



УКРАЇНА

(19) UA (11) 96124 (13) C2

(51) МПК (2011.01)
A61K 31/4706 (2006.01)
A61P 17/00
A61P 37/00
A61P 35/00ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ПІННИЙ СКЛАД, ЯКИЙ ВКЛЮЧАЄ ІМІКВІМОД

1

2

(21) а200708131

(22) 17.07.2007

(24) 10.10.2011

(31) 60/807,669

(32) 18.07.2006

(33) US

(46) 10.10.2011, Бюл.№ 19, 2011 р.

(72) ДЖЕНЕТ А. ВАЛЬЄХО, US/US, СЮЗАННЕ С.
ЛЮНГ, US/US, ПАТРІК ДЖ. РОДДІ, US/US, ТЕРРІ
Ф. БУШ, US/US

(73) МЕДА АБ, SE

(56) WO 2005/020995 A, 10.03.2005

US 2005/0175630 A1, 11.08.2005

US 2005/0201959 A1, 15.09.2005

US 2003/0026794 A1, 06.02.2003

(57) 1. Фармацевтичний пінний склад, який включає іміквімод у кількості 2 % або 3 % мас. відносно загальної маси складу, сорбітанмоностеарат у кількості від принаймні 1,0 % мас. до максимальної кількості 3,5 % мас., ізостеаринову кислоту у кількості від принаймні 10 % мас. до максимальної кількості 15 % мас., систему консерванту, вибрану з групи, яка складається з бензилового спирту, метилпарабену та пропілпарабену або їх сумішей у кількості від 0,01 % до 3% мас. від загальної маси складу, 15 % пропеленту, вибраного з групи, яка складається з пропану, бутану, ізобутану або їх сумішей.

2. Склад за п. 1, який додатково включає воду.

3. Склад за п. 1 або п. 2, який додатково включає підсилувач в'язкості, вибраний з групи, яка складається з цетилового спирту, стеарилового спирту, ксантанової смоли або їх сумішей у кількості від 0,1 % мас. до 10 % мас. від загальної маси складу.

4. Склад за будь-яким з пп. 1-3, який додатково включає пом'якшувач, вибраний із групи, що складається із цетилового спирту, стеарилового спирту, білого вазеліну або їх сумішей у кількості від принаймні 3,0 % мас. до максимальної кількості 10,0 % мас.

5. Склад за будь-яким з пп. 1-4, який додатково включає гліцерин.

6. Склад за будь-яким з пп. 1-5, який **відрізняється** тим, що склад являє собою емульсію типу "масло у воді".

7. Упакований склад, що включає склад за будь-яким з пп. 1-6, поміщений в аерозольний балон.

8. Упакований склад за п. 7, який **відрізняється** тим, що аерозольний балон обладнаний дозуючим клапаном.9. Упакований склад за п. 7, який **відрізняється** тим, що аерозольний балон обладнаний клапаном безперервного потоку.10. Склад за будь-яким з пп. 1-9 для застосування в приготуванні лікарського засобу для лікування старечого кератозу, який **відрізняється** тим, що склад наносять на шкіру суб'єкта.11. Склад за будь-яким з пп. 1-9 для застосування в приготуванні лікарського засобу для лікування базально клітинної карциноми, який **відрізняється** тим, що склад наносять на шкіру суб'єкта.12. Склад за будь-яким з пп. 1-9 для застосування в приготуванні лікарського засобу для лікування аногенітальних бородавок, який **відрізняється** тим, що склад наносять на шкіру або поверхню слизової оболонки суб'єкта.13. Склад за будь-яким з пп. 1-9 для застосування в приготуванні лікарського засобу для лікування фотоушкодженої шкіри або поліпшення характеристик шкіри, який **відрізняється** тим, що склад наносять на шкіру або поверхню слизової оболонки суб'єкта.14. Склад за будь-яким з пп. 1-9 для застосування в приготуванні лікарського засобу для лікування цервікальної дисплазії, який **відрізняється** тим, що склад наносять на шкіру або поверхню слизової оболонки суб'єкта.15. Склад за будь-яким з пп. 1-9 для застосування в приготуванні лікарського засобу для лікування вірусних захворювань, особливо герпесу, який **відрізняється** тим, що склад наносять на шкіру або поверхню слизової оболонки суб'єкта.16. Склад за будь-яким з пп. 1-9 для застосування в приготуванні лікарського засобу для видалення татуювань, який **відрізняється** тим, що склад на-

(13) C2

(11) 96124

(19) UA

носять на шкіру або поверхню слизової оболонки суб'єкта.

17. Склад за будь-яким з пп. 1-9 для застосування в приготуванні лікарського засобу для лікування шкірних метастазів, який **відрізняється** тим, що склад наносять на шкіру або поверхню слизової оболонки суб'єкта.

18. Склад за будь-яким з пп. 1-9 для застосування в приготуванні лікарського засобу для лікування шкірних ушкоджень, викликаних укусом, який **відрізняється** тим, що склад наносять на шкіру або поверхню слизової оболонки суб'єкта.

19. Склад за будь-яким з пп. 1-9 для застосування в приготуванні лікарського засобу для лікування кератоакантоми, який **відрізняється** тим, що склад наносять на шкіру або поверхню слизової оболонки суб'єкта.

20. Склад за будь-яким з пп. 1-9 для застосування в приготуванні лікарського засобу для індукції біосинтезу інтерферону, який **відрізняється** тим, що склад наносять на шкіру або поверхню слизової оболонки суб'єкта.

В останні роки прикладали значних зусиль для відкриття нових ліків, які діють за допомогою стимуляції деяких ключових властивостей імунної системи, а також за допомогою подавлення деяких інших властивостей (дивися, наприклад, U.S. Patent № 6,039,969 і 6,200,592). Ці сполуки, які іноді називають модифікаторами імунної відповіді (IRM), ймовірно, діють через основні механізми імунної системи, відомі як toll-подібні рецептори, індуючи біосинтез деяких цитокінів, і можуть використовуватися для лікування широкого спектра захворювань і станів. Наприклад, деякі модулятори імунної відповіді можуть застосовуватися для лікування вірусних захворювань (наприклад вірусу папіломи людини, вірусу гепатиту, вірусу герпесу), неоплазій (наприклад базаліоми, плоскоклітинного раку, старечого кератозу) і $\text{TNF-}\alpha$ опосередкованих захворювань (наприклад астми, алергійних ринітів, атонічного дерматиту), а також можуть використовуватися як допоміжні лікарські компоненти у вакцинах. На відміну від багатьох загальноприйнятих антивірусних і протипухлинних сполук, первинний механізм дії модуляторів імунної відповіді не є прямим, а полягає в стимуляції імунної системи для розпізнавання та прийняття відповідних заходів проти патогену.

