

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

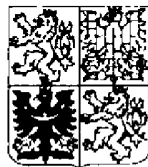
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2024-99

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **03. 12. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **12.12.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/033182**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15. 09. 99**
(Věstník č. 9/99)

(86) PCT číslo: **PCT/US97/21400**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 98/25599**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K 31/045
A 61 K 47/44

(71) Přihlášovatel:

PHARMACIA & UPJOHN, Kalamazoo, MI, US;

(72) Původce:

Foster Todd P., Kalamazoo, MI, US;

Barsuhn Karen, Plainwell, MI, US;

(74) Zástupce:

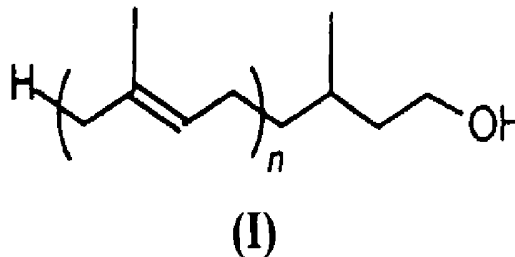
Kania František Ing., Mendlovo nám. 1a,
Brno, 60300;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Olejová směs dihydropolyprenolů

(57) Anotace:

Směs pro parentální podávání léků obsahující dihydropolyprenol vzorce /I/, kde n je celé číslo od 5 do 7 a farmaceuticky přijatelný olej.



Olejová směs dihydropolyprenolů

Oblast vynálezu

Vynález se týká nové směsi pro parenterální podání. Konkrétněji se vynález týká olejové směsi dihydropolyprenolů pro zlepšení imunitního systému zvířat.

Dosavadní stav techniky

Americký patent č. 4.624.966 popisuje β,γ -dihydropolyprenylalkoholové deriváty používané jako filaktické prostředky proti infekčním nemocem lidí a zvířat, a metody jejich použití.

Americký patent č. 4.839.389 popisuje injekce polyprenylalkoholu obsahující jako základní přísady polyprenylalkoholy a lecitin.

Americký patent č. 5.139.740 popisuje směs pro měkké kapsle obsahující sloučeninu polyprenylu, činidlo a/nebo nenasycenou alifatickou kyselinu.

Americký patent č. 5.280.048 popisuje metodu použití polyprenylové sloučeniny proti infekci.

K dalším obecným odkazům patří:

H. Nagahata, G. J. Kociba, H. Noda, M. Koiwa a M. Kimura, „Účinky dihydroheptaprenolu na neutrofilní funkci poporodních dojnic“, *Veterinární imunologie a imunopatologie*, 29, str. 163 - 169 (1991).

O. Yoneyama, S. Osame, S. Ichijo, M. Kimura, S. Araki, M. Suzuki a E. Imamura, „Účinky dihydroheptaprenolu na neutrofilní funkce telat“, *Britský veterinární časopis*, 145, str. 531 - 537 (1989).

O. Yoneyama, S. Osame, M. Kimura, S. Araki a S. Ichijo, „Zlepšení neutrofilní funkce dospělých krav dihydroheptaprenolem“, *Japonský časopis veterinární vědy*, 51(6), str. 1283 - 1286 (1989).

P. T. Watari, R. Goitsuka, H. Koyama, T. Sako, T. Uchino, S. Araki, A. Hasegawa a S. Motoyoshi, „Účinky dihydroheptaprenolu na snížení hladiny nitroblue tetrazolia dásňovým makrofagem prasnic“, *Japonský časopis veterinární vědy*, 51(3), str. 630 - 631 (1989).

S. Araki, M. Suzuki, K. Ogura, M. Kimura, E. Imamura, C. Kuniyasu, K. Kagaya a Y. Fukazawa, „Zlepšení fagocytozy (pohlcování částecí hmoty) a bakteriální aktivity neutrofilů novorozených prasat dihydroheptaprenolem, derivát syntetického polyprenolu“, *Mikrobiologie, imunologie*, 33(10), str. 877 - 882 (1989).

S. Araki, K. Kagaya, K. Kitoh, M. Kimura a Y. Fukazawa, „Zlepšení odolnosti myši vůči infekci střevním bacilem dihydroheptaprenolem, derivát syntetického polyprenolu“, *Infekce a imunita*, 55(9), str. 2164 - 2170 (1987).

