como un carbómero neutralizado; un alcohol inferior elegido de etanol o isopropanol; y agua.

En otra realización, la formulación contiene un polímero aniónico precursor de un agente espesante tal como un carbómero que ha sido combinado con un neutralizante en una cantidad suficiente para formar un gel en el curso de formación de la composición.

En otra realización, la formulación contiene un polímero aniónico precursor de un agente espesante tal como un carbómero que se ha combinado con un neutralizante en una cantidad suficiente para formar un gel con una viscosidad mayor de 9000 cps medida por un viscosímetro Brookfield RV DVII+ con un husillo igual a RV6, RPM (rotaciones por minuto) igual a 10, y la temperatura mantenida a 20° C.

En aún otra realización adicional, la formulación contiene un polímero aniónico precursor de un agente espesante tal como un carbómero que se ha combinado con un neutralizador seleccionado del grupo que consiste en hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio, arginina, aminometilpropanol, tetrahidroxipropilendiamina, trietanolamina ("TEA"), trometamina, PEG-15 cocamina, diisopropanolamina, y trisopropanolamina o combinaciones de los mismos en una cantidad suficiente para neutralizar el precursor del agente espesante de polímero aniónico para formar un gel en el curso de formar la composición. Agentes neutralizantes adecuados y su uso con agentes espesantes precursores de polímeros aniónicos seleccionados se describen en "Neutralizing Carbopol® and Pemulen® Polymers in Aqueous and Hydroalcoholic Systems," Panfleto comercial TDS-237 (Octubre de 1998) por Noveon Inc. de Cleveland, Ohio, incorporado en este documento como referencia.

En todavía una realización adicional, la formulación contiene un polímero aniónico precursor de un agente espesante tal como un carbómero que se ha combinado con un neutralizador que es una solución acuosa de hidróxido de sodio tal como hidróxido de sodio 0,1 N o hidróxido de sodio 1,5 N, o hidróxido de sodio 2,0 N o cualquier otra solución acuosa de fuerza conveniente en una cantidad suficiente para formar un gel. En una realización, la composición se preparó utilizando entre aproximadamente 1,0% y 10,0% de hidróxido de sodio 0,1 N. Por consiguiente pueden ser usadas las realizaciones que emplean cualquier porcentaje entre alrededor de 1,0% y alrededor de 10,0% de NaOH 0,1 N, tal como, por ejemplo, 1,0%, 2,0%, 3,0%, 4,0%, 5,0%, 6,0%, 7,0%, 8,0%, 9,0% o 10,0% NaOH 0,1 N.

En una realización la formulación es un gel y se obtiene mediante la combinación de las siguientes sustancias en porcentajes aproximados:

Tabla 2. Ingredientes combinados para producir formulaciones de testosterona (% p/p)

T (Testoesterona)	Alcohol (95% v/v)	Miristato de isopropilo	Carbopol 980	NaOH 0,1N	Agua purificada
1,20	73,5	1,00	1,0	7,00	16,3
1,40	73,5	1,00	1,0	7,00	16,1
1,60	73,5	1,00	1,0	7,00	15,9

En una realización, la composición comprende aproximadamente 1,62% de testosterona.

La composición comprende de aproximadamente 1,50% a aproximadamente 1,70% (p/p) de testosterona

En otra realización, la composición además comprende de 0,6% a 1,2% (p/p) de miristato de isopropilo; de 60% a 80% (p/p) de un alcohol seleccionado del grupo que consiste en etanol e isopropanol; una cantidad suficiente de un agente espesante para proporcionar a la composición una viscosidad en exceso de aproximadamente 9000 cps; y agua.

En otra realización, la composición comprende además de 0,6% a 1,2% (p/p) de miristato de isopropilo; de 67% a 74% (p/p) de un alcohol seleccionado del grupo que consiste en etanol e isopropanol; una cantidad suficiente de un agente espesante para proporcionar a la composición una viscosidad en exceso de aproximadamente 9000 cps; y agua.

5 En otra realización, la viscosidad de la composición de la presente invención es de aproximadamente 13.000 cps a aproximadamente 33.000 cps. Por consiguiente, la viscosidad de la composición de la presente invención puede ser cualquier cantidad entre aproximadamente 13.000 cps y 33.000 cps, tales como, por ejemplo, 14.000, 15.000, 16.000, 17.000, 18.000, 19.000, 20.000, 21.000, 22.000, 23.000, 24.000, 25.000, 26.000, 27.000, 28.000, 29.000, 30.000, 31.000, 32.000 o 33.000 cps.

10 El gel se frota o coloca sobre un área de la piel del sujeto y se deja secar. El gel se seca rápidamente, es decir, dentro de aproximadamente 30 segundos a aproximadamente 3 minutos después de la aplicación. Ilustrativamente, el gel se frota en una zona de la piel, por ejemplo, en el muslo superior externo y/o cadera diariamente una vez. Después de la aplicación el sujeto se lava las manos. La aplicación del gel origina un nivel creciente de testosterona que tiene un perfil farmacocinético deseable y es eficaz para tratar o prevenir el hipogonadismo y/o la testosterona baja o los síntomas asociados, o relacionados con el hipogonadismo y/o la testosterona baja en el sujeto. La composición es por
15 lo tanto útil para el tratamiento de un número de alteraciones o enfermedades.

En una realización, la presente invención emplea un paquete que tiene un revestimiento de polietileno compatible con los componentes de un gel de testosterona, como se describe a continuación. El paquete puede contener una dosis unitaria o múltiples dosis.

20 En otra realización, los métodos y composiciones emplean una composición que se dispensa desde un recipiente de dosis múltiple rígido (por ejemplo, con una bomba manual) que tiene un empaquetamiento de aluminio más grande, por ejemplo, de la composición en el interior del recipiente. Dichos empaquetamientos más grandes también pueden comprender un revestimiento de polietileno como anteriormente. En una realización, el recipiente de múltiples dosis comprende una bomba sin aire que comprende una bolsa de aluminio con revestimiento de polietileno dentro de un
25 recipiente cilíndrico con una bomba de mano insertada. En una realización, la bolsa forrada de lámina de polietileno consta de 44 g ó 88 g de producto. En una realización, la bomba es capaz de dispensar una cantidad total de alrededor de 75 g de gel. En una realización, la bomba se ceba antes de su uso, tal como, por ejemplo, mediante la plena depresión de la bomba tres veces y se desecha el gel. En una realización, la bomba contiene producto suficiente para permitir el cebado y un número fijo de dosis precisas. En una realización, cada depresión de la bomba completa proporciona 1,25 g de gel de testosterona. En esta realización, una dosis de 3,75 g de gel requeriría 3 depresiones de
30 la bomba. Una dosis de 5 g de gel requeriría 4 depresiones de la bomba. Una dosis de 7,5 g de gel requeriría 6 depresiones de la bomba. Una dosis de 10 g de gel requeriría 8 depresiones y así sucesivamente. Por supuesto, cada depresión de la bomba puede administrar cualquier cantidad de gel de testosterona adecuada para suministrar la dosis deseada. El tamaño de la bolsa, la cantidad dispensada y el volumen dispensado por depresión no se limita a estas realizaciones y pueden ser modificados o ajustados para satisfacer las necesidades de la población de pacientes.

35 Los métodos y composiciones de la presente invención proporcionan opciones de tratamiento mejoradas para tratar, prevenir, revertir, parar o retardar la progresión del hipogonadismo u otro trastorno asociado con baja testosterona en un sujeto, por ejemplo, un hombre, en comparación con los disponibles actualmente.

40 En una realización, la composición farmacéutica de la presente invención se administra una vez, dos veces, o tres veces al día o tantas veces como sean necesarias para conseguir el efecto terapéutico deseado. En otra realización, la composición de la presente invención se administra una vez, dos veces o tres veces al día en días alternos. En otra realización, la composición de la presente invención se administra una vez, dos veces, o tres veces al día sobre una base semanal, bisemanal o mensualmente.

En una realización, una dosis terapéuticamente eficaz está entre alrededor de 1,0 g y 10,0 g, preferiblemente entre aproximadamente 1,25 g y 6,25 g.

45 Además de ser útil para el tratamiento humano, la presente invención es también útil para el tratamiento veterinario de mamíferos, reptiles, aves, animales exóticos y animales de granja, incluyendo mamíferos roedores, y similares. En una realización, el mamífero incluye un primate, por ejemplo, un ser humano, un mono, o un lémur, un caballo, un perro, un cerdo o un gato. En otra realización, el roedor incluye una rata, un ratón, una ardilla o un conejillo de indias.

50 La composición es capaz de liberar el esteroide después de aplicar la composición a la piel a una velocidad y duración que envía en una realización de la presente invención al menos alrededor de 10 µg por día del esteroide al suero de la sangre del sujeto.

En otra realización de la presente invención, la composición es capaz de liberar la testosterona después de aplicar la composición a la piel de un sujeto a una velocidad y duración que logra una concentración circulante en suero de testosterona mayor de alrededor de 300 ng por dl de suero.

55 En otra realización de la presente invención, la composición es capaz de liberar la testosterona después de aplicar la composición a la piel de un sujeto a una velocidad y duración que logra una concentración circulante en suero de

testosterona mayor de aproximadamente 300 ng por dl de suero durante un período de tiempo comenzando alrededor de 0,5 horas después de la administración y terminando alrededor de 24 horas después de la administración.

5 En otra realización de la presente invención, la composición es capaz de liberar la testosterona después de aplicar la composición a la piel de un sujeto a una velocidad y duración que logra una concentración circulante en suero de la testosterona entre alrededor de 298 ng de testosterona por dl de suero a alrededor de 1043 ng de testosterona por dl de suero.

En otra realización de la presente invención, después de la administración de la composición, la concentración sérica de testosterona se mantiene entre aproximadamente 400 y 1050 ng de testosterona por dl de suero.

10 En otra realización de la presente invención, después de la administración de la composición, la concentración sérica de testosterona se mantiene entre alrededor de 200 y 1800 ng de testosterona por dl de suero.

En otra realización de la presente invención, después de la administración de la composición, la Cmax obtenida es de entre aproximadamente 300 y 5000 ng/dl.

15 En otra realización de la presente invención, se proporciona la composición a un sujeto para la administración diaria de aproximadamente una dosis de 1,25 g, aproximadamente 3,75 g, tal como, por ejemplo, aproximadamente 1,25 g, o aproximadamente 2,50 g, o aproximadamente 3,75 g. Cualquier otra dosis adecuada puede también ser administrada.

En todavía otra realización de la presente invención, el sujeto que necesita tratamiento tiene un nivel de testosterona en suero antes de la primera aplicación (pretratamiento) de la composición de la presente invención de menos de aproximadamente 300 ng/dl.

20 En otra realización de la presente invención, después de al menos de aproximadamente 30 días de administración diaria de la composición de la presente invención, la concentración de testosterona en suero en un sujeto es al menos de aproximadamente 300 ng/dl a aproximadamente 1050 ng/dl, tal como, por ejemplo, de aproximadamente 300 ng/dl a aproximadamente 400 ng/dl, aproximadamente 300 ng/dl a aproximadamente 500 ng/dl, de aproximadamente 500 ng/dl a aproximadamente 700 ng/dl, aproximadamente 700 ng/dl a aproximadamente 900 ng/dl, de aproximadamente 400 ng/dl a aproximadamente 500 ng/dl, de aproximadamente 500 ng/dl a aproximadamente 600 ng/dl, de aproximadamente 600 ng/dl a aproximadamente 700 ng/dl, de aproximadamente 700 ng/dl a aproximadamente 800 ng/dl, de aproximadamente 800 ng/dl a aproximadamente 900 ng/dl, de aproximadamente 900 ng/dl a aproximadamente 1000 ng/dl, de aproximadamente 1000 ng/dl a aproximadamente 1100 ng/dl, de aproximadamente 400 ng/dl a aproximadamente 1050 ng/dl, de aproximadamente 500 ng/dl a aproximadamente 1050 ng/dl, de aproximadamente 600 ng/dl a aproximadamente 1050 ng/dl, o de aproximadamente 700 ng/dl a aproximadamente 1050 ng/dl.

25 En todavía otra realización de la presente invención, después de la administración diariamente de la composición de la presente invención, la concentración de la testosterona total en un sujeto es mayor de alrededor de 300 ng/dl. En una realización, la concentración total de testosterona sérica en el sujeto es mayor de aproximadamente 400 ng/dl, aproximadamente 500 ng/dl, aproximadamente 600 ng/dl o aproximadamente 700 ng/dl. En una realización, la concentración de testosterona total se mide después de 24 horas de la administración. En una realización, la concentración de testosterona total se mide después de más de 2 días de la administración diaria, tal como por ejemplo, después de 10 días, 14 días, 20 días o 30 días.

35 En otra realización de los métodos, kits, combinaciones y composiciones de la presente invención, la composición de la presente invención se administra una vez, dos veces o tres veces al día a un sujeto durante al menos aproximadamente 7 días. En una realización, la composición se administra una vez al día.

Ejemplo 1: Desarrollo de gel(es) de testosterona mejorado(s)

Introducción

45 Con el fin de desarrollar una formulación de gel de testosterona nueva, se llevaron a cabo una serie de estudios exploratorios para preparar y probar las formulaciones de gel que contenían diferentes niveles de testosterona, miristato de isopropilo y alcohol etílico. Estudios preliminares habían demostrado que la viscosidad del gel se podía incrementar aumentando ligeramente las concentraciones de los agentes de gelificación y de los agentes de neutralización. Se utilizó un programa estadístico para generar un diseño para estudiar el efecto de los 3 ingredientes, testosterona, alcohol etílico y miristato de isopropilo en la viscosidad y la permeación *in vitro* de la testosterona a partir de geles hidroalcohólicos. Estudios de permeación *in vitro* se llevaron a cabo utilizando celdas de difusión Franz. La concentración de testosterona presente en las muestras del receptor se analizó mediante la técnica de HPLC o contador de centelleo beta (para la técnica de marcado radiactivo). Basado en los resultados de estos estudios se prepararon tres formulaciones optimizadas y se ensayaron en cuanto a la permeación de la piel utilizando el método de HPLC. Las tres formulaciones optimizadas mostraron significativa mejora de la viscosidad y permeación de la piel *in vitro* comparada con la formulación comercializada actualmente (gel de testosterona al 1%).