Багато з IRM-сполук являють собою похідні імідазохінолінаміну (дивися, наприклад, U.S. Pat. № 4,689,338), але відомо також кілька інших класів сполук (дивися, наприклад, U.S. Pat. № 5,446,153; 6,194,425; і 6,110,929).

Фармацевтичні композиції, що містять IRM-сполуки, описані в U.S. Patent №. 5,238,944; 5,939,090 і 6,425,776; European Patent 0 394 026; і U.S. Patent Publication 2003/0199538. IRM-Сполука 1-(2-метилпропіл)-1H-імідазо[4,5-с]хінолін-4-амін, також відома як іміквімод, було запущено у виробництво в складі для зовнішнього застосування, ALDARA, для лікування старечого кератозу, базаліоми або аногенітальних бородавок, пов'язаних з вірусом папіломи людини.

IRM-Сполука 2-метил-1-(2-метилпропіл)-1H-імідазо[4,5-с][1,5]нафтиридин-4-амін, також відома як сотириімод, була описана в EP 1 512 685 для лікування вірусних інфекцій і індукції біосинтезу цитокінів.

Резиквімод (4-аміно- α,α -диметил-2-етоксиметил-1H-імідазо[4,5-с]хінолін-1-етанол), як описано в EP 582 581, є ще одним членом імідазо-

хінолінового сімейства модифікаторів імунної відповіді.

Однак, терапевтичним впливам при зовнішньому застосуванні IRM-сполук для лікування деяких станів у певних місцях або певних тканинах можуть перешкодити різні фактори, такі як, наприклад, хімічна деградація IRM-сполук і/або інших інгредієнтів і фізична нестабільність композиції (наприклад, розділення компонентів, згущування, випадання в осад або агломерація активних часток, тощо).

Тому існує необхідність постійної розробки нових і/або поліпшених складів на основі IRM.

Установлено, що іміквімод, сотириімод або резиквімод можуть бути приготовлені у вигляді фармацевтичних пінних складів.

Відповідно, даний винахід описує фармацевтичний пінний склад. У цілому, склад містить терапевтично ефективну кількість іміквімоду, сотириімоду або резиквімоду та жирну кислоту.

В іншому аспекті, даний винахід також описує спосіб лікування старечого кератозу. У цілому, спосіб включає нанесення складу, що містить терапевтично ефективну кількість іміквімоду, сотириімоду або резиквімоду та жирну кислоту на шкіру суб'єкта, що потребує такого лікування.

В іншому аспекті, дійсний винахід також описує спосіб лікування базаліоми. У цілому, спосіб включає нанесення складу, що містить терапевтично ефективну кількість іміквімоду, сотириімоду або резиквімоду та жирну кислоту на шкіру суб'єкта, що потребує такого лікування.

В іншому аспекті, даний винахід також описує спосіб лікування аногенітальних бородавок. У цілому, спосіб включає нанесення складу, що містить терапевтично ефективну кількість іміквімоду, сотириімоду або резиквімоду та жирну кислоту на шкіру суб'єкта, що потребує такого лікування.

В іншому аспекті, даний винахід також описує спосіб лікування цервікальної дисплазії. У цілому, спосіб включає нанесення складу, що містить терапевтично ефективну кількість іміквімоду, сотириімоду або резиквімоду та жирну кислоту на шкіру суб'єкта, що потребує такого лікування.

В іншому аспекті, даний винахід також описує спосіб лікування цервікальної дисплазії. У цілому, спосіб включає нанесення складу, що містить терапевтично ефективну кількість іміквімоду, соти-

римо́ду або резикві́моду та жирну кислоту на шкіру суб'єкта, що потребує такого лікування.

В іншому аспекті, даний винахід також описує спосіб лікування вірусних захворювань, особливо герпесу. У цілому, спосіб включає нанесення складу, що містить терапевтично ефективну кількість іміквімоду, сотири́моду або резикві́моду та жирну кислоту на шкіру суб'єкта, що потребує такого лікування.

В іншому аспекті, даний винахід також описує спосіб видалення татуювань. У цілому, спосіб включає нанесення складу, що містить терапевтично ефективну кількість іміквімоду, сотири́моду або резикві́моду та жирну кислоту на шкіру суб'єкта, що потребує такого лікування.

В іншому аспекті, даний винахід також описує спосіб лікування шкірних метастазів. У цілому, спосіб включає нанесення складу, що містить терапевтично ефективну кількість іміквімоду, сотири́моду або резикві́моду та жирну кислоту на шкіру суб'єкта, що потребує такого лікування.

В іншому аспекті, даний винахід також описує спосіб лікування шкірних ушкоджень, викликаних укусами. У цілому, спосіб включає нанесення складу, що містить терапевтично ефективну кількість іміквімоду, сотири́моду або резикві́моду та жирну кислоту на шкіру суб'єкта, що потребує такого лікування.

В іншому аспекті, даний винахід також описує спосіб лікування кератоакантоми. У цілому, спосіб включає нанесення складу, що містить терапевтично ефективну кількість іміквімоду, сотири́моду або резикві́моду та жирну кислоту на шкіру суб'єкта, що потребує такого лікування.

В іншому аспекті, даний винахід також описує спосіб індукції біосинтезу інтерферону. У цілому, спосіб включає нанесення складу, що містить терапевтично ефективну кількість іміквімоду, сотири́моду або резикві́моду та жирну кислоту на шкіру суб'єкта, що потребує біосинтезу інтерферону.

Інші характеристики та переваги даного винаходу стануть зрозумілими з докладного опису, приведенного далі, прикладів, формули винаходу та прикладених фігур. У деяких місцях за текстом опису винаходу, пояснення викладаються за допомогою списків прикладів. У кожному випадку наведений список є лише репрезентативною групою і не повинен інтерпретуватися як вичерпний список.