O. M. Kimura, S. Araki, T. Nakai a K. Kume, „Ochranné účinky dihydroheptaprenolu v kombinaci s vakcínou k experimentálnímu očkování morčat a prasat proti bacilu, který působí současný zánět plic a pohrudnice“, *Japonský časopis veterinární vědy*, 55(4), str. 627 - 630 (1993).

E. J. Robb, D. D. Kratzer, C. H.-Ho a K. J. Dame, „Popis dávek a hodnocení režimu dávkování dihydroheptaprenolu při vyvolané infekci hovězího zápalu plic způsobené bakteriemi“, *Zoologický časopis*, 71 (Přil. 1), str. 203 (1993).

Dihydropolyprenoly jsou třídou známých polyprenolů, které byly poskytnuty ke zvýšení nespecifické obrany proti různým patogenním mikrobům v těle hostitelů například hlodavců, krav, telat a prasat. Vzhledem k jejich schopnosti zlepšovat rezistenci hostitele se tyto sloučeniny mohou používat jako prostředky pro léčbu nebo ochranu před infekcemi u zvířat a lidí.

Je však stále více zřejmé, že vývoj farmak se nemůže omezit na pouhé hledání maximálně biologicky aktivní směsi. Než se potenciálně aktivní směs stane lékařským výrobkem, musí se zvážit mnoho dalších aspektů. Velmi důležitá je stabilita aktivního přípravku, absorpční chování v zamýšleném místě podávání, fyzikální stav aktivního přípravku a mnoho dalších souvisejících ohledů. Kromě vlastností samotného aktivního přípravku se zvažují i ekonomické aspekty hromadné výroby léčiva.

Všechny výše uvedené problémy a nedostatky řeší olejová směs podle vynálezu.

Podstata vynálezu

Jedním z úkolů vynálezu je poskytnout farmaceutickou směs obsahující dihydropolyprenol a olejový nosič, která zvýší vrozenou odolnost vůči infekci, stimuluje imunitní systém zvířat a je se zvířaty biologicky kompatibilní.

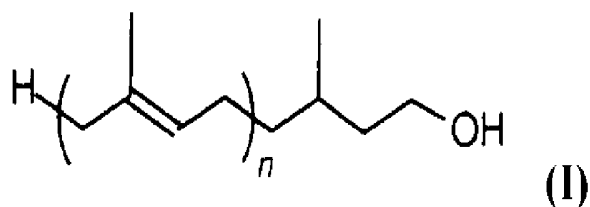
Dalším úkolem vynálezu je poskytnout olejovou směs obsahující vysoký podíl dihydropolyprenolu tak, aby se pro vhodnou léčbu mohlo použít jedné dávky.

Dalším úkolem vynálezu je poskytnout olejovou směs s takovou fyzikální a chemickou stabilitou, aby měla po zabalení do konečného obchodního balení vhodnou skladovatelnost.

Dalším úkolem vynálezu je poskytnout olejovou směs s nízkou viskozitou umožňující její aplikaci injekční stříkačkou.

Dalším úkolem vynálezu je poskytnout olejovou směs, kterou lze vyrábět jednoduchým postupem tak, aby byla konečná cena výrobku minimální.

Úkoly vynálezu byly splněny tím, že olejová směs, která je předmětem vynálezu, slouží k parenterálnímu podávání, se sestává z dihydropolyprenolu vzorce (I) a z farmaceuticky přijatelného oleje, kde n je celé číslo 5 až 7.

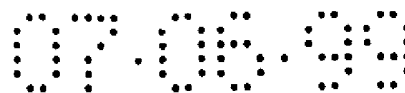


Překvapivě a neočekávaně bylo zjištěno, že olejové směsi podle vynálezu, které v podstatě neobsahují žádnou vodu, zlepšují využití dihydropolyprenolů vzorce (I). Poskytují nosiče dodávky léku, které jsou stabilní, snadno se podávají a vyrábějí se s nižšími náklady.