Objetivos

5 La presente exposición resume los estudios realizados para desarrollar formulación(es) de gel de testosterona con viscosidad mejorada, volumen de aplicación reducido, y penetración cutánea mejorada *in vitro* en comparación con la formulación comercializada actualmente (gel de testosterona al 1%), y para potencialmente reducir el volumen de aplicación del gel

Procedimiento

a. Diseño estadístico

10 El diseño estadístico fue creado (Statgraphics Plus 5.1) para estudiar el efecto de 3 ingredientes, testosterona, alcohol etílico y miristato de isopropilo sobre la viscosidad y la permeación *in vitro* de testosterona a partir de geles hidroalcohólicos. La concentración de otros dos ingredientes Carbopol 980 y solución de hidróxido de sodio 0,1 N se mantuvieron constantes. A continuación se resume el diseño:

Clase de diseño: Superficie de Respuesta

Nombre del diseño: diseño Box-Behnken

Número de factores experimentales: 3 (todos continuos)

15 Número de bloques: 1; Número de ejecuciones: 15 (al azar)

Grados de libertad del error: 5

Factores	Bajo (%)	Alto (%)
Testoesterona	1,33	2,0
Miristato de isopropilo	0,5	1,0
Alcohol (95% v/v)	72,5	76,1

20 El siguiente cuadro resume los ingredientes de las formulaciones de prueba según se crearon por el diseño estadístico. Estas formulaciones fueron preparadas para tamaño de 1 kg y empaquetado en recipientes de vidrio para las pruebas analíticas y las pruebas de permeación de la piel

Tabla 3. Ingredientes combinados para producir formulaciones de prueba y formulaciones de control (% p/p)

Nº de F (Formulación)	T (Testosterona)	Alcohol (95% v/v)	Miristato de isopropilo	Carbopol 980	NaOH 0,1 N	Agua purificada
41	1,665	74,3	0,75	1,0	7,00	15,3
42	1,665	72,5	0,50	1,0	7,00	17,3
43	1,665	76,1	0,50	1,0	7,00	13,7
44	2,000	74,3	0,50	1,0	7,00	15,2
45	1,330	74,3	0,50	1,0	7,00	15,9
46	1,330	76,1	0,75	1,0	7,00	13,8
47	2,000	74,3	1,00	1,0	7,00	14,7
48	1,665	74,3	0,75	1,0	7,00	15,3
49	1,330	74,3	1,00	1,0	7,00	15,4
50	2,000	72,5	0,75	1,0	7,00	16,8
51	1,665	76,1	1,00	1,0	7,00	13,2
52	2,000	76,1	0,75	1,0	7,00	13,2

53	1,665	72,5	1,00	1,0	7,00	16,8
54	1,330	72,5	0,75	1,0	7,00	17,4
55	1,665	74,3	0,75	1,0	7,00	15,3
56(control)	1,000	72,5	0,50	0,9	4,75	20,4

b. Pruebas analíticas

Todas las formulaciones de ensayo y muestras de control se analizaron por atributos físicos (apariencia, pH y viscosidad) y atributos químicos (ensayos para la testosterona, miristato de isopropilo y alcohol).

5 c. Estudios de permeación de la piel *in vitro*

La permeación de la testosterona fue estudiada cuantitativamente con piel humana colocada sobre celdas de difusión de Franz. La piel se montó horizontalmente entre la mitad donante y la mitad receptora. El área de la superficie de la piel expuesta a la formulación en la cámara donante fue de 0,64 cm², y el volumen de la receptora fue 5,0 ml. La temperatura se mantuvo a 37° C con la ayuda de una camisa de agua de circulación doble que rodeaba la parte inferior de la celda. La cámara donadora estaba abierta en la parte superior.

Método de radiomarcaje

Las formulaciones de ensayo fueron mezcladas con ¹⁴C testosterona marcada. La formulación marcada (radiomarcada) (5-15 mg de gel que contenía (0,125-0,250 µCi) se aplicó sobre la superficie de la epidermis gravimétricamente. Muestras periódicas (0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 22 y 24 h) se tomaron de la celda receptora para medir la radioactividad / cantidad de fármaco permeado a través de la piel. Además también se determinó la cantidad de marcado/fármaco remanente en la piel en las muestras de piel. Más detalles de estos experimentos y los resultados se presentan en el Ejemplo 2.

Método de HPLC

La formulación (300 mg ± 5%, que contenía 3000 µg del fármaco basada en gel al 1 %) se aplicó sobre la superficie de la epidermis gravimétricamente. Se recogieron alícuotas periódicamente (0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 22 y 24 h) y se reemplazaron con tampón fresco. Más tarde las alícuotas se analizaron en cuanto al contenido de testosterona. Más detalles de estos experimentos y resultados se presentan en el Ejemplo 3.

d. Análisis de Datos

Además de los datos reportados en los correspondientes ejemplos, los datos de ambos métodos radiomarcaje y HPLC se analizaron posteriormente mediante el programa estadístico (Statgraphics Plus 5.1). El programa Statgraphics también se utilizó para predecir los niveles óptimos de los diferentes factores que podrían proporcionar la máxima respuesta.

Resultados y Discusión.

Datos Analíticos

30 Todas las formulaciones de prueba eran transparentes y tenían un pH entre 5,68-5,82. El contenido de testosterona, miristato de isopropilo y alcohol estaban cerca del objetivo. La siguiente tabla resume los resultados analíticos del ensayo después de 1 mes de almacenamiento a 40° C/75% de HR.

Tabla 4. Resultados analíticos de las formulaciones de prueba y formulación de control*

Nº de F (Formulación)	Apariencia	pH	Viscosidad (cps)	Ensayo-T (%)	Ensayo-Alcohol (95%v/v)	Ensayo IPM (%)
41	Gel transparente	5,79	23567	1,69	73,8	0,67
42	Gel transparente	5,76	26900	1,66	71,8	0,45
43	Gel transparente	5,82	23000	1,69	75,5	0,44
44	Gel transparente	5,75	26700	2,00	74,1	0,44
45	Gel transparente	5,76	25467	1,32	73,7	0,44

ES 2 693 745 T3

46	Gel transparente	5,69	30233	1,40	74,5	0,74
47	Gel transparente	5,78	24733	2,02	73,3	0,92
48	Gel transparente	5,79	24767	1,66	74,3	0,68
49	Gel transparente	5,76	24300	1,33	73,8	0,93
50	Gel transparente	5,72	26133	2,02	71,7	0,68
51	Gel transparente	5,82	20700	1,75	75,4	0,93
52	Gel transparente	5,83	19733	2,00	75,5	0,68
53	Gel transparente	5,72	26033	1,68	71,7	0,95
54	Gel transparente	5,69	28267	1,34	71,9	0,69
55	Gel transparente	5,77	23233	1,67	74,0	0,68
56 (control)	Gel transparente	5,59	22033	1,01	72,4	0,44

*Resultados del ensayo después de 1 mes de almacenaje a 40° C/75% HR

T=testosterona, IPM=miristato de isopropilo

5 Como uno de los objetivos de este estudio es aumentar la viscosidad del gel, se realizó un análisis estadístico para evaluar el efecto de los factores de prueba, testosterona, miristato de isopropilo y alcohol etílico en la respuesta de la variable de viscosidad. A continuación se presenta un resumen del análisis:

Tabla 5. ANOVA para la viscosidad

Análisis de varianza para la viscosidad

Fuente	Suma de cuadrados	Df	Promedio de cuadrado	Relación F	Valor de P
A:T	9,41613E6	1	9,41613E6	1,58	0,2488
B:IPM	3,16945E6	1	3,16945E6	0,53	0,4892
C:EtOH	1,94337E7	1	1,94337E7	3,27	0,1137
AA	1,43962E6	1	1,43962E6	0,24	0,6379
AB	3,37413E6	1	3,37413E6	0,57	0,4760
AC	3,50601E7	1	3,50601E7	5,89	0,0456
BB	1,00605E6	1	1,00605E6	0,17	0,6933
BC	1,95303E6	1	1,95303E6	0,33	0,5847
CC	286812,0	1	286812,0	0,05	0,8325
Error total	4,16608E7	7	5,95155E6		
Total (corr.)	1,17733E8	16			

10 Con referencia ahora a la figura 1, donde en el gráfico A representa la testosterona, B representa el miristato de isopropilo, C representa EtOH, y las letras conjuntas representan una combinación de factores, es evidente que la combinación de alcohol y testosterona (es decir, AC) tiene un efecto negativo significativo en la viscosidad. Esta observación es consistente con estudios anteriores con alcohol; para maximizar la viscosidad el nivel de alcohol debería estar en el nivel más bajo posible.

15 Datos de permeación: técnica de radiomarcage

Se emplearon en este estudio muestras de piel de dos donantes. Para minimizar la variabilidad entre pieles, los datos de permeación, y % de marcado permeado (%LP), de las formulaciones de ensayo se normalizaron con la formulación de control probada con la piel del donante correspondiente. Se realizó un análisis estadístico adicional de la relación

de %LP (prueba/control, relación %LP) para obtener tendencias y concentraciones óptimas de testosterona, miristato de isopropilo y alcohol etílico. A continuación se presenta el resumen del análisis:

Tabla 6. Tabla de datos del radiomarcaje utilizados para el análisis estadístico*

Nº de F (Formulación)	Donante	T	IPM	Alcohol (95%v/v)	%LP	Relación %LP
41	8127	1,665	0,75	74,3	4,86	0,83
42	8127	1,665	0,50	72,5	3,45	0,59
43	8127	1,665	0,50	76,1	2,7	0,46
44	8127	2,000	0,50	74,3	3,8	0,65
45	8300	1,330	0,50	74,3	3,51	0,46
46	8300	1,330	0,75	76,1	6,37	0,84
47	8300	2,000	1,00	74,3	3,57	0,47
48	8300	1,665	0,75	74,3	5,38	0,71
49	8300	1,330	1,00	74,3	9,47	1,25
50	8300	2,000	0,75	72,5	5,69	0,75
51	8300	1,665	1,00	76,1	6,73	0,89
52	8300	2,000	0,75	76,1	2,22	0,29
53	8300	1,665	1,00	72,5	4,61	0,61
54	8300	1,330	0,75	72,5	4,33	0,57
55	8300	1,665	0,75	74,3	4,33	0,57
56(control)	8127	1,000	0,50	72,5	5,87	1,00
56(control)	8300	1,000	0,50	72,5	7,56	1,00

*Datos del %LP del Ejemplo 2. Relación %LP calculada a partir de valores %LP.

5

T = testosterona, IPM = miristato de isopropilo, LP = marcado permeado

Tabla 7. ANOVA para la Relación de % de marcado permeado (relación %LP)

Análisis de varianza para la viscosidad

Fuente	Suma de cuadrados	Df	Promedio de cuadrados	Relación F	Valor P
--------	-------------------	----	-----------------------	------------	---------

A:T	0,213314	1	0,213314	7,19	0,0315
B:IPM	0,107294	1	0,107294	3,62	0,0990
C:EtOH	0,00430679	1	0,00430679	0,15	0,7145
AA	0,119589	1	0,119589	4,03	0,0847
AB	0,131132	1	0,131132	4,42	0,0736
AC	0,0554353	1	0,0554353	1,87	0,2140
BB	0,00724917	1	0,00724917	0,24	0,6363
BC	0,0800686	1	0,0800686	2,70	0,1445
CC	0,00941549	1	0,00941549	0,32	0,5908
Error total	0,207716	7	0,0296737		
Total (corr.)	0,947084	16			

5 El diagrama de Pareto en la figura 2 muestra que el nivel de testosterona tiene un efecto negativo significativo, y el nivel de miristato de isopropilo tiene un efecto positivo sobre el % del marcado permeado (no estadísticamente significativo). El análisis anterior sugiere que el máximo nivel de testosterona en la formulación de gel debería ser inferior al nivel más alto estudiado. Este análisis también sugiere que el nivel máximo de miristato de isopropilo en la formulación del gel debería estar cerca del nivel más alto estudiado.

Datos de permeación: técnica de HPLC

10 Las mismas muestras de piel (dos donantes) utilizadas en el estudio de radiomarcage se utilizaron en este estudio. Para minimizar la variabilidad entre pieles, los datos de permeación (flujo o cantidad acumulada liberada, CAR) de las formulaciones de prueba se normalizaron con la formulación de control probada con la piel del donante correspondiente. Se llevó a cabo un análisis estadístico adicional sobre la relación de CAR (prueba/control, relación CAR) para obtener tendencias y concentraciones óptimas de testosterona, miristato de isopropilo y alcohol etílico. A continuación se presenta el resumen del análisis:

Tabla 8. Tabla de datos HPLC usados en el análisis estadístico*

Número de F (Formulación)	Donante	T	IPM	Alcohol (95%v/v)	CAR	Relación CAR
41	8127	1,665	0,75	74,3	189,81	1,02
42	8127	1,665	0,50	72,5	188,21	1,01
43	8127	1,665	0,50	76,1	50,11	0,27
44	8127	2,000	0,50	74,3	151,95	0,82
45	8300	1,330	0,50	74,3	74,13	0,69
46	8300	1,330	0,75	76,1	117,87	1,09
47	8300	2,000	1,00	74,3	114,61	1,06
48	8300	1,665	0,75	74,3	208,82	1,94
49	8127	1,330	1,00	74,3	298,76	1,61
50	8127	2,000	0,75	72,5	94,71	0,51
51	8127	1,665	1,00	76,1	254,57	1,37
52	8127	2,000	0,75	76,1	113,93	0,61

53	8127	1,665	1,00	72,5	326,46	1,76
54	8127	1,330	0,75	72,5	200,45	1,08
55	8127	1,665	0,75	74,3	240,61	1,30
56(control)	8127	1,000	0,50	72,5	185,71	1,00
56 (control)	8300	1,000	0,50	72,5	107,79	1,00

* T = Testosterona, IPM= miristato de isopropilo, CAR = cantidad acumulada liberada

Tabla 9. ANOVA para la relación de la cantidad acumulada liberada (relación CAR)

Análisis de varianza para la Viscosidad

A:T	0,452519	1	0,452519	3,27	0,1135
B:IPM	1,01713	1	1,01713	7,35	0,0302
C:EtOH	0,18431	1	0,18431	1,33	0,2864
AA	0,164241	1	0,164241	1,19	0,3120
AB	0,0291287	1	0,0291287	0,21	0,6603
AC	0,0600202	1	0,0600202	0,43	0,5312
BB	0,000234383	1	0,000234383	0,00	0,9683
BC	0,0737582	1	0,0737582	0,53	0,4891
CC	0,200542	1	0,200542	1,45	0,2678
Error total	0,968701	7	0,138386		
Total (corr.)	3,03859	16			

5 Los resultados de la Tabla 8 se sometieron a un análisis de regresión y generó el algoritmo siguiente:

$$\text{Relación CAR} = 5,1239 - 0,4403 \cdot T + 1,5781 \cdot \text{IPM} - 0,0607 \cdot \text{EtOH}$$

donde T es la cantidad de testosterona % (p/p), IPM es la cantidad de miristato de isopropilo % (p/p), y EtOH es la cantidad (p/p) de alcohol 95% v/v

10 En una realización de la invención, los valores de T, IPM y EtOH se seleccionan dentro de los intervalos dados a continuación de tal manera que el algoritmo dado anteriormente da un valor de relación CAR mayor que 1, preferiblemente mayor que 1,1, o más preferiblemente mayor que 2. Los intervalos son: entre 1,0 y 2,0% (p/p) de testosterona, preferiblemente entre 1,15 y 1,8% (p/p) de testosterona; entre 0,2% y 2,0% (p/p) de miristato de isopropilo, preferiblemente entre 0,6 y 1,2% (p/p) de miristato de isopropilo, y entre aproximadamente 60,0% y 80% (p/p) de alcohol al 95% v/v, preferiblemente entre aproximadamente 72,5% y 76,1% (p/p) de alcohol al 95% v/v.