Детальний опис ілюстративних прикладів даного винаходу

Установлено, що імікві́мод, сотири́мод або резикві́мод можуть застосовуватися в складах у вигляді пін на основі емульсії. У цілому, пінний склад включає терапевтично ефективну кількість імікві́моду, сотири́моду або резикві́моду та жирну кислоту.

У даному тексті терміни «будь-який», «певний», «щонайменше, один» і «один або більше» використовуються взаємозамінно. Так, наприклад, склад, що включає «будь-яку» жирну кислоту, може бути інтерпретований у тому розумінні, що склад включає щонайменше одну жирну кислоту.

Також у даному тексті, перерахування числових інтервалів в межах крайніх точок включає всі

числа обмежені цим інтервалом (наприклад «від 1 до 5» включає 1; 1,5; 2; 2,75; 3; 3,80; 4; 5 і так далі).

Якщо не зазначене інше, згадування будь-якої сполуки може включати цю сполуку в будь-якій фармацевтично прийнятній формі, включаючи будь-який ізомер (наприклад діастереомер або енантіомер), сіль, сольват, поліморф і їм подібні. Зокрема, якщо сполука оптично активна, згадування цієї сполуки може включати будь-які з енантіомерів цієї сполуки, а також рацемічні й збагачені суміші її енантіомерів.

Склад включає імідазохіноліна́мін 1-(2-метилпропіл)-1Н-імідазо[4,5-с]хінолі́н-4-амі́н, що також відомий як імікві́мод, синтез якого описаний, наприклад, в U.S. Patent № 4,689,338, Приклад 99; або склад включає імідазоафтири́дин 2-метил-1-(2-метилпропіл)-1Н-імідазо[4,5-с][1,5]нафтири́дин-4-амі́н, що також відомий як сотири́мод, синтез якого описаний, наприклад, в WO 2006/074046; або склад включає імідазохінолі́н 4-аміно- α,α -диметил-2-етоксиметил-1Н-імідазо[4,5-с]хінолі́н-1-етано́л, що також відомий як резикві́мод, синтез якого описаний, наприклад, в EP 582 581.

Кількість імікві́моду, сотири́моду або резикві́моду в композиції за даним винаходом являє собою кількість, ефективну для лікування, запобігання повторення або для активізації імунітету до цільового хворобливого стану або для поліпшення характеристик шкіри. Загальна кількість імікві́моду може становити щонайменше 0,1 мас. %, але не більше 9 мас. %. У деяких аспектах, загальна кількість імікві́моду може бути щонайменше 0,5 мас. %, але не більше 9 мас. %, в розрахунку на загальну вагу композиції (якщо не зазначене інше, всі процентні співвідношення в даному тексті являють собою мас./мас. відносно загальної маси композиції), хоча в деяких варіантах композиція може містити імікві́мод у кількостях, що виходять за межі цього інтервалу. Наприклад, композиція може містити імікві́мод у концентрації 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 % або 9 %.

Загальна кількість сотири́моду або резикві́моду може становити щонайменше 0,001 мас. %, але не більше 9 мас. %. У деяких аспектах загальна кількість сотири́моду або резикві́моду може становити щонайменше 0,1 мас. %, але не більше 9 мас. %, переважно щонайменше 0,5 мас. %, але не більше 9 мас. % в розрахунку на загальну вагу композиції (якщо не зазначене інше, всі процентні співвідношення в даному тексті являють собою мас./мас. відносно загальної маси композиції), хоча в деяких варіантах здійснення композиція може містити сотири́мод або резикві́мод у кількостях, що виходять за межі цього інтервалу. Наприклад, композиція може містити сотири́мод або резикві́мод у концентрації 0,001 %, 0,01 %, 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 % або 9 %.

Пінні композиції за даним винаходом можуть включати один або більше додаткових наповнювачів, таких як, наприклад, жирна кислота, консервант, згущувач, емульгатор, розчинник, пом'якшувача речовина або зволожувач.

Склади за даним винаходом включають щонайменше одну жирну кислоту. У даному контексті термін «жирна кислота» означає карбонову кисло-

ту, насичену або ненасичену, що має від 6 до 28 атомів вуглецю, наприклад від 10 до 22 атомів вуглецю. Жирні кислоти, що підходять для використання в описаних тут складах, включають такі, які можуть сприяти розчиненню іміквімоду, сотириімоду або резиквімоду. Підходящі жирні кислоти включають, наприклад, ізостеаринову кислоту, олеїнову кислоту, міристинову кислоту, пальмітинову кислоту, пальмітолеїнову кислоту, гептадеканову кислоту, стеаринову кислоту, лінолеву кислоту, ліноленову кислоту або їх суміші. У деяких варіантах здійснення, склад містить, наприклад, ізостеаринову кислоту, олеїнову кислоту або їхню суміш. В одному окремому варіанті здійснення, склад містить ізостеаринову кислоту.

Жирна кислота присутня в складі в кількості, достатньому для розчинення - іміквімоду, сотириімоду або резиквімоду. У деяких варіантах здійснення, загальна кількість жирної кислоти становить щонайменше 0,05 мас. %, щонайменше 1 мас. %, щонайменше 3 мас. %, щонайменше 5 мас. %, щонайменше 10 мас. %, щонайменше 15 мас. % або щонайменше 25 мас. %, відносно загальної маси складу. У деяких варіантах здійснення, загальна кількість жирної кислоти становить максимум 40 мас. %, максимум 30 мас. %, максимум 15 мас. % або максимум 10 мас. % відносно загальної маси складу.

Для деяких варіантів здійснення даного винаходу, склад також включає пропелент. У деяких варіантах здійснення, пропелент є вуглеводним пропелентом. Підходящі вуглеводні пропеленти включають, наприклад, нижчі алкани, такі як, наприклад, пропан, ізобутан і бутан. У складі може міститись будь-яка комбінація підходящих прецедентів. Наприклад, склад може містити суміш пропану й бутану. Один з варіантів здійснення включає суміш пропану й бутану 50:50. Інший варіант здійснення включає суміш пропану й бутану 10:90. Інший варіант здійснення включає суміш пропану й бутану 15:85.