Olejová směs podle vynálezu je farmaceuticky elegantní a znamená nečekanou olejovou směs. Složky této olejové směsi se omezují na vehikulum (tj. olej) a účinné dihydropolyprenoly. Směs je tedy potenciálně déle skladovatelná, protože obsahuje méně složek působících škodlivě na dihydropolyprenoly. Olejová směs chrání dihydropolyprenoly před oxidací, která je primárně degraduje, protože kyslík by musel do dihydropolyprenolů difundovat přes olejový nositel. Některé oleje obsahují endogenní antioxidanty, což je obzvláště výhodné. Fyzikální stabilita navíc není u olejové směsi problémem, protože se jedná o jednofázový roztok. Jiné preparáty, jako jsou například emulze popsané v příslušných odborných publikacích, jsou naopak dvoufázové a mají schopnost časem navzájem reagovat.

Olejová směs podle vynálezu se lépe podává, protože může být koncentrovanější než emulzní preparáty a do zvířat se tedy injekcí stříkačkou vpravují menší objemy. Emulzní preparát se například běžně dělá 10 mg/ml, zatímco naše preparáty založené na oleji mohou být přinejmenším 150 mg/ml s patnáctinásobným zmenšením objemu. Olejovou směs lze navíc snadno vstříkat, protože její viskozita je dostatečně nízká, aby mohla protékat obvykle používanou stříkačkou a jehlou, zatímco například implantabilní tabletky obsahující dihydropolyprenoly se zvířatům podává obtížněji.

K dispozici je konečně jednoduchá metoda velkovýroby dihydropolyprenolových olejových směsí. Jiné typy dávkování často vyžadují složitější a dražší postupy.



Dihydropolyprenoly tvoří třídu známých směsí. Jejich účinky na zlepšení imunitního systému zvířat a postupy jejich přípravy jsou popsány v amerických patentech č. 4.624.966, 4.839.389, 5.139.740, 5.280.048, které jsou uvedeny v odkazech.

Dihydropolyprenolem vzorce (I), který se s výhodou používá při výrobě olejové směsi podle vynálezu, je dihydroheptaprenol, sloučenina vzorce I, kde n je 6.

Zvířaty se myslí dobytek, drůbež a domácí zvířata. Vynález lze však využívat u ostatních obratlovců a u nižších druhů, včetně bezobratlých.

Olejové směsi podle vynálezu se mohou připravovat spojením dihydropolyprenolu vzorce (I) a farmaceuticky přijatelného oleje. Metodami výroby těchto směsí jsou konvenční techniky a jsou odborníkům dobře známy. Požadovaná hmotnost nebo objem oleje se například nalezne do skleněné nebo nerezové nádoby. Olej se může do nádoby filtrovat přes sterilizační filtr (filtr 0,22 mikronů). Do nádoby s olejem se nalije dihydropolyprenol o hmotnosti nebo objemu vypočítaného pro danou koncentraci. Tyto dva roztoky se míchají tak dlouho, až vznikne homogenní směs. Doba míchání závisí na velikosti nádoby a druhu míchacího zařízení. Obecně platí, že pro získání 100 ml dávky homogenního roztoku je třeba 5 minut, u 1000 l dávky je třeba asi 30 minut. Homogenní směs je možno filtrovat přes sterilizační filtr (0,22 mikronů) a plnit do ampulí.

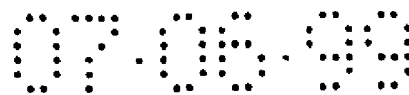
Termínem „farmaceuticky přijatelný“ se myslí vlastnosti z farmakologického a toxikologického hlediska biologicky kompatibilní s léčenými subjekty, z fyzikálního a chemického hlediska pak výroba farmaceutických látek s určitou stabilitou, rozpustností a biologickou dostupností.

Farmaceuticky přijatelným olejem je kokosový olej.

Termíny „Miglyol 810“, „Miglyol 812“ a „Miglyol 829“ označují různé třídy frakcionovaného a čištěného kokosového oleje obsahujícího zejména střední řetězce triglyceridů prodáváných pod ochrannou známkou Miglyol firmou Huls, Inc.