15 Haciendo ahora referencia a la gráfica de Pareto en la figura 3, el análisis estadístico claramente muestra que el nivel de miristato de isopropilo tiene un efecto positivo significativo y el nivel de testosterona tiene un efecto negativo (no estadísticamente significativo) en la relación CAR. La figura. 3 sugiere que el nivel máximo de testosterona en la formulación de gel debería ser inferior al más alto nivel estudiado. Este análisis también sugiere que el nivel máximo de miristato de isopropilo en la formulación de gel debería ser cercano al nivel más alto estudiado. Los resultados de permeación del método HPLC son cualitativamente consistentes con los resultados del método de radiomarcaje.

Optimización de la respuesta

25 Los resultados de permeación del método HPLC son cualitativamente similares a los del método de radiomarcaje. Por conveniencia, los datos del estudio HPLC se utilizaron para predecir (optimización estadística) los niveles óptimos de testosterona, miristato de isopropilo y alcohol para una respuesta dada. El programa estadístico produjo la siguiente combinación de niveles de los factores que maximiza la relación de la cantidad acumulada liberada (relación CAR).

Tabla 10. Niveles de los factores optimizados para la cantidad acumulada liberada (Relación CAR)

ES 2 693 745 T3

Objetivo: maximizar la relación	CAR	Valor óptimo =	1,81748
Factor	Bajo	Alto	Optimo
T	1,0	2,0	1,28995
IPM	0,5	1,0	1,0
EtOH	72,5	76,1	73,7366

Las figuras: 4 y 5 ilustran la respuesta estimada (relación CAR) para una determinada combinación de testosterona y miristato de isopropilo en un nivel de alcohol al 95% v/v de 74,3% (p/p).

a. Selección de la formulación

- 5 Basado en los gráficos de superficie de respuesta y los niveles óptimos de los factores predichos, las siguientes 3 formulaciones fueron seleccionadas para estudios de permeación adicionales. Una vez más por conveniencia estas 3 formulaciones se ensayaron por el método de HPLC solamente.

Tabla 11. Ingredientes combinados para producir formulaciones seleccionadas y formulaciones de control (% p/p)

Número de F (Formulación)	T (Testosterona)	Alcohol (95% v/v)	Miristato de isopropilo	Carbopol 980	NaOH 0,1 N	Agua purificada
57	1,20	73,5	1,00	1,0	7,00	16,3
58	1,40	73,5	1,00	1,0	7,00	16,1
59	1,60	73,5	1,00	1,0	7,00	15,9
56 (control)	1,00	72,5	0,50	0,9	4,75	20,4

- 10 La siguiente tabla resume los resultados de los ensayos analíticos iniciales (después de la preparación) para las formulaciones seleccionadas.

Tabla 12. Resultados analíticos de las pruebas analíticas para formulaciones seleccionadas y formulación de control

Nº de F (Formulación)	Apariencia	pH	Viscosidad (cps)	Ensayo T (%)	Ensayo alcohol (95% v/v)	Ensayo IPM (%)
57	Gel transparente	5,66	24500	1,21	73,1	0,94
58	Gel transparente	5,71	25533	1,42	72,7	0,94
59	Gel transparente	5,68	24800	1,61	73,3	0,94
56 (control)	Gel transparente	5,57	20267	1,02	71,8	0,43

- 15 En la siguiente tabla y en la figura. 6 se resume los datos de permeación de las 3 formulaciones seleccionadas (los puntos de los datos para la figura 6 y la tabla se obtuvieron a partir del Ejemplo 4, Tablas 17-20).

Tabla 13. Datos de-HPLC utilizado para el análisis estadístico*

Tiempo (hr)	F56 (1% gel)		F57 (1,2% gel)		F58 (1,4% gel)		F59 (1,6% gel)	
	CAR	SD	CAR	SD	CAR	SD	CAR	SD
0	0	0	0,0	0	0,0	0,00	0,0	0
1	0	0	0,5	0,7	0,0	0,00	0,0	0

2	0	0	1,3	0,5	1,3	1,2	0,5	0,3
4	0,40	0,1	4,3	1,3	4,0	1,0	2,9	1,3
6	1,52	0,3	14,2	4,5	11,0	2,7	13,8	4,6
8	6,96	1,5	38,0	11,5	35,9	11,0	43,5	10,8
10	18,35	3,4	57,0	17,9	65,4	14,3	64,5	10,4
22	48,20	12,5	119,2	51,0	129,1	11,8	137,5	30,6
24	50,76	12,3	129,7	50,4	137,0	13,9	156,3	36,4

*Puntos de los datos obtenidos del ejemplo 4, tablas 17-20

Todas las 3 formulaciones seleccionadas mostraron permeación significativamente mejor (2-3x la cantidad acumulada liberada) que el control. Estos resultados apoyan aún más las observaciones de la selección del cribado inicial de las formulaciones y formaron la base para la selección de las formulaciones finales.

5 Conclusiones

El programa estadístico se utilizó para diseñar los experimentos basado en 3 factores claves o sea, la testosterona, miristato de isopropilo y alcohol etílico. El programa también se utilizó para analizar los datos analíticos y los datos de permeación de la piel *in vitro*, e identificar las tendencias y los niveles óptimos de cada uno de los factores para maximizar la respuesta (permeación).

- 10 Las tres formulaciones seleccionadas de gel de testosterona tienen mayor viscosidad (~4.000 cps) que la formulación de control.

Fue observada una permeación *in vitro* mejorada de testosterona (2-3 veces más que el control) a través de la piel humana con dermatoma con las tres formulaciones de gel de testosterona seleccionadas.

15 **Ejemplo 2: absorción percutánea *in vitro* de formulaciones experimentales de testosterona en gel a través de piel humana por el método de radiomarcaje**

Materiales

Las formulaciones fueron preparadas y suministrado por Solvay Pharmaceuticals. La testosterona (¹⁴C) se adquirió de American radiolabeled Chemicals Inc, (St Louis, MO). Todos los otros productos químicos y reactivos fueron adquiridos de proveedores aprobados y fueron de la mayor calidad y pureza disponible.

20 Métodos

Descripción del aparato de celda de difusión transdérmica

- 25 El aparato de celda de difusión transdérmica usado en este estudio (PermeGear, Bethlehem, PA) posee hasta 9 celdas de difusión en serie y el fluido receptor es agitado por la perla magnética a 600 rpm. Se estudió la absorción percutánea *in vitro* cuantitativamente con la piel humana colocada en la celda de difusión de Franz. La piel se montó horizontalmente entre las mitades del donante y el receptor de la celda de difusión. El área de superficie de la piel expuesta a la formulación en la cámara del donante fue de 0,64 cm², y el volumen de las celdas del receptor fue 5,0 ml.

- 30 El compartimento del receptor se llenó con solución salina tamponada de fosfato pH 7,4 (PBS) y propilenglicol (1:1) y sulfato de gentamicina (50 µg/ml). Una camisa doble de circulación de agua (37° C) rodea la celda receptora para tener la temperatura de la piel mantenida a nivel fisiológico. La cámara donante estaba abierta hacia el medio ambiente externo exponiendo así la superficie de la piel al aire del laboratorio. La humedad relativa (RH) de la zona experimental (alrededor de la configuración de la celda de difusión) se controló para cada experimento y así se encontró que estaba en el intervalo de 35 a 45% para todos los experimentos.

Estudio de permeación de la piel

- 35 La piel humana (región del muslo) con dermatoma de 0,3 mm de espesor se obtuvo a partir de un banco de tejidos (US Tissue and Cell, Salt Lake City, Utah) a partir de cadáveres. La piel se recogió dentro de las 8 horas de la muerte del donante y se congeló en 10% p/v de glicerol en solución salina normal. La piel se almacenó a -80° C hasta su uso. La piel de dos donantes diferentes se utilizó en los experimentos. Cada experimento se llevó a cabo con cada formulación por lo menos 6 veces utilizando la piel de un donante. Los datos de permeación de la piel de las formulaciones se compararon con los de permeación del gel comercializado al 1% (en 6 repeticiones) probado sobre
- 40

la piel del mismo donante que las formulaciones de ensayo y todos los datos se normalizaron para la formulación de referencia (comercializada).

Testosterona radiomarcada (^{14}C , actividad específica 50-60 mCi/mmol) fue utilizada para este propósito. Esta fue suministrada por América Radiolabeled Chemicals y es 99,5% pura, como se comprobó por HPLC.

5 Los geles radioactivos se prepararon para ser aplicados de 0,125 a 0,250 μCi en una cantidad mínima del gel que se extiende en 0,64 cm^2 del área de difusión de la celda de Franz (0,64 cm^2). La cantidad mínima fue de al menos 5,0 a 15,0 mg. Una cantidad apropiada de testosterona radiactiva (12,5 μCi , por 125 μl de etanol) se evaporó en un matraz de fondo redondo hasta que el disolvente se evaporó completamente a sequedad. A este matraz, se añadieron 500 mg de la formulación de gel fría y se agitó con vortex durante 5 minutos y se dejó equilibrar durante la noche (12 a 16 h). Este gel se agitó con vortex nuevamente durante 30 minutos para obtener geles homogéneos. La homogeneidad de la radioactividad de la formulación se determinó por el nivel de conteo de 9 muestras exactamente pesadas (~5 mg) (estándares).

15 La piel congelada se descongeló a temperatura ambiente, manteniendo la piel a temperatura ambiente durante aproximadamente de 30 a 45 minutos. Esta fue lavada a continuación con agua para eliminar el glicerol. La piel se puso entonces en PBS pH 7,4 y se agitó suavemente con un agitador (100 rpm) durante 20 min para eliminar los restos de glicerol. La piel lavada se montó en las celdas aproximadamente 30 minutos antes de la aplicación de las formulaciones. La formulación (5 a 15 mg) se aplicó sobre la superficie de la epidermis gravimétricamente usando una jeringa (para cada determinación se dispensó suficiente gel para cubrir la superficie de prueba y el peso del gel dispensado se determinó). Muestras periódicas se tomaron de la celda del receptor para medir la cantidad de fármaco transportado a través de la piel (1, 2, 4, 6, 8, 10, 22 y 24 horas).

Procedimientos de lavado:

Al final de la prueba (24 horas), el fármaco residual que quedaba en la superficie de la piel se retiró por lavado de la superficie con 200 μl de diferentes disolventes de acuerdo con el siguiente protocolo:

1^{er} lavado: CetavlonTM alcohólico (10/90 v/v)

25 2^o lavado: agua

3^o lavado: CetavlonTM alcohólico (10/90 v/v)

4^o lavado: agua

5^o lavado: agua.

30 El área de aplicación fue después frotada con un palillo de algodón lana (Q-tip). Los lavados, el palillo de algodón y la celda del donante se recogieron con 20 ml de etanol y se permitió la extracción de toda la radioactividad en el etanol. El área expuesta se recogió mediante un punzón de biopsia. Para tener en cuenta la difusión lateral, porciones laterales de piel se recogieron y se contó la radioactividad para dar cuenta del balance de masa para los experimentos.

35 La piel de la zona de difusión activa, así como la piel lateral fueron cortadas en trozos con una tijera de disección de puntas agudas (Sigma) y digeridas para la extracción de la radioactividad, con 3 ml de Soluene 350TM (Packard) durante la noche.

La radioactividad contenida en las muestras obtenidas como se describió anteriormente se midió en su totalidad o en partes alicuotas pesadas utilizando un contador beta de líquido de centelleo equipado con software dedicado.

40 La evaluación se realizó para los estándares (0,5 ml/5ml picofluor40TM) para el fluido receptor (1,0 ml/10 ml Picofluor 40TM) y para una parte alicuota exactamente pesada de la solución etanólica que contenía los disolventes de lavado (0,5 ml/5 ml Picofluor 40TM).

Para la epidermis y dermis, después de la digestión, 15 ml de Hionic Fluor30TM (Packard) fueron añadidos. El ruido de fondo de la cuenta se deduce automáticamente de la tasa del conteo de cada muestra en cuentas por minuto (dpm).

Análisis de datos:

45 Los resultados se expresaron en cantidades o porcentajes de la testosterona aplicada, que se encontraba en los diferentes compartimentos. Las cantidades aplicadas de testosterona se determinaron a partir de los niveles de conteo de los patrones diluidos. Cada resultado representa el valor medio de 6 determinaciones experimentales y se asoció con su error estándar de la media:

1. La cantidad de testosterona y el % de la dosis absorbida en el fluido del receptor para cada tiempo se calcularon como sigue:

50 $\% = (\text{Qt}/\text{Qi}) \times 100$

donde Q_t representa la cantidad absorbido a tiempo t , y Q_i , la cantidad aplicada a tiempo 0,

2. La cantidad total y el % correspondiente de la dosis absorbida como función del tiempo (valores acumulados),

3. El flujo medio de testosterona permeado se calculó a partir de la pendiente de la porción lineal del gráfico de Q frente al tiempo y se expresó como $\mu\text{Ci}/\text{cm}^2/\text{h}$

5 4. La cantidad y el % de la dosis administrada, que se encontró en la piel y en los disolventes de lavado.