Загальна кількість пропеленту може становити від приблизно 2 % до приблизно 25 %, хоча в деяких варіантах склад може містити загальну кількість пропеленту поза цими межами. В одному варіанті здійснення, загальна кількість пропеленту становить близько 5 %. В іншому варіанті здійснення, загальна кількість пропеленту становить близько 10 %. В іншому варіанті здійснення, загальна кількість пропеленту становить близько 15 %.

Для деяких варіантів здійснення даного винаходу, склад також включає систему, що проявляє консервуючі властивості. Вона включає одну або більше сполук, які інгібують ріст мікробів (наприклад ріст бактерій і грибів) усередині складу (наприклад, під час виробництва й використання). Система консерванту у загальному випадку включає щонайменше одну сполуку, що консервує, таку як, наприклад метилпарабен, етилпарабен, пропілпарабен, бутилпарабен, бензиловий спирт, феноксиетанол і сорбінова кислота, або похідні сорбінової кислоти, такі як ефіри та солі. Система консерванту може включати різні комбінації цих сполук. У деяких варіантах здійснення даного винаходу, система консерванту включає метилпара-

бен, пропілпарабен і бензиловий спирт. В інших варіантах здійснення даного винаходу система консерванту включає метилпарабен і бензиловий спирт.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу система консерванту міститься в кількості, що найменше 0,01 мас. %, наприклад, щонайменше 0,02 мас. %, щонайменше 0,03 мас. %, щонайменше 0,04 мас. % і щонайменше 0,05 мас. %, відносно загальної маси складу. В інших варіантах здійснення даного винаходу система консерванту міститься в кількості максимум 10 мас. %, переважно максимум 3 мас. %, наприклад, максимум 7 мас. %, максимум 5 мас. %, максимум 2,5 мас. %, максимум 2,0 мас. %, максимум 1,0 мас. %, максимум 0,5 мас. %, максимум 0,4 мас. %, максимум 0,3 мас. % і максимум 0,2 мас. %, відносно загальної маси складу.

Для деяких варіантів здійснення даного винаходу, склад також містить емульгатор. Підходящі емульгатори включають неіонні сурфактанти, такі як, наприклад полісорбат 60, сорбітанмоностеарат, поліглицерил-4-олеат, поліоксіетилен(4) лауриловий ефір, поллоксамери й сорбітантриолеат. У деяких варіантах здійснення, емульгатор вибирається з полісорбату 60 і сорбітанмоностеарату та їхніх сумішей.

Якщо емульгатор входить до складу, то звичайно в кількості від 0,1 мас. % до 10 мас. % від загальної маси складу, наприклад від 0,5 мас. % до 5 мас. %, і від 0,75 мас. % до 4,0 мас. %. У деяких варіантах здійснення, кількість емульгатора, якщо він включений до складу, становить щонайменше 0,1 мас. %, щонайменше 0,5 мас. %, щонайменше 0,75 мас. %, щонайменше 1,0 мас. %, щонайменше 2,5 мас. %, щонайменше 3,5 мас. %, щонайменше 4,0 мас. % або щонайменше 5,0 мас. %, відносно загальної маси складу. У деяких варіантах здійснення, кількість емульгатора, якщо він включений до складу, становить максимум 10 мас. %, або максимум 5,0 мас. %, або максимум 3,5 мас. %, відносно загальної маси складу.

Для деяких варіантів здійснення даного винаходу, склад також містить посилювач в'язкості. Приклади підходящих посилювачів в'язкості включають довголанцюгові спирти, наприклад цетиловий спирт, стеариловий спирт, цетеариловий спирт; ефіри целюлози, такі як гідроксипропілметилцелюлоза, гідроксіетилцелюлоза, гідроксипропілцелюлоза й карбоксиметилцелюлоза; полісахаридні смоли, такі як ксантанова смола; і гомополімери та сополімери акрилової кислоти зшиті з алілцукрозою або алілпентаерітриолом, такі як полімери, позначені як карбомери у Фармакопії США. В деяких варіантах здійснення, посилювач в'язкості являє собою ксантанову смолу.

У деяких варіантах здійснення, кількість посилювача в'язкості, якщо він включений до складу, становить щонайменше 0,1 мас. %, щонайменше 0,2 мас. %, щонайменше 0,5 мас. %, щонайменше 0,6 мас. %, щонайменше 0,7 мас. %, щонайменше 0,9 мас. % або щонайменше 1,0 мас. %, відносно загальної маси складу. У деяких варіантах здійс-

нення, кількість посилювача в'язкості, якщо він включений до складу, становить максимально 10 мас. %, максимально 5,0 мас. %, максимально 3,0 мас. %, максимально 2,0 мас. % або максимально 1,5 мас. %, відносно загальної маси складу.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу, склад також містить щонайменше один пом'якшувач. Приклади підходящих пом'якшувачів включають, але не обмежені тільки ними, довголанцюгові спирти, наприклад цетиловий спирт, стеариловий спирт, цетеариловий спирт; ефіри жирних кислот, наприклад ізопропілміристат, ізопропілпальмітат, діізопропіловий димер дилінолеату; середньо-ланцюгові (наприклад, від 8 до 14 атомів вуглецю) тригліцериди, наприклад каприлові/капринові тригліцериди; цетилові ефіри; вуглеводні з 8 або більше вуглецевими атомами, наприклад легкі мінеральні масла, білий вазелін; і парафіни, наприклад бджолиний віск. Різні комбінації таких пом'якшувачів можуть використовуватися за бажанням. У деяких варіантах здійснення, пом'якшувач вибирається із цетилового спирту, стеарилового спирту, вазеліну і їхніх сумішей.

У деяких варіантах здійснення, кількість пом'якшувача становить щонайменше 1,0 мас. %, щонайменше 3,0 мас. %, щонайменше 5,0 мас. % або щонайменше 10 мас. %, відносно загальної маси складу. У деяких варіантах здійснення, кількість пом'якшувача становить максимально 30 мас. %, максимально 15 мас. % або максимально 10 мас. %, відносно загальної маси складу.

У деяких варіантах здійснення, склади за даним винаходом являють собою емульсії типу «масло у воді». Вода, що використовується в таких складах, звичайно є очищеною.