Olejové směsi podle vynálezu jsou dostupné ve formě určené pro parenterální podávání. S výhodou se dobytku podává podkožně, aby se omezilo na minimum poškození jedlé tkáně. Použít lze však i intramuskulární a ostatní parenterální cesty podávání.

Množství použitého dihydropolyprenolu vzorce (I) a koncentrace olejové směsi podle vynálezu se může pohybovat nebo upravovat v širokém rozsahu podle účinnosti konkrétní použité směsi, požadovaného dávkování, koncentraci a druhu léčeného zvířete. Množství aktivní složky se obecně pohybuje od 0,1 do 1000 mg/kg, koncentrace od 1 mg/ml do 500 mg/ml. Horní hranice koncentrace je dosaženo, když je olejová směs příliš viskózní pro aplikaci injekční stříkačkou. Například při použití dihydroheptaprenolu při prevenci nemocí dýchacích cest



hovězího dobytka (BRD) ve výkrmných telat se dávkování pohybuje od 1 do 10 mg/kg. Při léčbě BRD krmených telat s dávkováním 2 mg/kg dihydroheptaprenolu se například s výhodou používá koncentrace směsi 150 mg/ml. Takže jedna injekce 1,3 ml poskytne dostatečné množství dihydropolyprenolu pro průměrné léčené zvíře.

Pro lepší pochopení olejových směsí podle vynálezu jsou dále uvedeny příklady ilustrující jeho použití. Bez dalšího upřesnění se má zato, že s problematikou obeznámený člověk se znalostí výše uvedeného popisu a s níže uvedenými příklady může vynález využívat v celém rozsahu.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Dihydroheptaprenolu (0,341 g) se dá do 20 ml skleněné kádinky s 10,997 g Miglyolu 812. Směs se míchá 30 minut magnetickou míchací tyčinkou. Směsí se potom plní 5 ml skleněné ampule, které se uzavřou a opatří štítkem. Koncentrace dihydroheptaprenolu je 30,1 mg/g preparátu. Preparát je zkoušen systémovým ochranným testem u myši dávkou vyvolávající reakci je *Pasteurella haemolitica* 28,2 LD₅₀.

Příklad 2

Dihydroheptaprenolu (0,339 g) se přidá do 20 ml skleněné kádinky s 10,996 g Miglyolu 812. Magnetickou míchací tyčinkou se směs míchá 30 minut. Směsí se potom plní 5 ml skleněné ampule, které se uzavřou a opatří štítkem. Koncentrace dihydroheptaprenolu je 26,5 mg/g preparátu. Preparát je zkoušen systémovým ochranným testem u myši, dávkou vyvolávající reakci je *Pasteurella haemolitica* 12 LD₅₀.

Příklad 3

Výrobku (1,886 g) podle příkladu 2 se zředí s 26,467 g Miglyolu 810 mícháním v kádince po dobu 10 minut. Koncentrace dihydroheptaprenolu je 9,8 mg/ml. Preparát je zkoušen systémovým ochranným testem u myši, dávkou vyvolávající reakci je *Pasteurella haemolitica* 10 LD₅₀.

Příklad 4

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) se naleje do 20 ml skleněné ampule. Přidá se 9,9 g Miglyolu 810. Ampule se potom 1 minutu míchá v Yamamotově vířivé sadě na plnou rychlost. Po

hodinovém stání se ampulí míchá dalších 15 vteřin. Ampule se uzavře a opatří štítkem. Koncentrace dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát je zkoušen systémovým ochranným testem u myši, dávkou vyvolávající reakci je *Pasteurella haemolytica* 22 LD₅₀.

Příklad 5

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) se naleje do 20 ml skleněné ampule. Přidá se 9,9 g Miglyolu 812. Ampule se potom 1 minutu míchá v Yamamotově vířivé sadě na plnou rychlost. Po hodinovém stání se ampulí míchá dalších 15 vteřin. Ampule se uzavře a opatří štítkem. Koncentrace dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát je zkoušen systémovým ochranným testem u myši, dávkou vyvolávající reakci je *Pasteurella haemolytica* 22 LD₅₀.