La validez de la prueba se comprobó balanceando la radiactividad que se encontró en las diferentes muestras (este resumen debería estar comprendido, para cada prueba, entre el 90% y 110% de la dosis. aplicada).

Resultados y conclusiones

10 La Tabla 14 muestra que las formulaciones F45, F47, F52, F53, F54 y F55 son permeables a una cantidad significativamente menor de testosterona que la F56 ($P < 0,001$). Para las formulaciones F41, 42, 43, 44, 46, 48, 50, y 51 las cantidades permeadas parecen ser más bajas que para F56. Sin embargo, la diferencia entre estas formulaciones y F56 no fue estadísticamente significativa ($P > 0,05$). Sin embargo F49 tuvo una permeación mayor que F56 pero la diferencia entre estas dos formulaciones no fue estadísticamente significativa ($P > 0,05$). Los datos del balance de masa indican diferentes niveles de retención de la piel de testosterona. Además, estos datos demuestran también que el balance de masa total está de 90 a 110% de la cantidad inicial de ^{14}C testosterona aplicada (Tabla 14).

15 El flujo de las formulaciones F41, F42, 46, F49 y F50, si bien parecía ser superior al de F56, no produjo diferencias que fueran estadísticamente significativas ($P > 0,05$). El flujo de todas las otras formulaciones, aunque pareciera ser menor que el de control, no produjo diferencias con respecto a F56 que fueran estadísticamente significativas excepto para F45 ($P > 0,05$).

20 De este estudio, queda claro que la velocidad y el grado de permeación a la testosterona a través de la piel humana de todas las formulaciones de ensayo fueron menores (o similares en algunos casos) a los de la formulación de referencia y ninguna de las formulaciones de ensayo demostró una permeación significativamente más alta que la formulación de referencia (F56).

25 Estudios de las limitaciones para el flujo: los estudios realizados aquí se basan en una cinética de dosis definida donde el paso limitante de la tasa es la cantidad de gel utilizada. Debido a nuestro uso de una dosis definida, se obtuvo un perfil no lineal de permeación con la mayoría de las formulaciones que hizo difícil calcular el flujo de equilibrio. De cualquier manera, se utilizaron puntos de tiempo de 2-10 horas para calcular los valores de flujo lo que es una suposición de un valor lineal de la progresión de flujo, aunque en la realidad, el equilibrio no se logró en estos experimentos. De ahí que los valores de AUC sean una representación mejor para comparar las formulaciones que los valores de flujo.

Tabla 14: Estudios de balance de masa

DONANTE 8127

	F41		F42		F43		F44		F56	
	Prome- dio	D.E.	Prome- dio	D.E.	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.
% en lavado	72,84	19,88	82,63	12,27	95,46	8,71	92,22	3,68	92,01	13,45
% piel lateral	1,15	2,14	0,27	0,18	0,31	0,41	0,36	0,29	0,59	0,40
% piel control	10,57	4,50	6,38	5,27	4,18	1,14	5,80	2,28	3,52	2,39
% per- meado	4,86	1,53	3,45	0,43	2,70	0,70	3,80	2,05	5,87	5,05
% total	89,42		92,73		102,65		102,18		101,99	

35 DONANTE 8300

ES 2 693 745 T3

	F45		F46		F47		F48		F56	
	Prome- dio	D.E.	Prome- dio	D.E.	Prome- dio	D.E.	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.
% en lavado	95,41	5,29	86,91	3,16	87,98	13,59	79,68	7,41	86,08	3,67
% piel lateral	0,24	0,14	0,42	0,17	0,14	0,08	0,25	0,10	0,21	0,09
% piel control	4,09	2,05	4,67	1,84	2,29	0,84	4,88	2,76	4,07	1,59
% permeado	3,51	1,65	6,37	3,98	3,57	1,25	5,38	3,81	7,56	1,78
% total	103,25		98,37		93,98		90,19		97,92	

DONANTE 8300

	F49		F50		F51		F52		F56	
	Prome- dio	D.E.	Prome- dio	D.E.	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.
% en lavado	79,64	5,61	88,34	2,30	91,04	8,28	95,51	4,07	86,08	3,67
% piel lateral	0,41	0,24	0,29	0,25	0,54	0,59	0,23	0,21	0,21	0,09
% piel control	8,29	2,69	5,70	2,12	6,58	1,92	2,67	0,84	4,07	1,59
% permeado	9,47	2,14	5,69	1,72	6,73	2,28	2,22	0,40	7,56	1,78
% total	97,82		100,01		104,89		100,64		97,92	

DONANTE 8300

	F53		F54		F55		F56	
	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.
% en lavado	85,33	4,58	87,39	4,37	90,02	2,64	86,08	3,67
% piel lateral	0,20	0,08	0,35	0,33	0,09	0,05	0,21	0,09
% piel control	9,14	2,93	5,88	3,69	4,37	3,29	4,07	1,59
% permeado	4,61	0,62	4,33	0,68	4,33	0,68	7,56	1,78
% total	99,28		97,95		98,81		97,92	

5

Ejemplo 3: absorción percutánea *in vitro* de formulaciones experimentales de gel de testosterona a través de la piel humana medida por el método de HPLC

Métodos

5 Piel humana: piel humana congelada fue suministrada por U.S. Tissue and Cell (Cincinnati, OH). La piel fue enviada con hielo seco y una vez recibida, almacenada a -80°C hasta su uso. El espesor medio de la piel con dermatoma fue de $540\ \mu\text{m}$. Cada experimento se llevó a cabo en réplicas de seis ($n = 6$) usando el mismo donante para cada formulación dada. Además, cada donante fue probado en cuanto a la permeación del gel al 1% comercializado (F56) por triplicado y todos los datos se normalizaron a esta medición.

Formulaciones: las formulaciones se prepararon y suministraron por Solvay Pharmaceuticals. Las formulaciones fueron ciegas excepto la fórmula del producto comercializado/de control (F56).

10 Estudios de transporte: se estudió la absorción percutánea *in vitro* cuantitativamente con la piel humana colocada en la celda de difusión de Franz. La piel se montó horizontalmente entre la mitad donante y receptora. El área de la superficie de la piel expuesta a la formulación en la cámara donante fue de $0,64\ \text{cm}^2$, y el volumen de receptor fue $5,0\ \text{ml}$. La temperatura se mantuvo a 37°C con la ayuda de una camisa de agua de circulación doble que rodeaba la parte inferior de la celda. Esto permitió que la temperatura de la piel se mantuviera a nivel fisiológico. La cámara de donante estaba abierta en la parte superior.

15 El compartimento receptor se rellenó con fluido receptor que consistió en solución salina tamponada con fosfato a pH 7,4 (PBS) y propilenglicol (1:1). La piel se montó en las celdas aproximadamente 30 minutos antes de la aplicación de las formulaciones. Se aplicó la formulación ($300\ \text{mg} \pm 5\%$ que contenía $3000\ \mu\text{g}$ del fármaco en base a un gel al 1%) sobre la superficie de la epidermis gravimétricamente. Muestras de $0,3\ \text{ml}$ se recogieron periódicamente (0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 22 y 24 horas) y se reemplazaron con tampón fresco.

20 Ensayo: las muestras se analizaron para el contenido de testosterona usando un ensayo de HPLC. Las condiciones / detalles fueron como sigue:

Fase móvil: acetonitrilo : agua (50 : 50)

Columna: C18, $3\ \mu\text{m}$, $150\ \text{mm}$ Phenomenex (Nucleosil).

Volumen de inyección: $30\ \mu\text{l}$

25 Velocidad de flujo: $1\ \text{ml/min}$

Detección UV: $239\ \text{nm}$

Resultados

30 Haciendo referencia a la tabla 15, los resultados se expresan como las cantidades acumuladas de testosterona permeada en función del tiempo para las diferentes formulaciones. La tabla muestra la cantidad acumulada permeada con relación a la fórmula de producto de control / comercializado usando el mismo donante de la piel humana. El flujo medio de testosterona permeado se calculó a partir de la pendiente de la porción lineal de la CAR (cantidad acumulada liberada) frente al gráfico del tiempo y se expresa como $\mu\text{g/cm}^2/\text{h}$. Los resultados se expresan como la relación del flujo de la formulación de prueba y la formulación de control (prueba / control). La cantidad acumulada de fármaco permeada a través de la piel por centímetro cuadrado de área se comparó también con la de la formulación comercializada y se expresó como una relación (prueba / control). Por lo tanto, cada formulación se comparó con la fórmula del producto comercializado en cuanto a su permeación acumulada y el valor de flujo y los resultados se compilan en la tabla 15. La comparación de cada formulación a la fórmula del producto comercializado se evaluó en cuanto a su significación estadística usando ANOVA. El promedio de las diferencias con $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos. Los datos brutos para cada formulación en relación a la fórmula del producto

35

40 comercializado muestran la relación de flujo y la relación de CAR, así como las conclusiones estadísticas.

Conclusiones

Se observó permeación de la testosterona a través de piel humana con dermatoma con todas las formulaciones y la permeación varió desde 1 hasta 7% con las diversas formulaciones.

45 Con referencia de nuevo a la tabla 15, se muestra que se observó una permeación mejorada con respecto a la formulación del producto comercializado tal como se determina mediante una comparación de la cantidad acumulada de fármaco permeado después de 24 horas y/o el flujo a niveles estadísticamente significativos para las formulaciones F 48, F 49 y F 53.

Tabla 15:

Formulación	Donante	Flujo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	Cantidad acumulada relativa (CAR) (μg)	Desviación estándar relativa ((ED/Promedio)* 100)	Relación de flujo	Relación CAR	¿Estadísticamente mejor que formulación comercializada?	
							Relación de flujo	Relación CAR
F41(n=4)	8127	13,03	189,81	11,87	0,65	1,02	No	No
F42(n=5)	8127	10,944	188,21	55,52	0,54	1,01	No	No
F43(n=6)	8127	3,44	50,11	23,91	0,17	0,27	No	No
F44(n=6)	8127	10,57	151,95	22,05	0,53	0,82	No	No
F45(n=6)	8300	5,95	74,13	29,00	0,47	0,69	No	No
F46(n=6)	8300	11,16	117,87	22,60	0,88	1,09	No	No
F47(n=6)	8300	10,85	114,61	22,57	0,86	1,06	No	No
F48(n=6)	8300	20,53	208,82	39,5	1,62	1,94	Si	Si
F49(n=6)	8127	20,34	298,76	18,70	1,01	1,61	No	Si
F50(n=6)	8127	6,78	94,71	28,76	0,34	0,51	No	No
F51(n=6)	8127	21,37	254,57	29,68	1,06	1,37	No	No
F52(n=4)	8127	8,18	113,93	40,08	0,41	0,61	No	No
F53(n=6)	8127	24,04	326,46	28,49	1,19	1,76	No	Si
F54(n=6)	8127	14,75	200,45	37,80	0,73	1,08	No	No
F55(n=4)	8127	16,67	240,61	27,58	0,83	1,30	No	No
F56(n=3)	8127	20,13	185,71	23,15	NA	NA	NA	NA
F56(n=3)	8300	12,69	107,79	7,00	NA	NA	NA	NA

Ejemplo 4: absorción percutánea *in vitro* de tres formulaciones de gel de testosterona a través de la piel humana medida por el método de HPLC

Métodos

5 Piel humana: piel humana congelada fue suministrada por U.S. Tissue and Cell (Cincinnati, OH). La piel fue enviada con hielo seco y una vez recibida, almacenada a -80°C hasta su uso. El espesor medio de la piel con dermatoma fue de aproximadamente $700\ \mu\text{m}$. Cada experimento se llevó a cabo en réplicas de seis ($n = 6$) usando el mismo donante para cada formulación dada. La permeación de la formulación de gel de testosterona comercializada (1%, F56) también se llevó a cabo en réplicas de seis ($n = 6$) y todos los datos se normalizaron a esta medición.

10 Formulaciones: las formulaciones se prepararon y suministraron por Solvay Pharmaceuticals. Las formulaciones fueron ciegas excepto la fórmula del producto comercializado/de control (F56).

15 Estudios de transporte: se estudió la absorción percutánea *in vitro* cuantitativamente con la piel humana colocada en la celda de difusión de Franz. La piel se montó horizontalmente entre la mitad donante y receptora. El área de la superficie de la piel expuesta a la formulación en la cámara donante fue de $0,64\ \text{cm}^2$, y el volumen de receptor fue $5,0\ \text{ml}$. La temperatura se mantuvo a 37°C con la ayuda de una camisa de agua de circulación doble que rodeaba la parte inferior de la celda. Esto permitió que la temperatura de la piel se mantuviera a nivel fisiológico. La cámara de donante estaba abierta en la parte superior.

20 El compartimento receptor se rellenó con fluido receptor que consistió en solución salina tamponada con fosfato a pH 7,4 (PBS) y propilenglicol (1:1). La piel se montó en las celdas aproximadamente 30 minutos antes de la aplicación de las formulaciones. Se aplicó la formulación ($300\ \text{mg} \pm 5\%$ que contenía $3000\ \mu\text{g}$ del fármaco en base a un gel al 1%)

sobre la superficie de la epidermis gravimétricamente. Muestras de 0,3 ml se recogieron periódicamente (0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 22 y 24 horas) y se reemplazaron con tampón fresco.

Ensayo: las muestras se analizaron para el contenido de testosterona usando un ensayo de HPLC. Las condiciones / detalles fueron como sigue:

5 Fase móvil: acetonitrilo : agua (50 : 50)

Columna: C18, 3 µm, 150 mm Phenomenex (Nucleosil).