Склади за даним винаходом можуть включати додаткові фармацевтично прийнятні наповнювачі, такі як зволожувачі, наприклад, гліцерин; хелатуючі агенти, такі як, наприклад етилендіамінтетраоцтова кислота; та регулятори кислотності такі як, наприклад гідроксид калію або гідроксид натрію. У деяких варіантах здійснення, склад включає гліцерин.

У деяких випадках, один інгредієнт може виконувати більше однієї функції в складі. Наприклад, цетиловий спирт може виступати і як пом'якшувач, і як посилювач в'язкості.

Стани, які можна лікувати введенням іміквімоду, сотиримоду або резиквімоду у вигляді пінного складу за даним винаходом включають, але не обмежені тільки ними:

(а) вірусні захворювання, такі як, наприклад захворювання, що виникають внаслідок зараження аденовірусом, вірусом герпесу (наприклад HSV-I, HSV-II, CMV або VZV), поксвірусом (наприклад ортопоксвірусом, таким як вірус віспи, коров'ячої віспи або контагіозного молюска), пікорнавірусом (наприклад риновірусом або ентеровірусом), ортоміксовірусом (наприклад, вірусом грипу), параміксовірусом (наприклад вірусом парагрипу, вірусом свинки, вірусом кору й вірусом гострого респіраторного захворювання (ГРЗ)), коронавірусом (наприклад, вірусом атипічної пневмонії), паповавірусом (наприклад вірусом папіломи, таким, як наприклад, вірус, що викликає генітальні бородав-

ки, звичайні бородавки або підошовні бородавки), гепаднавірусом (наприклад вірусом гепатиту В), флавівірусом (наприклад вірусом гепатиту С або вірусом тропічної лихоманки), або ретровірусом (наприклад лентивірусом, таким як ВІЛ);

(б) бактеріальні захворювання, такі як, наприклад захворювання, що виникають внаслідок зараження бактеріями, наприклад, роду *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Shigella*, *Listeria*, *Aerobacter*, *Helicobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Pneumococcus*, *Neisseria*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Campylobacter*, *Vibrio*, *Serratia*, *Providencia*, *Chromobacterium*, *Brucella*, *Yersinia*, *Haemophilus* або *Bordetella*;

(в) інші інфекційні захворювання, такі як хламідіоз, грибові захворювання, що включають (але не обмежені тільки ними) кандидоз, аспергілез, гістоплазмоз, криптококковий менінгіт, або паразитичні захворювання, що включають (але не обмежені тільки ними) малярію, плазмодієвий пневмонію, лейшманіоз, криптоспоридіоз, токсоплазмоз і трипаносомові інфекції;

(г) пухлинні захворювання, такі як інтраепітеліальна неоплазія, цервикальна дисплазія, старечий кератоз, кератоакантома, базаліома, плоскоклітинна карцинома, шкірні метастази, нирково-клітинна карцинома, саркома Капозі, меланома, лейкемії, що включають (але не обмежені тільки ними) мієломну лейкемію, хронічну лімфоцитарну лейкемію, множинну мієлому, неходжкінську лімфому, лімфому Т-Клітин шкіри, лімфому В-Клітин і волосатоклітинний лейкоз, а також інші види раку;

(д) TH_2 -опосередковані атопії, такі як атопічний дерматит або екзема, еозінофілія, астма, алергія, алергійний риніт або синдром Оммену;

(е) деякі аутоімунні захворювання, такі як системний червоний вовчак, первинна тромбоцитопенія, неухвалений склероз, дискоїдний червоний вовчак, гніздова алопеція; і

(ж) захворювання, пов'язані із загоєнням ран, такі як, наприклад інгібування утворення келоїду й інших типів шрамів (наприклад, поліпшення загоєння ран, включаючи хронічні рани).

(з) шкірні стани, такі як, наприклад фотоушкодження шкіри, поліпшення характеристик шкіри, видалення татуювань або шкірних ушкоджень, викликаних укусами.

Якість шкіри перебуває в постійній залежності від різних факторів, що включають, наприклад вологість, УФ-випромінювання, косметичку, старіння, хвороби, стрес, паління й звички харчування.

Шкіра, яку можна лікувати за допомогою даного винаходу може включати шкіру обличчя, шкіру шиї, рук, передпліч, ніг або тулуба, а також інших ділянок тіла.

Поліпшення характеристик шкіри включає омолодження, уповільнення розвитку або запобігання змін шкіри, пов'язаних із природним або вродженим старінням. У даному контексті, термін «запобігання» і його варіації стосуються до будь-якої стадії затримки початку змін шкіри. Наприклад, поліпшення характеристик шкіри включає омолодження, уповільнення розвитку або запобі-

гання змін шкіри, пов'язаних з ушкодженням сонячним світлом або фотостарінням, тобто зі змінами шкіри, пов'язаними із впливом сонячного світла або інших форм активічного випромінювання (наприклад, такими як УФ-випромінювання та камери штучної засмаги). Як інший приклад, поліпшення характеристик шкіри також може включати омолодження, уповільнення розвитку або запобігання змін шкіри, що виникають внаслідок зовнішніх факторів, включаючи (але не обмежуючись тільки ними) опромінення, забруднення повітря, вітер, холод, вологість, жару, хімікати, дим, паління та їхні комбінації.

Поліпшення характеристик шкіри також може включати омолодження, запобігання або зменшення шрамів, які можуть виникати, наприклад, внаслідок певних станів шкіри (наприклад, прищі), інфекцій (наприклад, лейшманіоз) або травм (наприклад, садна, проколи, порізи або хірургічні розрізи).

Зміни шкіри, які можна лікувати за допомогою даного винаходу, включають, наприклад, зморшки (включаючи, але не обмежуючись тільки ними, людські лицьові зморшки), поглиблення шкірних ліній, потоншення шкіри, невеликі шрами, поживотіння шкіри, ластовиння, гіперпигментацію, появу пігментованих і/або непігментованих вікових плям, огрубіння шкіри, втрату еластичності, втрату колагенових волокон, ненормальні зміни в еластичних волокнах, зношування малих кровоносних судин шкіри, утворення павутинок вен і їхні комбінації.