Příklad 6

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) se naleje do 20 ml skleněné ampule. Přidá se 9,9 g Miglyolu 829. Ampule se potom 1 minutu míchá v Yamamotově vířivé sadě na plnou rychlost. Po hodinovém stání se ampulí míchá dalších 15 vteřin. Ampule se uzavře a opatří štítkem. Koncentrace dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát je zkoušen systémovým ochranným testem u myši, dávkou vyvolávající reakci je *Pasteurella haemolytica* 22 LD₅₀.

Příklad 7

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) se naleje do 20ml skleněné ampule. Přidá se 9,9 g saflorového oleje. Ampule se potom 1 minutu míchá v Yamamotově vířivé sadě na plnou rychlost. Po hodinovém stání se ampulí míchá dalších 15 vteřin. Ampule se uzavře a opatří štítkem. Koncentrace dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát je zkoušen systémovým ochranným testem u myši, dávkou vyvolávající reakci je *Pasteurella haemolytica* 22 LD₅₀.

Příklad 8

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) se naleje do 20 ml skleněné ampule. Přidá se 9,9 g sezamového oleje. Ampule se potom 1 minutu míchá v Yamamotově vířivé sadě na plnou rychlost. Po hodinovém stání se ampulí míchá dalších 15 vteřin. Ampule se uzavře a opatří štítkem. Koncentrace dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát je zkoušen

systémovým ochranným testem u myši, dávkou vyvolávající reakci je *Pasteurella haemolytica* 25 LD₅₀.

Příklad 9

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) se nalezí do 20 ml skleněné ampule. Přidá se 9,9 g sojového oleje. Ampule se potom 1 minutu míchá v Yamamotově vířivé sadě na plnou rychlost. Po hodinovém stání se ampulí míchá dalších 15 vteřin. Ampule se uzavře a opatří štítkem. Koncentrace dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát je zkoušen systémovým ochranným testem u myši dávkou vyvolávající reakci je *Pasteurella haemolytica* 6 LD₅₀.

Příklad 10

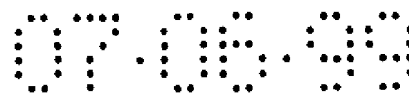
Dihydroheptaprenolu (0,1 g) se nalezí do 20 ml skleněné ampule. Přidá se 9,9 g bavlníkového oleje. Ampule se potom 1 minutu míchá v Yamamotově vířivé sadě na plnou rychlost. Po hodinovém stání se ampulí míchá dalších 15 vteřin. Ampule se uzavře a opatří štítkem. Koncentrace dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát je zkoušen systémovým ochranným testem u myši dávkou vyvolávající reakci je *Pasteurella haemolytica* 9 LD₅₀.

Příklad 11

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) se nalezí do 20 ml skleněné ampule. Přidá se 9,9 g oleje podzemnice olejné. Ampule se potom 1 minutu míchá v Yamamotově vířivé sadě na plnou rychlost. Po hodinovém stání se ampulí míchá dalších 15 vteřin. Ampule se uzavře a opatří štítkem. Koncentrace dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát je zkoušen systémovým ochranným testem u myši, dávkou vyvolávající reakci je *Pasteurella haemolytica* 25 LD₅₀.

Příklad 12

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) se nalezí do 20 ml skleněné ampule. Přidá se 9,9 g minerálního oleje. Ampule se potom 1 minutu míchá v Yamamotově vířivé sadě na plnou rychlost. Po hodinovém stání se ampulí míchá dalších 15 vteřin. Ampule se uzavře a opatří štítkem. Koncentrace dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát je zkoušen systémovým ochranným testem u myši, dávkou vyvolávající reakci je *Pasteurella haemolytica* 9 LD₅₀.



Příklad 13

Příprava preparátu se provádí za laminárního proudění v ochranném krytu, který je sterilní. 9,02 g dihydroheptaprenolu a 47,73 g Miglyolu 810, který se filtruje přes 0,22 mikronový filtr, naleje se do 100 ml sterilní skleněné kádinky. Magnetickou míchací tyčinkou se směs míchá 10 minut. Směsí se potom plní 50 ml sterilní skleněné ampule, které se uzavřou a opatří štítkem. Koncentrace vzorku je 142,2 mg/ml. Neaktivní substance se připravuje filtrací přibližně 50 ml Miglyolu 810 do 50 ml sterilní skleněné ampule, přes 0,22 mikronový filtr. Ampule se uzavře a opatří nálepkou. Preparát se zkouší testem, kde bovinní *Pasteurella haemolitica* vyvolává reakci.