Volumen de inyección: 30 µl

Velocidad de flujo: 1 ml/min

Detección UV: 239 nm

10 Resultados

Haciendo referencia a las figuras 7-9 y las tabla 17-20, los resultados se expresaron como las cantidades acumuladas de testosterona permeada en función del tiempo para las diferentes formulaciones. Cada tabla muestra la cantidad acumulada permeada con relación a la fórmula de producto de control / comercializado usando el mismo donante de la piel humana. El flujo medio de testosterona permeado se calculó a partir de la pendiente de la porción lineal de la CAR (cantidad acumulada liberada) frente al gráfico del tiempo y se expresa como µg/cm²/h. Los resultados se expresan como la relación del flujo de la formulación de prueba y la formulación de control (prueba / control). La cantidad acumulada de fármaco permeada a través de la piel por centímetro cuadrado de área se comparó también con la de la formulación comercializada y se expresó como una relación (prueba / control). Por lo tanto, cada formulación se comparó con la fórmula del producto comercializado en cuanto a su permeación acumulada y el valor de flujo y los resultados se compilan en la tabla 16. La comparación de cada formulación a la fórmula del producto comercializado se evaluó en cuanto a su significación estadística usando ANOVA. El promedio de las diferencias con p < 0,05 fueron consideradas estadísticamente significativas.

Conclusiones

25 Se observó permeación de la testosterona a través de la piel humana con dermatoma con las tres formulaciones y la permeación fue aproximadamente 3% (CAR).

Se observó mejor permeación comparado con la formulación del producto comercializado como se determinó por una comparación de la cantidad acumulada de fármaco permeada después de 24 horas y/o el flujo para todas las formulaciones de prueba F57, F58 y F59 a niveles estadísticamente significativos.

30 Según esto, utilizando las enseñanzas de la divulgación presente, puede prepararse un gel hidroalcohólico que comprende testosterona, miristato de isopropilo, etanol, agua y una cantidad suficiente de un agente espesante que dé al gel una viscosidad por encima de aproximadamente 9.000 cps tal que cuando se aplica a piel humana montada en una celda de Frantz en una cantidad de aproximadamente 300 mg, después de 24 horas la relación de flujo es mayor de 1, o preferiblemente mayor de 1,5 donde la relación de flujo es la relación de flujo de la testosterona expresada en una cantidad por unidad de área y por unidad de tiempo que permea la piel cuando se prueba la gel de esta manera versus el flujo de la testosterona que permea a través de la piel cuando un gel de viscosidad similar que comprende 1% en peso de testosterona, 0,5% en peso de miristato de isopropilo y 72,5% en peso de alcohol de 95% v/v se prueba de esta manera. El gel hidroalcohólico tiene entre 1,15 y 1,8% (p/p) de testosterona; entre 0,6 y 1,2% (p/p) de miristato de isopropilo, y entre 72,0 y 78,0% (p/p) de alcohol de 95% v/v.

40 Tabla 16: resumen de los datos de permeación de la testosterona a través de la piel a las 24 horas de las formulaciones de prueba (F57, F58 y F59) y de control (F56)

Formulación	Donante	Flujo (µg/cm ² /h)	Cantidad acumulada relativa (CAR, µg)	Desviación estándar relativa ((ED/Promedio)* 100)	Relación de flujo	Relación CAR	¿Estadísticamente mejor que formulación comercializada?	
							Relación de flujo	Relación CAR
Control F56 (n=6)	8126	4,20	50,76	26,08	--	--	--	--
F57(n=6)	8126	10,69	129,66	41,77	2,55	2,55	Si	Si

ES 2 693 745 T3

F58(n=6)	8126	8,70	136,98	10,88	2,07	2,70	Si	Si
F59(n=6)	8126	12,67	156,32	15,25	3,02	3,08	Si	Si

Tabla 17: datos de permeación de la testosterona a través de la piel de la formulación de control (F56)

Tiempo (h)	Control (cuentas de área)	Conc. (µg/ml)	Conc. X Dil	Conc.* 0,3	Total (5 ml)	Acum. (µg)	Acum. cm ²	DE	Flujo (µg/cm ² /h)
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4,00	4137,83	0,05	0,05	0,02	0,25	0,25	0,40	0,10	0,20
6,00	15522,67	0,19	0,19	0,06	0,96	0,97	1,52	0,30	0,56
8,00	71183,00	0,88	0,88	0,26	4,38	4,46	6,96	1,49	2,72
10,00	185241,67	2,28	2,28	0,68	11,41	11,74	18,35	3,37	5,69
22,00	484302,17	5,97	5,97	1,79	29,83	30,85	48,20	12,49	2,49
24,00	481870,50	5,94	5,94	1,78	29,68	32,49	50,76	12,29	1,28

Tabla 18: datos de permeación de la testosterona a través de la piel de la formulación de prueba -F57

Tiempo (h)	F57 (cuentas de área)	Conc. (µg/ml)	Conc. X Dil	Conc.* 0,3	Total (5 ml)	Acum. (µg)	Acum. cm ²	DE	Flujo (µg/cm ² /h)
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,00	5171,20	0,06	0,06	0,02	0,31	0,31	0,48	0,73	0,48
2,00	13574,00	0,16	0,16	0,05	0,81	0,83	1,30	0,53	0,82
4,00	45117,33	0,54	0,54	0,16	2,71	2,77	4,33	1,29	1,52
6,00	147837,67	1,77	1,77	0,53	8,87	9,10	14,21	4,45	4,94
8,00	393201,67	4,72	4,72	1,42	23,58	24,35	38,04	11,49	11,91
10,00	571442,33	6,86	6,86	2,06	34,28	36,45	56,96	17,86	9,46
22,00	1201173,50	14,41	14,41	4,32	72,05	76,28	119,19	50,99	5,19
24,00	1240824,00	14,89	14,89	4,47	74,43	82,98	129,66	50,45	5,24

5

Tabla 19: datos de permeación de la testosterona a través de la piel de la formulación de prueba -F58

Tiempo (h)	F58 (cuentas de área)	Conc. (µg/ml)	Conc. X Dil	Conc.* 0,3	Total (5 ml)	Acum. (µg)	Acum. cm ²	DE	Flujo (µg/cm ² /h)
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2,00	13377,80	0,16	0,16	0,05	0,80	0,80	1,25	1,23	1,25
4,00	41996,33	0,50	0,50	0,15	2,52	2,57	4,01	1,03	1,38
6,00	114316,00	1,37	1,37	0,41	6,86	7,06	11,03	2,71	3,51
8,00	372728,67	4,47	4,47	1,34	22,36	22,97	35,89	10,99	12,43
10,00	665420,00	7,98	7,98	2,39	39,91	41,86	65,41	14,32	14,76
22,00	1304913,50	15,65	15,65	4,70	78,27	82,62	129,09	11,80	5,31
24,00	1123168,83	15,72	15,72	4,72	78,62	87,67	136,98	13,89	3,95

Tabla 20: datos de permeación de la testosterona a través de la piel de la formulación de prueba -F59

Tiempo (h)	F59 (cuentas de área)	Conc. (µg/ml)	Conc. X Dil	Conc.* 0,3	Total (5 ml)	Acum. (µg)	Acum- cm ²	DE	Flujo (µg/cm ² /h)
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2,00	5610,17	0,07	0,07	0,02	0,35	0,35	0,54	0,25	0,54
4,00	30049,67	0,37	0,37	0,11	1,86	1,88	2,94	1,34	1,20
6,00	140427,33	1,74	1,74	0,52	8,69	8,82	13,79	4,64	5,42
8,00	439193,83	5,44	5,44	1,63	27,18	27,83	43,49	10,80	14,85
10,00	629849,83	7,80	7,80	2,34	38,98	41,26	64,47	10,42	10,49
22,00	1346943,00	16,67	16,67	5,00	83,36	87,98	137,47	30,64	6,08
24,00	1461065,83	18,08	18,08	5,43	90,42	100,05	156,32	36,38	9,43

5 **Ejemplo 5: farmacocinética de dosis únicas y múltiples de testosterona tras la administración de gel hidroalcohólico al 1,62% a dosis de 1,25, 2,50, 3,75, 5,00, y 6,25 g en varones hipogonadales**

Objetivos

Determinar la farmacocinética de dosis únicas y múltiples de testosterona tras la administración de gel de testosterona al 1,62% a dosis de 1,25 g (20,3 mg), 2,50 g (40,5 mg), 3,75 g (60,8 mg), 5,00 g (81,0 mg), y 6,25 g (101,3 mg).

10 Evaluar la proporcionalidad de la dosis y acumulación de testosterona en el intervalo de dosis de 1,25 g (20,3 mg) a 6,25 g (101,1 mg) de gel de testosterona al 1,62%.

Métodos

Formulaciones: las formulaciones se prepararon y suministraron por Solvay Pharmaceuticals. Las formulaciones fueron ciegas a excepción de la fórmula del producto de control / comercializado.

5 Diseño: Un solo centro, abierto, aleatorizado, única y múltiples dosis, de grupos paralelos en pacientes varones con hipogonadismo. Los sujetos fueron elegidos aleatoriamente para uno de los cinco grupos de tratamiento. Cada grupo se compondría de 12 sujetos, para un total de 60 sujetos.

Los sujetos que aceptaron participar en este estudio y que cumplían con el criterio de inclusión / exclusión fueron elegidos aleatoriamente a uno de los siguientes grupos de tratamiento:

Tabla 21: grupos de Tratamiento

Grupo de Tratamiento	Dosis del gel (g)	Dosis de testosterona (mg)
A	1,25	20,3
B	2,50	40,5
C	3,75	60,8
D	5,00	81,0
E	6,25	101,3

10 Cada sujeto recibió dosis únicas (día 1) y múltiples (días 2-14) de gel de testosterona al 1,62% durante un período de tratamiento de 14 días. El fármaco de estudio se aplicó por vía tópica una vez al día por la mañana. La duración total del estudio fue de 17 días, no incluyendo el periodo de evaluación. Los sujetos estuvieron confinados en la clínica durante todo el período de estudio de 17 días. La siguiente tabla muestra los ingredientes combinados para producir la formulación del estudio utilizada.

15 Tabla 22: ingredientes combinados para producir la formulación del estudio (% p/p)

Componente	Función	% p/p
Testosterona	Ingrediente farmacéutico activo	1,62
Alcohol (95% v/v)*	Potenciador de la absorción	73,5
Miristato de isopropilo	Potenciador de la absorción	1,00
Carbopol 980	Precursor de agente espesante	1,00
Hidróxido sódico 0,1 N	Neutralizador	7,00
Agua purificada	Disolvente	15,9

* Equivalente a aproximadamente 68,1% de alcohol absoluto en la formulación.

Sujetos: cincuenta y seis (56) hombres con hipogonadismo.

20 Criterio principal para la inclusión: sujetos varones de 18-75 años de edad, inclusive; testosterona total sérica < 300 ng/dl en el cribado como se mida por el laboratorio clínico del lugar; y sujetos con un índice de masa corporal (BMI) de 20-35 kg /m², inclusive.

Procedimientos y Evaluaciones

25 Administración de la dosis: el gel de testosterona al 1,62% se aplicó tópicamente una vez todos los días en la mañana en los días 1-14. El sitio de aplicación era o bien el área del hombro / brazo superior o el abdomen. El fármaco en estudio se aplicó en incrementos de 1,25 g hasta que se alcanzó la dosis total objetivo usando el área de superficie máxima posible.

Veinte (20) minutos antes de la hora específica de aplicación de la dosis, los sujetos se ducharon y se lavaron el lugar de aplicación con jabón y agua. No se les permitió permanecer en la ducha durante más de 10 minutos. El área designada para aplicación del gel se secó a fondo.

30 El personal del lugar directamente involucrado con los procedimientos de dosificación llevaba guantes mientras que manipulaba el gel del estudio. Se utilizó un par de guantes nuevos para cada sujeto. Cada dosis de gel incremental

de 1,25 g +/- 0,02 g se pesó en una hoja de papel de pesar en una balanza. Inmediatamente después de la medición de la cantidad apropiada de gel, el papel de pesar con la dosis de gel medida fue extendido directamente en el sitio de aplicación designado del sujeto por el personal del estudio. El sujeto entonces se frotó el producto en la piel del lugar de aplicación designado con la mano. Este proceso se repitió hasta que el objetivo de dosis total (1,25 g a 6,25 g) se alcanzó.

5

Muestreo farmacocinético: se obtuvieron muestras de sangre (10 ml cada una) de cada sujeto para la determinación de la testosterona total, dihidrotestosterona, y estradiol en los tiempos siguientes:

- Día -1: antes de la dosis, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, y 16 horas con respecto al tiempo proyectado de la aplicación de gel en los días siguientes del estudio;

10

- Día 1: antes de la dosis, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, y 16 horas después de la dosis;

- Días 2-13: antes de la dosis;

- Día 14: antes de la dosis, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, y 24 horas después de la dosis.

Bioanálisis: se determinaron las concentraciones séricas de testosterona total, dihidrotestosterona y estradiol utilizando metodología validada de LC-MS/MS.

15

Criterios de evaluación

Seguridad: signos vitales, ECG, reconocimiento médico, determinaciones de laboratorio clínico, (incluyendo la medición del PSA), DRE e IPSS, testosterona de seguridad y mediciones del hematocrito.

Farmacocinética: en este informe preliminar, se elaboraron los parámetros farmacocinéticos (AUC (0-24), C_{max} , C_{media} , C_{min} , fluctuación de pico a valle, T_{min} y T_{max}) derivados tanto de las concentraciones séricas de testosterona observadas como de las ajustadas por la línea de base.

20

Métodos estadísticos: se elaboró la estadística descriptiva (n, promedio, DE, CV, mediana, promedio geométrico, mínimo, máximo) y las representaciones gráficas.

Tabla 23: datos demográficos de los sujetos (promedio (intervalo))

Grupo de tratamiento	N	Edad (años)	BMI (kg/m ²)
A (1,25 g)	11	50 (27-69)	30,4 (25,6-33,6)
B (2,50 g)	11	50 (31-66)	31,0 (25,9-36,1)
C (3,75 g)	11	52 (38-65)	29,3 (21,8-35,3)
D (5,00 g)	12	55 (37-68)	29,6 (22,6-34,0)
E (6,25 g)	11	48 (27-68)	30,2 (27,3-32,7)
Todos los grupos	56	51 (27-69)	30,1 (21,8-36,1)

25

Tabla 24: etnicidad de los sujetos (N (%))

Grupo de tratamiento	N	Blancos no hispanicos o latinos	Blancos hispanicos o latinos	Negros	Asiaticos
A	11	5	5	0	1
B	11	5	6	0	0
C	11	5	5	1	0
D	12	5	7	0	0
E	11	2	9	0	0
Todos los grupos	56	22 (39,3%)	32 (57,1%)	1 (1,8%)	1 (1,8%)

Cribado de los valores de testosterona basales

5 Todos los sujetos en la evaluación tuvieron concentraciones de testosterona < 300 ng/dl, confirmando el estado hipo gonadal de todos los sujetos antes de la exposición al fármaco del estudio. El laboratorio clínico local utilizó metodología de quimioluminiscencia para estas evaluaciones. El promedio de cribado de concentraciones séricas totales de línea de base de testosterona varió desde 215 hasta 232 ng/dl para los cinco grupos individuales de dosis. La tabla 25 proporciona el promedio inicial de cribado (intervalo) por grupo de tratamiento.