Додатково, пінні композиції можуть використовуватися для доставки іміквімоду, сотиримоду або резиквімоду як допоміжного засобу вакцини для місцевого застосування з будь-яким матеріалом, що підсилює гуморальну і/або клітинно-опосередковану імунну відповідь, таким як, наприклад, живі вірусні, бактеріальні або паразитичні імуногени; інактивовані вірусні імуногени, імуногени, що отримані з пухлин, з використанням найпростіших, мікробів, грибків або бактерій, токсодиди, токсини; аутоантигени; поліцукри; протеїни; глікопротеїни; пептиди; клітинні вакцини; ДНК вакцини; аутовакцини; рекомбінантні протеїни, глікопротеїни, пептиди, і їм подібні, для використання наприклад, з вакцинами від БЦЖ, холери, чуми, тифу, гепатиту А, гепатиту В, гепатиту С, інфлюєнці А, інфлюєнці В, парайнфлюєнці, поліомієліту, сказу, кору, свинки, краснухи, жовтої лихоманки, правця, дифтерії, гемофілічної інфлюєнці b, туберкульозу, менінгококковими та пневмококковими вакцинами, вакцинами аденовірусу, ВІЛ, вітряної віспи, вірусу цитомегалії, тропічної лихоманки, котячої лейкемії, пташиного грипу, HSV-1 і HSV-2, чуми свиней, японського енцефаліту, респіраторно-синцитіального вірусу, ротавірусу, вірусу папіломи, жовтої лихоманки та хвороби Альцгеймера.

Способи даного винаходу можуть здійснюватися на будь-якому підходящому суб'єкті. Підхо-

дячі суб'єкти включають (але не обмежені тільки ними) тваринні організми, такі як, наприклад людина, інші примати, домашні птахи, гризуни, собаки, кішки, коні, свині, вівці, кози або корови.

Приклади

Наступні нижче приклади були відібрані тільки для додаткової ілюстрації властивостей, переваг і інших аспектів даного винаходу. Однак, варто ясно розуміти, що хоча наведені приклади й служать даній задачі, використані конкретні матеріали й кількості, а також інші умови й деталі, не повинні тлумачитися як яке-небудь обмеження даного винаходу.

Склади, що продемонстровані в приведених нижче таблицях від 1 до 4, були приготовлені наступним загальним способом.

Попереднє приготування суміші іміквімод/ізостеаринова кислота/бензиловий спирт: іміквімод змішують із ізостеариновою кислотою й перемішують при нагріванні (близько 55 °C) до розчинення основної маси іміквімоду. Додають бензиловий спирт і продовжують перемішування доти, поки весь іміквімод не перейде в розчин.

Приготування масляної фази: цетиловий спирт, стеариловий спирт, білий вазелін, полісорбат 60 і сорбітанмоностеарат додають до попередньо приготовленої суміші іміквімод/ізостеаринова кислота/бензиловий спирт і перемішують при нагріванні (близько 55 °C) до повного розчинення всіх компонентів.

Приготування водної фази: метилпарабен і пропілпарабен змішують із водою й порцією (близько 50 %) гліцерину й перемішують при нагріванні (близько 55 °C) до розчинення парабенів. Окремо готують дисперсію ксантанової смоли змішуванням ксантанової смоли з порцією, що залишилася, гліцерину й перемішуванням до диспергування ксантанової смоли. Дисперсію ксантанової смоли повільно додають при перемішуванні до розчину парабенів, утримуючи температуру близько 55 °C. Перемішування продовжують доти, поки вся ксантанова смола повністю не диспергується.

Змішування фаз: водну фазу додають до масляної фази при приблизно 55 °C. Суміш гомогенізують протягом мінімум 15 хвилин. Отриману емульсію охолоджують до кімнатної температури і потім поміщають у скляну посудину. Наведені нижче таблиці 1 і 2 показують склад (у мас. %) композицій до додавання пропеленту.

Додавання пропеленту: емульсію поміщають у покриту пластиком скляну посудину. На посудину накручують аерозольний клапан (або клапан постійного потоку, або дозуючий клапан). Посудину заповнюють пропелентом за допомогою газової бюретки тиску з азотом. Потім посудину збовтують для диспергування емульсії в пропеленті. Нижче подані таблиці 3 і 4 показують склад (у мас. %) композицій після додавання пропеленту.

Таблиця 1

Склади до додавання пропеленту

Інгредієнт	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Іміквімод	5,88	5,88	5,56	5,26	5	5
Ізостеаринова кислота	29,41	29,41	27,78	26,32	25	25
Бензиловий спирт	2,35	2,35	2,22	2,11	2	2
Полісорбат 60	4,00	4,00	3,78	3,58	3,4	3,4
Сорбітанмоностеарат	0,71	0,71	0,67	0,63	0,6	0,6
Ксантанова смола	0,59	0,59	0,56	0,53	0,5	0,5
Метилпарабен	0,24	0,24	0,22	0,21	0,2	0,2
Пропілпарабен	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Цетиловий спирт	2,59	2,59	2,44	2,32	2,2	2,2
Стеариловий спирт	3,65	3,65	3,44	3,26	3,1	3,1
Вазелін	3,53	3,53	3,33	3,16	3	3
Гліцерин	2,35	2,35	2,22	2,11	2	2
Вода	44,68	44,68	47,76	50,51	52,98	52,98

Таблиця 2

Склади до додавання пропеленту

Інгредієнт	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10	№ 11	№ 12
Іміквімод	5,56	5,56	5,56	5,56	5,56	5,56
Ізостеаринова кислота	13,95	13,95	13,95	13,95	13,95	13,95
Бензиловий спирт	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22
Полісорбат 60	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90
Сорбітанмоностеарат	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Ксантанова смола	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Метилпарабен	0,33	0,33	0,33	0,22	0,22	0,22
Пропілпарабен	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02
Цетиловий спирт	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30
Стеариловий спирт	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Вазелін	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75
Гліцерин	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10
Вода	65,91	65,91	65,91	66,03	66,03	66,03