Příklad 14

Příprava preparátu se provádí za laminárního proudění v ochranném krytu, který je sterilní. 21,43 g Dihydroheptaprenolu a 110,94 g Miglyolu 810, který se filtruje přes 0,22 mikronový filtr, se naleje do 200 ml sterilní skleněné kádinky. Magnetickou míchací tyčinkou se směs míchá 10 minut. Směsí se potom plní 50 ml sterilní skleněné ampule, které se uzavřou a opatří štítkem. Koncentrace vzorku je 149,8 mg/ml. Neaktivní substance se připravuje filtrací přibližně 50 ml Miglyolu 810 do 50 ml sterilní skleněné ampule, přes 0,22 mikronový filtr. Ampule se uzavře a opatří štítkem. Preparát se zkouší testem, kde bovinní *Pasteurella haemolitica* vyvolává reakci.

Příklad 15

Systémový ochranný test u myši

Směsí z příkladů 1 až 12 se vyhodnotily testem systémové ochrany u myši proti *Pasteurella haemolitica*. V tomto testu dostane každá myš podkožní dávku směsi a o 24 hodin později se vyvolá reakce proti *Pasteurella haemolitica*. Dávka vyvolávající reakci v příkladě 1 je 28,2 krát větší než jaká je potřebná k úhynu 50 % myši ($LD_{50} = 28,2$). Dávky vyvolávající reakci jsou pro další příklady uvedeny v tabulce 1. Dávky se pohybují od 25 do 400 mg/kg. Směs se rozmíchá s olejem, který se testuje před dávkováním, aby ji bylo dost pro injekce aplikované na myši. Skupina přijímající 0 mg/kg představuje kontrolu a očkuje se Miglyolem 812. Používaným kmenem *Pasteurella haemolitica* je UC6531, který se izoluje v případě hovězích dýchacích chorob. Kmen určený k testování se uchovává na 3 mm skleněných kuličkách, ponořené v sojovém bujónu (Becton-Dickinson Microbiology Systems) s 10 % glycerolu při

teplotě -70°C , dokud se neoživí. Zapiše se počet myší, které přežijí po sedmi dnech. Z těchto čísel se vypočítává ED_{50} . Tabulka 1. znázorňuje výsledky testu.

Příklad 16

Test vyvolání reakce hovězím *Pasteurella haemolitica*

Směs z příkladu 13 se vyhodnotí testem vyvolání reakce hovězím *Pasteurella haemolitica*. V tomto testu se podle náhodně přidělené hmotnosti naočkuje skupina mladých Holstein býčků, kteří jsou 35 až 50 dnů staří. Skupina patnácti zvířat je brána jako placebo skupina obsahující pouze vehikulum Miglyol 810 nebo 4 mg/kg olejového preparátu. Dávka 4 mg/kg se každému zvířeti naočkuje pod kůži a po 24 hodinách dochází vyvolání reakce. Dávka vyvolávající reakci na tele se skládá z intratracheální inokulace 6×10^6 jednotkami tvořící kolony (colony forming units (CFU)) virulentního *Pasteurella haemolitica* v okyseleném 10 ml (pH 4,5) bujónu ze srdce a mozku (Brain Heart Infusion (BHI)) , o čtyři hodiny později je u telate vyvolána reakce 4×10^8 CFU v 10 ml BHI bujónu bez okyselení. Telata se během deseti dnů pozorují, zváží, podrobí eutanazii a histologicky se vyšetří. Rozhodujícím kritériem je úmrtnost, počet telat, která přibrala 2,7 kg během zkoumání a vypočítaný stav konsolidace plic. Navržená studie u 80 % případů vykazovala 21-23% rozdíly v úmrtnosti a růst s $\alpha = 0.2$.