Tabla 25: valores promedio de testosterona de línea de base en el cribado

Grupo de tratamiento	N	Promedio de testosterona de línea de base (ng/dl)	Intervalo
A	11	215	73-286
B	11	231	132-293
C	11	230	93-295
D	12	232	132-293
E	11	225	158-282
Todos	56	227	23-295

Datos de la concentración de testosterona frente al tiempo

10 El promedio de los perfiles de concentración - tiempo de testosterona observados en el día 1 y el día 14 se proporcionan en las figuras 10 y 11, respectivamente.

Haciendo referencia a la figura 10, en el día 1, se produjo un aumento continuo en las concentraciones de testosterona en todos los tratamientos durante aproximadamente 8 horas después de la dosis. Las concentraciones de testosterona después permanecieron consistentes durante el resto del intervalo de dosificación de 24 horas. Basado en los perfiles del promedio de concentración-tiempo, todos los tratamientos proporcionaron una exposición a la testosterona suficiente para aumentar las concentraciones por encima del límite inferior del intervalo eugonadal (> 300 ng/dl) después de una dosis única en el día 1.

15 Se observaron concentraciones de testosterona consistentes a lo largo de la mayoría de los perfiles de concentración-tiempo de 24 horas después de la dosificación múltiple con gel de testosterona al 1,62%. La excepción a esto fue el tratamiento D, de 5,00 g, en donde se observó un pico significativo a las 6 horas después de la dosis. Este incremento en el perfil medio fue debido a los resultados en un sujeto que había reportado una concentración de testosterona de 4980 ng/dl a las 6 horas después de la dosis.

20 Haciendo referencia ahora a la figura 11, los perfiles de promedios en el día 14 demostraron que las concentraciones de testosterona se mantuvieron por encima del límite inferior del intervalo eugonadal (> 300 ng/dl) en el intervalo de dosis de 24 horas para las cinco dosis. Se observó un aumento en la exposición a la testosterona con el aumento de la dosis en el intervalo de 1,25 g a 6,25 g, con la excepción del pico segundo del perfil en el tratamiento D, 5,00 g.

Resultados farmacocinéticos de la testosterona

30 Los resultados farmacocinéticos de la testosterona observada y la testosterona ajustada por la línea de base se proporcionan en la tabla 26 a continuación después de que los sujetos recibieran una dosis única de gel de testosterona al 1,62% en el día 1.

Tabla 26: parámetros farmacocinéticos de dosis única para el gel de testosterona al 1,62% en el día 1

Parámetro	Grupo de tratamiento	Dosis de gel (g)	Dosis de testosterona (mg)	Promedio aritmético (DE)			
				N	Observado	N	Ajustado por línea de base
AUC(0-24) (ng*h/dl)	A	1,25	20,3	11	7376 (1465)	11	1934 (1005)
	B	2,50	40,5	11	9112 (3354)	9	3168 (1845)

ES 2 693 745 T3

	C	3,75	60,8	11	8719 (2831)	10	3330 (1875)
	D	5,00	81	12	11933 (3188)	12	5329 (3296)
	E	6,25	101,3	11	11137 (3024)	11	5573 (2602)
C_{media} (ng/dl)	A	1,25	20,3	11	307 (61)	11	81 (42)
	B	2,50	40,5	11	380 (140)	9	132 (77)
	C	3,75	60,8	11	363 (118)	10	139 (78)
	D	5,00	81	12	497 (133)	12	222 (137)
	E	6,25	101,3	11	464 (265)	11	232 (108)
C_{max} (ng/dl)	A	1,25	20,3	11	387 (80)	11	159 (57)
	B	2,50	40,5	11	479 (161)	9	234 (102)
	C	3,75	60,8	11	533 (211)	10	305 (178)
	D	5,00	81	12	698 (231)	12	424 (200)
	E	6,25	101,3	11	657 (215)	11	424 (210)
$T_{max}[a]$ (h)	A	1,25	20,3	11	12 (4-24)	11	12 (4-24)
	B	2,50	40,5	11	12 (4-24)	9	16 (8-24)
	C	3,75	60,8	11	16 (8-24)	10	16 (8-24)
	D	5,00	81	12	12 (2-24)	12	12 (6-24)
	E	6,25	101,3	11	12 (8-24)	11	12 (8-24)

[a] mediana (intervalo)

5 El promedio de C_{media} observado en el día 1 estuvo en el intervalo eugonadal de 300 -1000 ng/dl en todos los niveles de dosis. Los promedios de AUC y C_{media} generalmente aumentaron en el intervalo de dosis de 1,25 g a 6,25 g, con valores similares para los tratamientos B y C, y los tratamientos D y E, respectivamente. El promedio de C_{max} aumentó con la dosis de 1,25 g a 5,00 g, luego se estabilizó. El promedio de T_{max} para todos los grupos, a excepción del de 5,00 g, fue de 12 horas y varió de 2 a 24 horas.

10 Los valores observados de C_{max} en el día 1 para 1,25 g, 2,50 g, y 3,75 g se mantuvieron por debajo del límite superior del intervalo eugonadal (< 1000 ng/dl). En el tratamiento D, 5,00 g, un sujeto tuvo un valor de C_{max} de 1070 ng/dl. En el tratamiento E, 6,25 g, un sujeto tuvo un valor de C_{max} de 1020 ng/dl. Todos los otros valores de C_{max} en el día 1 fueron <1000 ng/dl en los grupos de tratamiento D y E.

Los promedios de los valores de los parámetros AUC y C_{media} ajustados por la línea de base aumentaron con la dosis en los cinco niveles de tratamiento. El promedio de C_{media} ajustado por la línea de base significa que las concentraciones de testosterona endógenas aumentaron de 81 a 232 ng/dl en el intervalo de dosis de 1,25 g a 6,25 g después de administrar una dosis única de gel de testosterona al 1,62%.

15 Los resultados farmacocinéticos después de dosis múltiples de la testosterona observada y la testosterona ajustada por la línea de base se proporcionan en la tabla 27 a continuación para el gel de testosterona al 1,62% en el día 14.

Tabla 27: parámetros farmacocinéticos de dosis múltiple para el gel de testosterona al 1,62% en el día 14

ES 2 693 745 T3

Parámetro	Grupo de tratamiento	Dosis de gel (g)	Dosis de testosterona (mg)	Promedio aritmético (DE)			
				N	Observado	N	Ajustado por línea de base
AUC(0-24) (ng*h/dl)	A	1,25	20,3	11	7731 (2914)	9	3149 (2909)
	B	2,50	40,5	11	9232 (4146)	11	3174 (2628)
	C	3,75	60,8	11	11132 (2950)	11	5346 (3834)
	D	5,00	81	8	16115 (11345)	8	9646 (12002)
	E	6,25	101,3	10	15250 (4123)	10	10005 (4474)
C _{media} (ng/dl)	A	1,25	20,3	11	322 (121)	9	131 (121)
	B	2,50	40,5	11	385 (173)	11	132 (110)
	C	3,75	60,8	11	464 (123)	11	223 (160)
	D	5,00	81	8	671 (473)	8	402 (500)
	E	6,25	101,3	9	634 (182)	9	413 (197)
C _{max} (ng/dl)	A	1,25	20,3	11	464 (158)	9	293 (170)
	B	2,50	40,5	11	506 (195)	11	266 (119)
	C	3,75	60,8	11	750 (221)	11	523 (241)
	D	5,00	81	8	1422 (1450)	8	1145 (1466)
	E	6,25	101,3	10	1179 (520)	10	965 (527)
T _{max} [a] (h)	A	1,25	20,3	11	8 (0-16)	9	4 (0,5-16)
	B	2,50	40,5	11	4 (0-16)	11	8 (0,5-24)
	C	3,75	60,8	11	8 (1-12)	11	1 (1-12)
	D	5,00	81	8	1,5 (0,5-24)	8	1,5 (0,5-24)
	E	6,25	101,3	10	6 (0,5-24)	10	6 (0,5-24)
C _{min} (ng/dl)	A	1,25	20,3	11	209 (91)	9	46 (77)
	B	2,50	40,5	11	263 (138)	11	29 (70)
	C	3,75	60,8	11	310 (106)	11	89 (152)
	D	5,00	81	8	414 (184)	8	154 (203)
	E	6,25	101,3	10	351 (43)	10	102 (74)
Fluctuación	A	1,25	20,3	11	81 (20)	9	271 (166)
	B	2,50	40,5	11	66 (18)	11	262 (188)

ES 2 693 745 T3

C	3,75	60,8	11	97 (43)	11	252 (149)
D	5,00	81	8	129 (66)	8	355 (306)
E	6,25	101,3	9	117 (52)	9	201 (69)

[a] mediana (intervalo)

5 Los valores observados de los parámetros AUC, C_{med} y C_{max} aumentaron en el día 14 a través del intervalo de dosis de 1,25 g a 5,00 g, con una nivelación aparente con la dosis de 6,25 g. En el nivel de dosis de 5 g, un sujeto (N° 25791) en el día 14 tenía valores de C_{max} y C_{media} de 4980 ng/dl y 1801 ng/dl, respectivamente. Estos valores fueron aproximadamente 4 veces más altos que los de los otros sujetos en este mismo grupo de tratamiento. La causa de las concentraciones elevadas en este sujeto es desconocida. Cuando los valores de este sujeto se retiran de la media del grupo presentado en la tabla anterior, los parámetros farmacocinéticos para el grupo de dosis 5,00 g se reducen de 1422, a 914 ng/dl para C_{max} y 671 a 510 ng/dl para C_{media} , respectivamente. Usando estos valores medios revisados, se observa una tendencia de valores de C_{media} y C_{max} a aumentar en el rango de dosis entero de 1,25 g a 6,25 g.

10 El promedio de los valores de C_{min} observados se mantuvo por encima del límite inferior del intervalo eugonadal (> 300 ng/dl) con dosis múltiples en los niveles de dosis de 3,75 g, 5,00 g, y 6,25 g. El promedio de los valores de C_{media} observados para todos los niveles de dosis varió desde 322 hasta 671 ng/dl y estuvo en el intervalo de testosterona eugonadal de 300 a 1000 ng/dl.

15 Los valores de C_{max} observados el día 14 para el nivel de dosis de 1,25 g se mantuvieron por debajo del límite superior del intervalo eugonadal (<1000 ng/dl). En los demás grupos de dosis, un total de 12 sujetos tuvieron valores observados de C_{max} superiores a 1000ng/dl. En el nivel de dosis de 2,50, un sujeto tuvo un valor de C_{max} de 1010 ng/dl. Al nivel de dosis de 3,75, un sujeto tuvo un valor de C_{max} de 1070 ng/dl. En el nivel de dosis de 5,00 g, cuatro sujetos tuvieron valores de C_{max} > 1000 ng/dl que fueron desde 1050 hasta 4980 ng/dl. En el nivel de dosis de 6,25, seis sujetos tuvieron valores de C_{max} > 1000 ng/dl que fueron desde 1110 hasta 2080 ng/dl. Estas observaciones se basan en los resultados bioanalíticos del ensayo LC-MS/MS. Estos valores no se identificaron durante la prueba de seguridad antes de la dosis de testosterona que se llevó a cabo en el centro clínico.

20 El promedio de los valores de C_{media} ajustados por la línea de base aumentó con la dosis en todo el intervalo de dosis. El promedio de C_{media} ajustado por la línea de base indica que las concentraciones de testosterona endógena aumentaron de 131 a 413 ng/dl en el intervalo de 1,25 a 6,25 g de dosis después de catorce días de la administración de múltiples dosis de gel de testosterona al 1,62%.

Conclusiones

30 Basados en la revisión preliminar de datos de eventos adversos, seguridad de la testosterona y medidas de hematocrito de laboratorio, y evaluación del lugar de aplicación, el gel de testosterona al 1,62% fue seguro y bien tolerado a niveles de dosis que oscilaron desde 1,25 hasta 6,25 g de gel (20,3 a 101,1 mg de testosterona). Tras la administración de dosis únicas y múltiples de gel de testosterona al 1,62% a niveles de dosis que van de 1,25 g a 6,25 g (20,3 a 101,1 mg de testosterona), se obtienen C_{media} valores promedio en el intervalo eugonadal de 300 -1000 ng/dl.

35 En los niveles más altos de dosis de 5,00 g y 6,25 g (81,0 y 101,3 mg de testosterona, respectivamente) se observó una mayor incidencia de valores de C_{max} que excedían el límite superior de la normalidad para los hombres eugonadales. Control apropiado en la Fase 3 de desarrollo clínico está indicado.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de gel de testosterona que comprende:
- i. de 1,50 a 1,70 % (p/p) de testosterona;
 - ii. de 0,6 a 1,2 % (p/p) de miristato de isopropilo;
 - 5 iii. de 60 a 80 % (p/p) de un alcohol seleccionado del grupo que consiste en etanol e isopropanol;
 - iv. una cantidad suficiente de un agente espesante para proporcionar a la composición una viscosidad superior a 9000 cps; y
 - v. agua;
- para su uso en el tratamiento del hipogonadismo en un sujeto por administración percutánea.
- 10
2. La formulación de gel de testosterona para el uso según la reivindicación 1, en donde dicha formulación comprende:
- i. de 1,50 % a 1,70 % (p/p) de testosterona;
 - ii. de 0,6 % a 1,2 % (p/p) de miristato de isopropilo;
 - iii. de 67 % a 74 % (p/p) de un alcohol seleccionado del grupo que consiste en etanol e isopropanol;
 - 15 iv. una cantidad suficiente de un agente espesante para proporcionar a la composición una viscosidad superior a 9000 cps; y
 - v. agua.
- 20
3. La formulación de gel de testosterona para el uso según la reivindicación 1 ó 2, donde la composición se puede obtener combinando:
- i. 1,62 % (p/p) de testosterona;
 - ii. 1,00 % (p/p) de miristato de isopropilo;
 - iii. 73,5 % (p/p) de alcohol (95% v/v)*
 - iv. 1,00 % (p/p) de carbopol® 980;
 - 25 v. 7,00 % (p/p) de hidróxido sódico 0,1 N; y
 - vi. 15,9% (p/p) de agua purificada
- *equivalente a aproximadamente 68,1% de alcohol absoluto en la formulación.
- 30
4. La formulación de gel de testosterona para el uso según la reivindicación 1 ó 2, donde la composición comprende aproximadamente 1,62 % (p/p) de testosterona.
5. La formulación de gel de testosterona para el uso según la reivindicación 1 ó 2, donde el agente espesante es un carbómero neutralizado.
- 35
6. La formulación de gel de testosterona para el uso según la reivindicación 1 ó 2, donde la composición tiene una viscosidad de 13.000 cps a 33.000 cps.
7. La formulación de gel de testosterona para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el sujeto tiene una concentración de testosterona en el suero antes del tratamiento inferior a 300 ng/dl.