Таблиця 3

Склади після додавання пропеленту

Інгредієнт	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Іміквімод	5	5	5	5	4,25	4,75
Ізостеаринова кислота	25	25	25	25	21,25	23,75
Бензиловий спирт	2	2	2	2	1,7	1,9
Полісорбат 60	3,4	3,4	3,4	3,4	2,89	3,23
Сорбітанмоностеарат	0,6	0,6	0,6	0,6	0,51	0,57
Ксантанова смола	0,5	0,5	0,5	0,5	0,43	0,48
Метилпарабен	0,2	0,2	0,2	0,2	0,17	0,19
Пропілпарабен	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Цетиловий спирт	2,2	2,2	2,2	2,2	1,87	2,09
Стеариловий спирт	3,1	3,1	3,1	3,1	2,64	2,95
Вазелін	3	3	3	3	2,55	2,85
Гліцерин	2	2	2	2	1,7	1,9
Вода	37,98	37,98	42,98	47,98	45,02	50,32
Пропан:бутан (50:50)	15	0	10	5	15	5
Пропан:бутан (10:90)	0	15	0	0	0	0

Таблиця 4

Склади після додавання пропеленту

Інгредієнт	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10	№ 11	№ 12
Іміквімод	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Ізостеаринова кислота	12,56	12,56	12,56	12,56	12,56	12,56
Бензиловий спирт	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Полісорбат 60	1,71	1,71	1,71	1,71	1,71	1,71
Сорбітанмоностеарат	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80	1,80
Ксантанова смола	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
Метилпарабен	0,30	0,30	0,30	0,20	0,20	0,20
Пропілпарабен	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02
Цетиловий спирт	1,17	1,17	1,17	1,17	1,17	1,17
Стеариловий спирт	1,62	1,62	1,62	1,62	1,62	1,62
Вазелін	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58
Гліцерин	2,79	2,79	2,79	2,79	2,79	2,79
Вода	59,30	59,30	59,30	59,41	59,41	59,41
Пропан:бутан (50:50)	10	0	0	10	0	0
Пропан:бутан (10:90)	0	10	0	0	10	0
Ізобутан	0	0	10	0	0	10

Склади, показані в нижчеподаних таблицях 5 і 6, були приготовлені наступним загальним способом.

Попереднє приготування суміші іміквімод/ізостеаринова кислота: іміквімод змішують із ізостеариновою кислотою й перемішують при нагріванні (близько 55 °С) до розчинення основної маси іміквімоду і доти, поки весь іміквімод не перейде в розчин.

Приготування масляної фази: цетиловий спирт, стеариловий спирт, медичний вазелін, полісорбат 60 і сорбітанмоностеарат додають до попередньо приготовленої суміші іміквімод/ізостеаринова кислота й перемішують при нагріванні (близько 55 °С) до повного розчинення всіх компонентів.

Приготування водної фази: метилпарабен і пропілпарабен змішують із водою й порцією (близько 50 %) гліцерину й перемішують при нагріванні (близько 55 °С) до розчинення парабенів. Окремо готують дисперсію ксантанової смоли змішуванням ксантанової смоли з порцією, що залишилася, гліцерину та перемішуванням до

диспергування ксантанової смоли. Дисперсію ксантанової смоли повільно додають при перемішуванні до розчину парабенів, утримуючи температуру близько 55 °С. Перемішування продовжують доти, поки вся ксантанова смола повністю не диспергується.

Змішування фаз: водну фазу додають до масляної фази при приблизно 55 °С. Суміш гомогенізують протягом мінімум 15 хвилин. Отриману емульсію охолоджують до кімнатної температури і потім поміщають у скляну посудину. Приведена нижче таблиця 5 показує склад (у мас. %) композицій до додавання пропеленту.

Додавання пропеленту: емульсію поміщають у покриту пластиком скляну посудину. На посудину накручують аерозольний клапан (або клапан постійного потоку, або дозуючий клапан). Посудину заповнюють пропелентом за допомогою газової бюретки тиску з азотом. Потім посудину збовтують для диспергування емульсії в пропеленті. Приведена нижче таблиця 6 показує склад (у мас. %) композицій після додавання пропеленту.

Таблиця 5

Склади до додавання пропеленту

Інгредієнт	№ 13	№ 14	№ 15
Іміквімод	5,56	5,56	5,56
Ізостеаринова кислота	13,95	13,95	13,95
Полісорбат 60	1,90	1,90	1,90
Сорбітанмоностеарат	2,00	2,00	2,00
Ксантанова смола	0,15	0,15	0,15
Метилпарабен	0,33	0,33	0,33
Пропілпарабен	0,03	0,03	0,03
Цетиловий спирт	1,30	1,30	1,30
Стеариловий спирт	1,80	1,80	1,80
Вазелін	1,75	1,75	1,75
Гліцерин	3,10	3,10	3,10
Вода	68,13	68,13	68,13

Таблиця 6

Склади після додавання пропеленту

Інгредієнт	№ 13	№ 14	№ 15
Іміквімод	5,00	5,00	5,00
Ізостеаринова кислота	12,56	25,00	25,00
Полісорбат 60	1,71	3,40	3,40
Сорбітанмоностеарат	1,80	0,60	0,60
Ксантанова смола	0,14	0,50	0,50
Метилпарабен	0,30	0,20	0,20
Пропілпарабен	0,03	0,02	0,02
Цетиловий спирт	1,17	2,20	2,20
Стеариловий спирт	1,62	3,10	3,10
Вазелін	1,58	3,00	3,00
Гліцерин	2,79	2,00	2,00
Вода	61,30	37,98	42,98
Пропан:бутан (50:50)	10	0	0
Пропан:бутан (10:90)	0	10	0
Ізобутан	0	0	10

Склади, показані в наведених нижче таблицях 7 і 8, були приготовлені наступним загальним способом.

Попереднє приготування суміші іміквімод/ізостеаринова кислота/бензиловий спирт: іміквімод змішують із ізостеариновою кислотою та перемішують при нагріванні (близько 55 °С) до розчинення основної маси іміквімоду. Додають бензиловий спирт і продовжують перемішування доти, поки весь іміквімод не перейде в розчин.

Приготування масляної фази: полісорбат 60 і сорбітанмоностеарат додають до попередньо приготовленої суміші іміквімод/ізостеаринова кислота/бензиловий спирт і перемішують при нагріванні (близько 55 °С) до повного розчинення всіх компонентів.