Žádné z telat ze skupiny, která obdržela 4 mg/kg nezemřelo, zatímco u placebo skupiny došlo k podstatným odchylkám a 2 z 15 telat zemřela ($P = 0,04$, jednostranné). Podstatně více telat přibere 2,27 kg v 4 mg/kg skupině (14 z 15) oproti negativní kontrole (7 z 15) ($P = 0,006$, jednostranné). V počtu plicních poranění nejsou podstatné rozdíly.

Porovnáním příkladu 14 se vyhodnotí stejný test vyvolání reakce hovězím *Pasteurella haemolitica* užívané v příkladu 13. Skupina patnácti zvířat obdrží neaktivní substanci obsahující pouze přísadu Miglyol 810, 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg nebo 4 mg/kg olejového přípravku. Dávka dihydroheptaprenolu se každému zvířeti naočkuje pod kůži a po 24 hodinách následuje vyvolání reakce. Telata se během deseti dnů pozorují, váží, podrobí eutanazii a histologicky se vyšetří. Rozhodujícím kritériem je úmrtnost, počet telat, která přibrala 2,7 kg během zkoumání a vypočítaný stav zkonsolidovaných plic. Navržená studie u 80 % případů vykazovala rozdíly v úmrtnosti.

Úmrtnost je 4 z 15 (placebo), 2 z 15 (0,5 a 1 mg/kg), 0 z 15 (2 mg/kg), a 1 z 15 (4 mg/kg, jedno zvíře zemřelo na zauzlení střev, což nesouvisí z vyvoláním reakce). Statisticky méně úmrtí ($P \leq 0,11$) je u skupin s obsahem 0,5 mg/kg nebo s větším obsahem dihydroheptaprenolu. Počet telat, která přiberou více než 2,27 kg je 3 z 15 (neaktivní substance), 5 z 15 (0,5 mg/kg), 9 z 15 (1 mg/kg), 12 z 15 (2 mg/kg) a 13 z 15 (4mg/kg). Takto léčené skupiny.

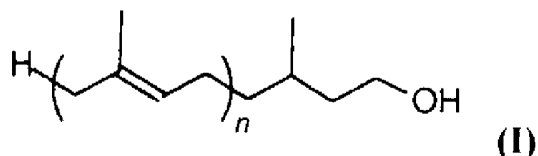
přijímající 1 mg/kg nebo více dihydroheptaprenolu, se statisticky liší ($P \leq 0,03$, jednostranné) od skupiny neaktivní substance. Počty plicních poranění jsou $18,9 \pm 8,4\%$ (placebo), $22,7 \pm 16,8\%$ (0,5 mg/kg), $15,6 \pm 14,1\%$ (1 mg/kg), $17,8 \pm 19,9\%$ (2 mg/kg) a $9,3 \pm 10,2\%$ (4 mg/kg). Počty plicních poranění u telat při podávání 4 mg/kg jsou výrazně nižší ($P = 0,03$, jednostranné), než u telat z placebo skupiny.

Tabulka 1. Systematický test ochrany u myši

Příklad č.	LD ₅₀	ED ₅₀ mg/kg
1	28,2	200
2	12	50
3	10	20
4	22	32
5	22	32,6
6	22	49,8
7	22	<25
8	25	<12,5
9	6	25,7
10	9	<25
11	25	<12,5
12	9	79,2

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Olejová směs pro parenterální podávání sestávající z dihydropropenolu vzorce (I),



kde n je celé číslo od 5 do 7,

a z farmaceuticky přijatelného oleje.

2. Dihydropolyprenol vzorce (I) podle nároku 1, kde n je číslo 6.
3. Dihydropolyprenol vzorce I podle nároku 1, kterým je dihydroheptaprenol.
4. Olejová směs podle nároku 1, kde uvedený olej je kokosový olej, saflorový olej, sezamový olej, sojový olej, bavlníkový olej, podzemnice olejná a minerální olej.
5. Olej podle nároku 1, kterým je kokosový olej.
6. Olej podle nároku 1, kterým je Miglyol.
7. Olej podle nároku 1, kterým je olej podzemnice olejná.
8. Olej podle nároku 1, kterým je sezamový olej.
9. Olej podle nároku 1, kterým je saflorový olej.
10. Olejovou směs podle nároku 1, kde je dihydropropenol vzorce (I) je přítomen v koncentraci od 1 mg/ml do 500 mg/ml.