8. La formulación de gel de testosterona para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde una dosis terapéuticamente eficaz de la composición se administra una, dos o tres veces al día durante al menos aproximadamente 7 días.

5

9. Un método para obtener una formulación de gel de testosterona combinando:

i. 1,62 % (p/p) de testosterona;

ii. 1,00 % (p/p) de miristato de isopropilo;

iii. 73,5 % (p/p) de alcohol (95% v/v)*

10 iv. 1,00 % (p/p) carbopol® 980;

v. 7,00 % (p/p) de hidróxido sódico 0,1 N; y

vi. 15,9% (p/p) de agua purificada

*equivalente a aproximadamente 68,1% de alcohol absoluto en la formulación.

Gráfico de Pareto estandarizado para la viscosidad

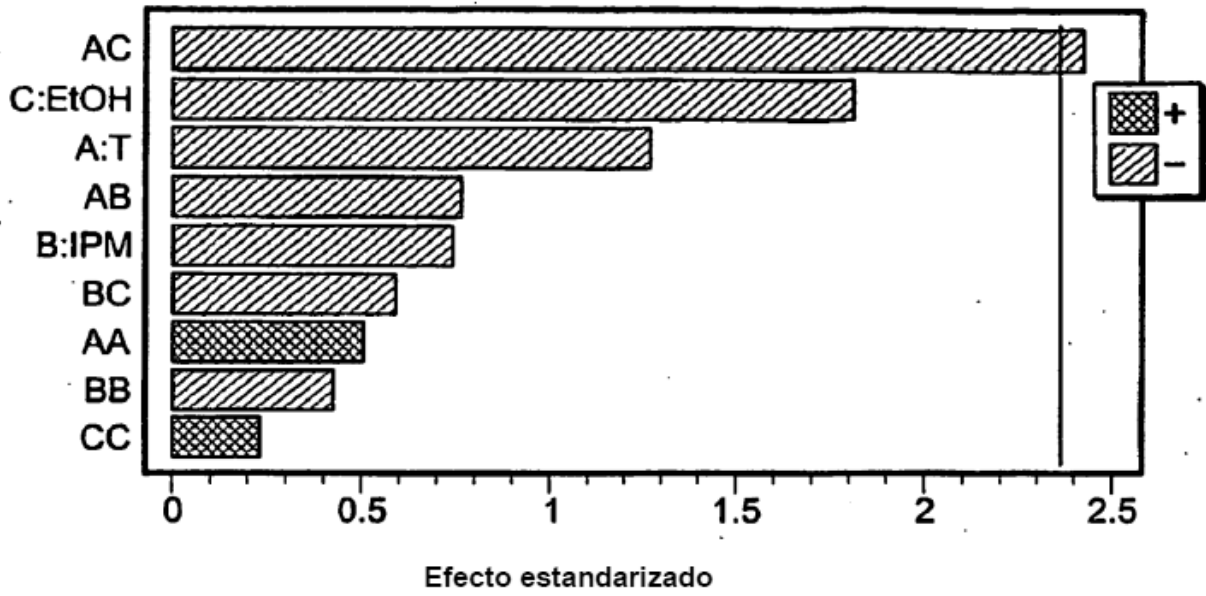


FIG. 1

Gráfico de Pareto estandarizado para la relación %LP