Приготування водної фази: метилпарабен і пропілпарабен, якщо вони входять склад, змішують із водою й перемішують при нагріванні (близько 55 °С) до розчинення парабенів. Додають

ксантанову смолу та перемішують водну фазу при приблизно 55 °С доти, поки вся ксантанова смола повністю не диспергується.

Змішування фаз: водну фазу додають до масляної фази при приблизно 55 °С. Суміш гомогенізують протягом мінімум 15 хвилин. Отриману емульсію прохолоджують до кімнатної температури і потім поміщають у скляну посудину. Приведена нижче таблиця 7 показує склад (у мас. %) композицій до додавання пропеленту.

Додавання пропеленту: Емульсію поміщали в покриту пластиком скляну посудину. На посудину накручують аерозольний клапан (або клапан постійного потоку, або дозуючий клапан). Посудину заповнюють пропелентом за допомогою газової бюретки тиску з азотом. Потім посудину збовтують для диспергування емульсії в пропеленті. Наведена нижче таблиця 8 показує склад (у мас. %) композицій після додавання пропеленту.

Таблиця 7

Склади до додавання пропеленту

Інгредієнт	№ 16	№ 17	№ 18	№ 19	№ 20	№ 21
Іміквімод	5,88	5,88	5,56	5,26	5,26	1,05
Ізостеаринова кислота	29,41	29,41	27,78	26,32	26,32	5,26
Бензиловий спирт	2,35	2,35	2,22	2,11	2,11	0,42
Полісорбат 60	4,00	4,00	3,78	3,58	3,58	0,72
Сорбітанмоностеарат	0,71	0,71	0,67	0,63	0,63	0,13
Ксантанова смола	0,59	0,59	0,56	0,53	1,05	1,05
Метилпарабен	0,24	0,24	0,22	0,21	0,11	0,11
Пропілпарабен	0,02	0,02	0,02	0,02	0	0
Вода	56,80	56,80	59,20	61,35	60,95	91,26 1

Таблиця 8

Склади після додавання пропеленту

Інгредієнт	№ 16	№ 17	№ 18	№ 19	№ 20	№ 21
Іміквімод	5	5	5	5	5	1
Ізостеаринова кислота	25	25	25	25	25	5
Бензиловий спирт	2	2	2	2	2	0,4
Полісорбат 60	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	0,68
Сорбітанмоностеарат	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,12
Ксантанова смола	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1
Метилпарабен	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
Пропілпарабен	0,02	0,02	0,02	0,02	0	0
Вода	48,28	48,28	53,28	58,28	57,9	86,7
Пропан:бутан (50:50)	15	0	10	5	0	0
Пропан:бутан (10:90)	0	15	0	0	5	5

Приклад 1

Чоловічі особи голих пацюків CD (Charles Rivers Laboratories, Wilmington, MA) масою 220-250 грам (приблизний вік 8-10 тижнів) привчали до шийного коміра протягом двох днів, що передують введенню препарату. У день експерименту пацюкам одягали коміри для запобігання перорального потрапляння складу, потім обробляли зовнішньо 45-47 міліграмами складу з таблиці 3 або 8 на площі приблизно 6 кв. см. на правій нижній частині спини. Склад втирали в шкіру пальцем у нитрильній рукавичці протягом приблизно 1-3 хвилин. Пацюків розсаджували в індивідуальні клітини і не знімали коміри протягом 6 годин.

Після закінчення 6 годин, брали кров пункцією серця під анестезією вуглекислим газом. Кров залишали для згортання при кімнатній температурі приблизно на 20 хвилин, потім сироватку відокремлювали від згустків центрифугуванням (Beckman Coulter Allegra 21R, 4180 горизонтальний ротор, Beckman Coulter, Inc. Fullerton, CA) при 2000 об/хв. протягом 10 хвилин при охолодженні. Отриману сироватку зберігали при -20 °C до моменту аналізу на концентрацію TNF-alpha і MCP-1.

Тварин забивали, проводили по три пункційні біопсії по 8 мм із кожного з двох боків кожної тварини: обробленого боку й протилежного боку (ліва нижня сторона спини). Тканини біопсії зважували і поміщали в запаюну 1,8 мл кріопробірку та швидко заморожували в рідкому азоті. Заморожені шкірні тканини суспендували в 1,0 мл середовища RPMI (Protide Pharmaceuticals, St. Paul, MN) 10 % фетальної бичачої сироватки, 2 мМ L-Глютаміну, 1 % пеніцилін/стрептоміцину, 5×10^{-5} М 2-меркаптоетанолу і 1 % протеазо-інгібуючого комплексу III (Calbiochem/EMD Biosciences, San

Diego, CA). Шкірну тканину гомогенізували на льоді, використовуючи TISSUE TEAROR (Biospec Products, Inc. Bartlesville, OK) протягом приблизно 1 хвилини. Супернатанти шкірних тканин центрифугували (Beckman Coulter Allegra 21R, 4180 горизонтальний ротор) при 4800 об/хв. протягом 10 хвилин при охолодженні для осадження клітинних залишків. Супернатанти збирали та зберігали при -20 °C до моменту аналізу на концентрацію TNF-alpha і MCP-1.

Концентрацію TNF-alpha і MCP-1 визначали методом ELISA (TNF-alpha, BD Pharmingen, San Diego, CA; MCP-1, Biosource International, Camarillo, CA) відповідно до інструкцій виробника. Пластинки ELISA проявляли на пристрої SpectraMax для читання пластинок мікроаналізу (Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA) і використовували пакет програм SOFTMAX PRO для згладжування кривих поглинання. Результати виміру концентрацій TNF-alpha і MCP-1 у сироватці виражені в пікограмах на мілілітр (пг/мл) сироватки. Результати виміру концентрацій для шкірних тканин виражені в пг на 200 мг тканини.

Повне розкриття патентів, патентних документів і процитованих тут публікацій включено, як посилання, у всій їхній повноті, так як якби кожний з них був включений індивідуально. У випадку протиріччя, даний опис, включаючи визначення, є основним.

Різні модифікації й варіанти даного винаходу очевидні для кваліфікованого співробітника без порушення границь і суті даного винаходу. Ілюстративні варіанти здійснення і приклади, наведені тільки як приклади, й не призначені для обмеження даного винаходу. Границі даного винаходу обмежені тільки формулою винаходу, сформульованою нижче.