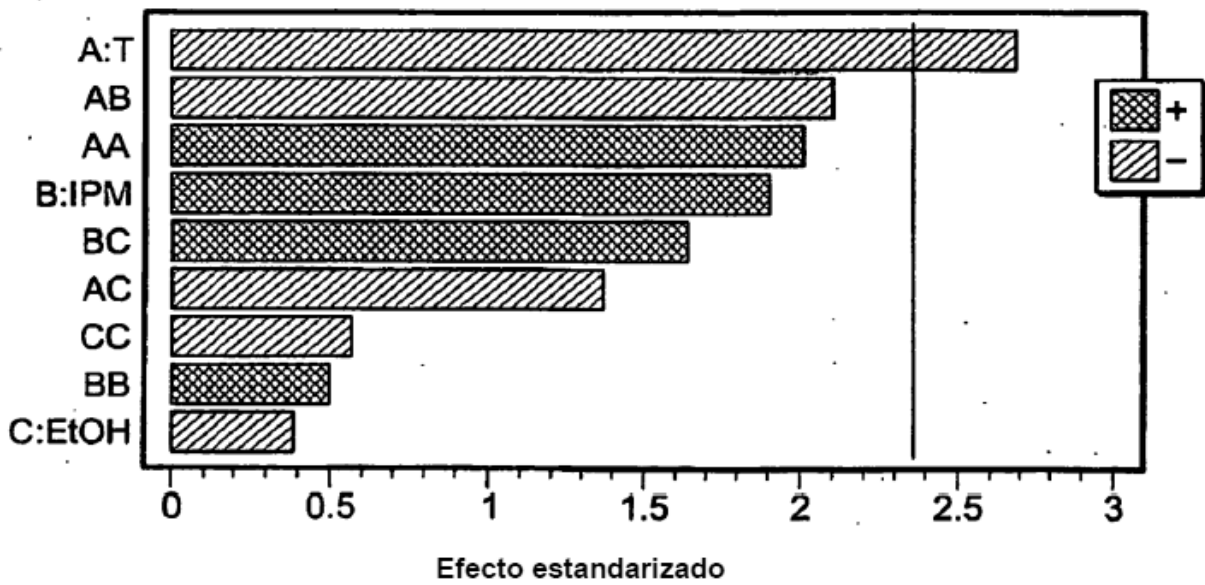


FIG. 2

Gráfico de Pareto estandarizado para la relación CAR

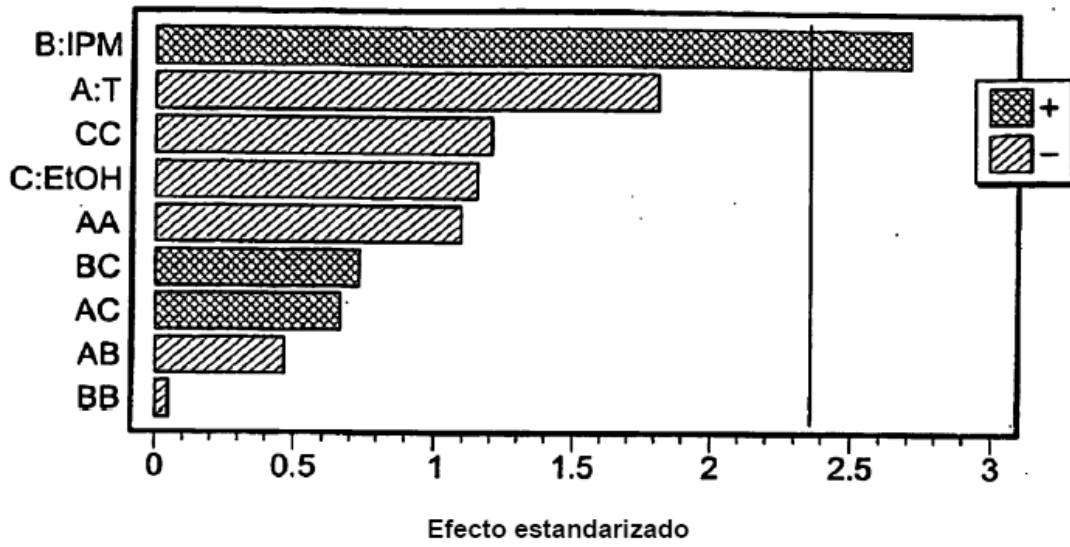


FIG. 3

Respuesta estimada de superficie

EtOH=74.3

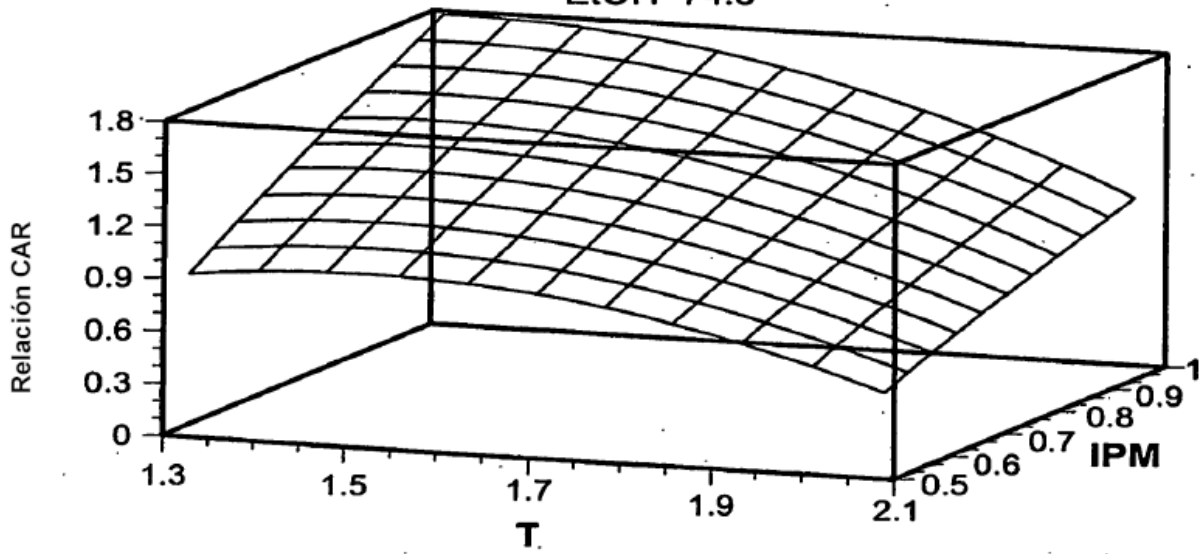


FIG. 4

Contorno de superficie de la respuesta estimada

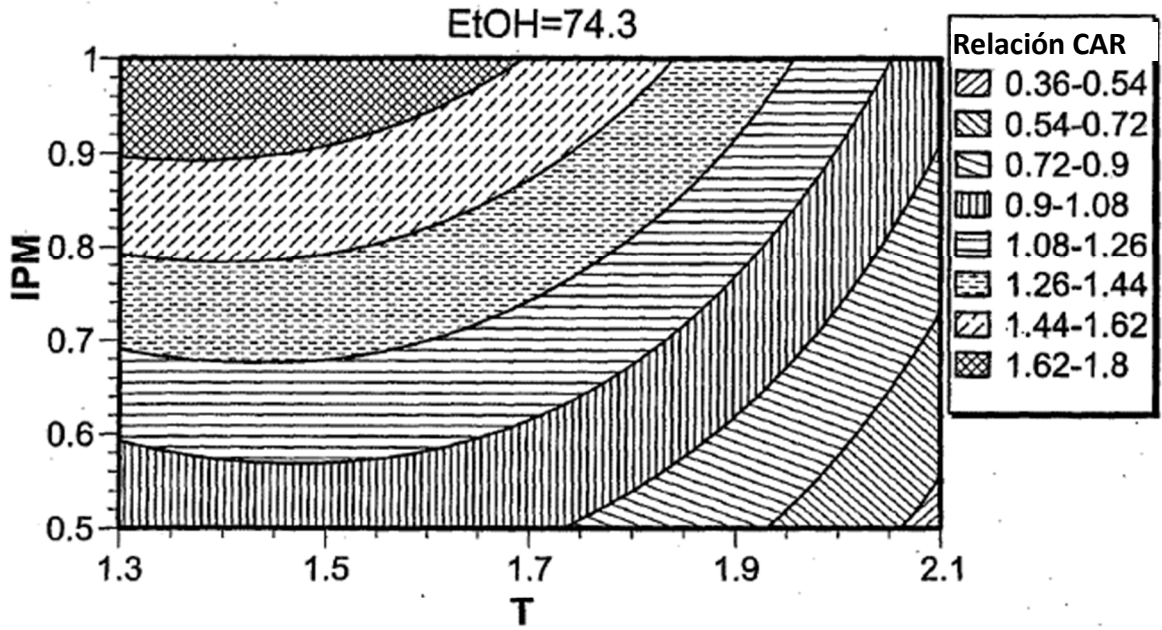


FIG. 5

Permeación de testosterona de formulaciones de control y de prueba

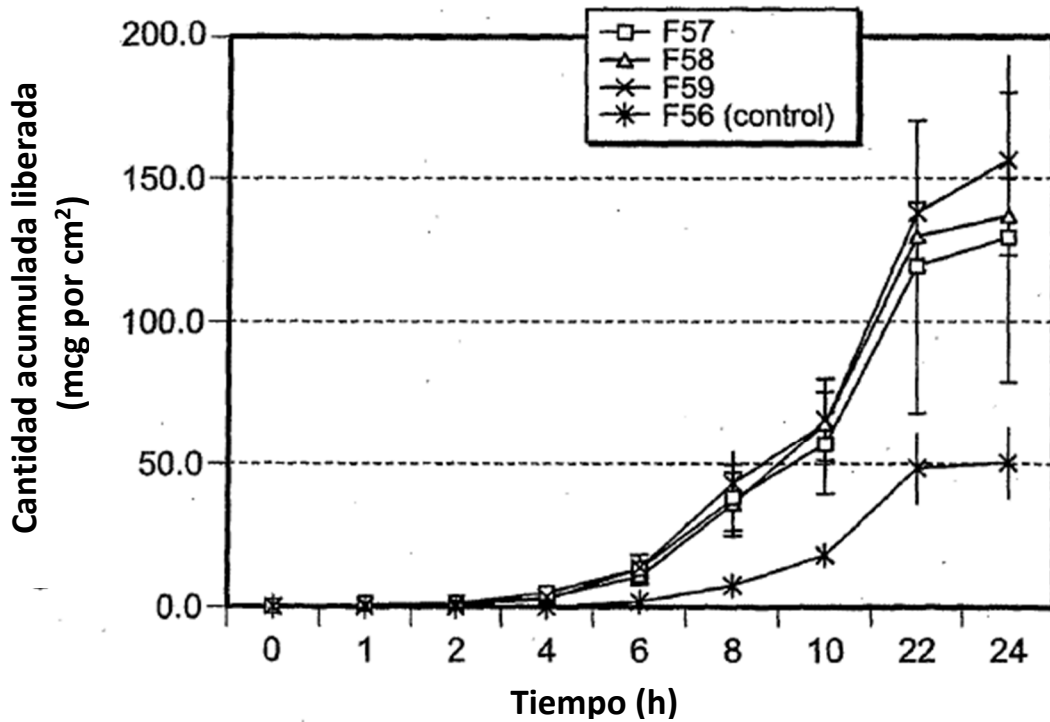


FIG. 6

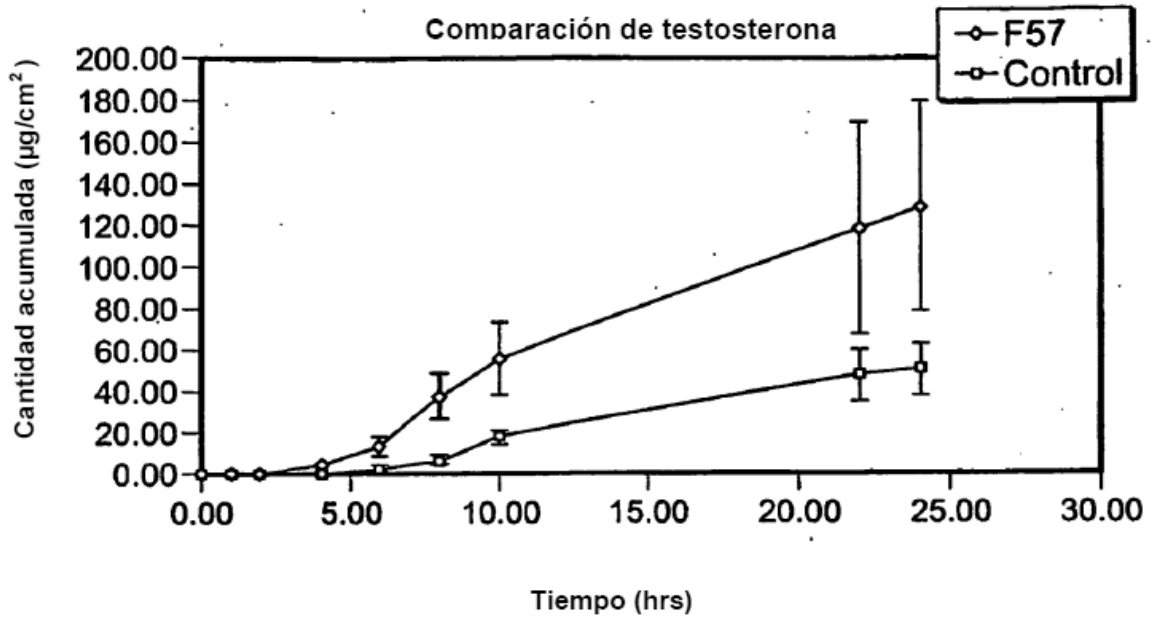


FIG. 7

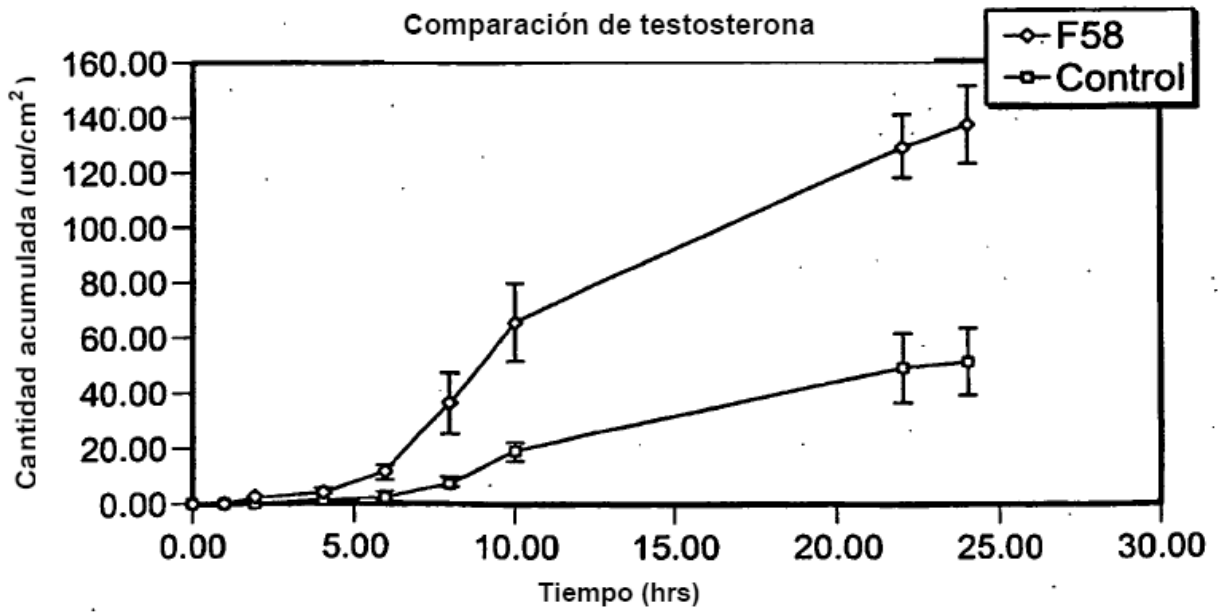


FIG. 8

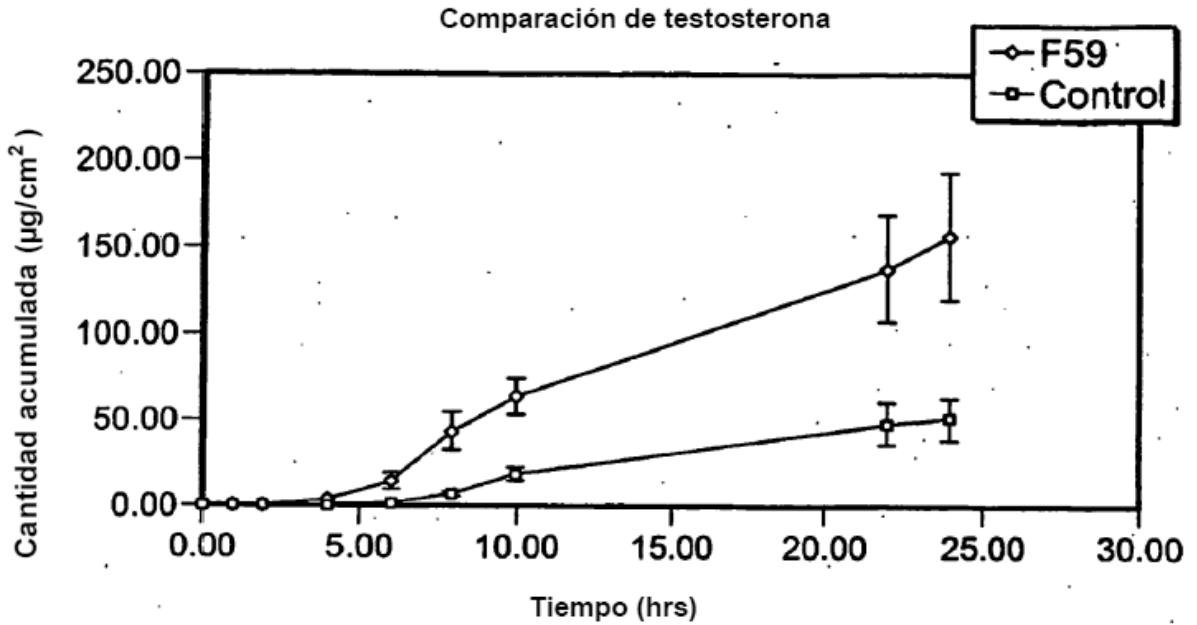


FIG. 9

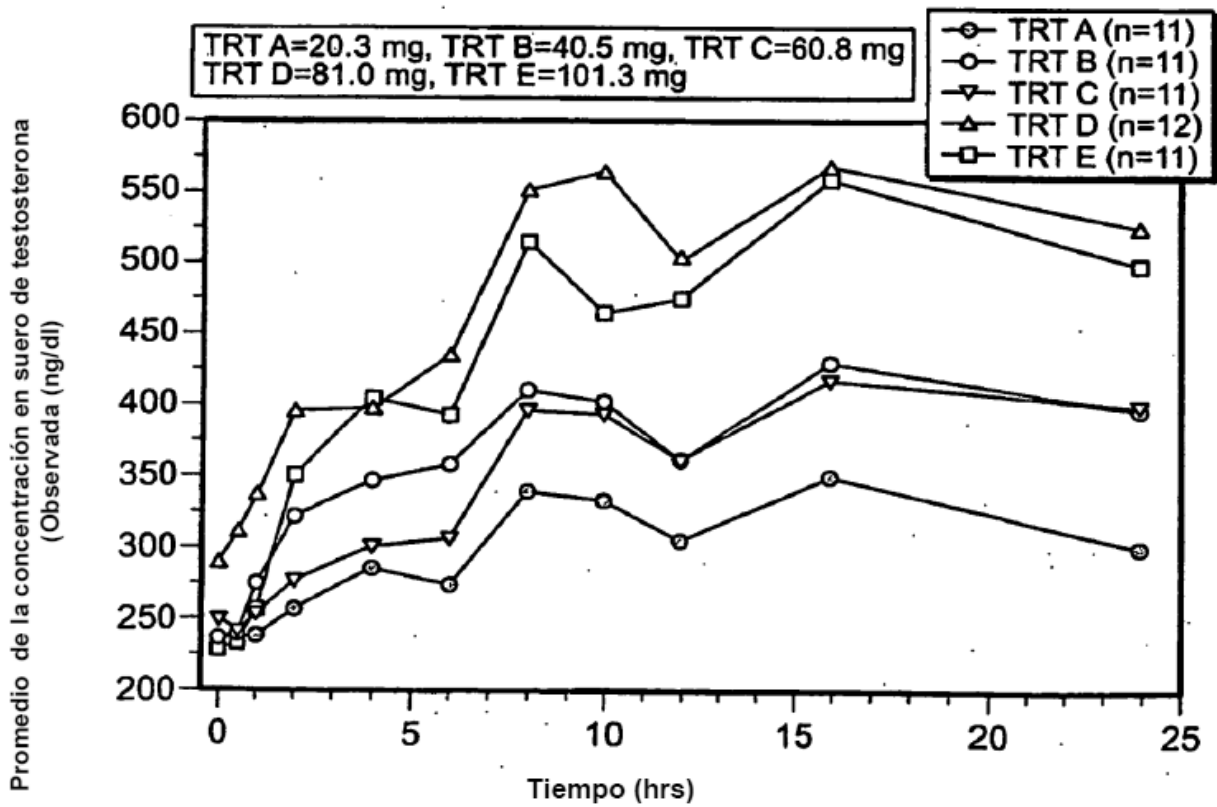
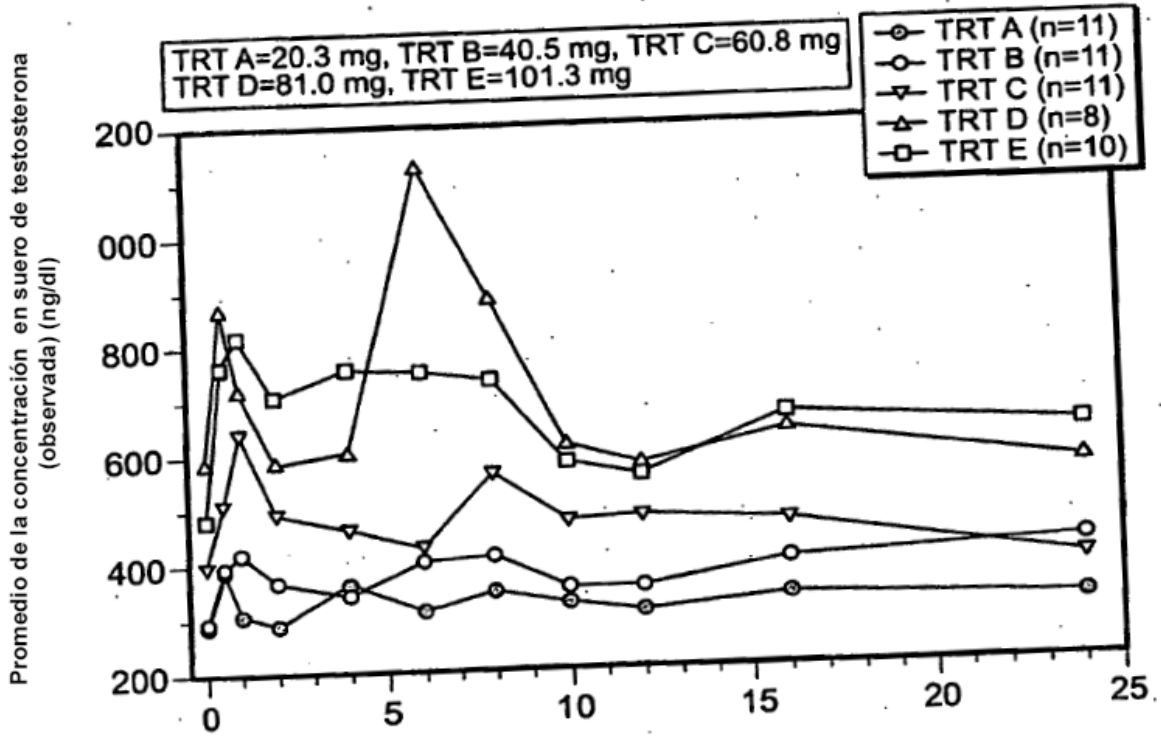


FIG. 10



Tiempo (hrs)

FIG. 11