

50.752/SZE

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

52395-2.

nyújtott hatás
Egyesült Szomatotropin

Kivonat

Készítmény polipeptidok nyújtott leadására előzetesen

MONSANTO COMPANY, ST. LOUIS, MISSOURI,

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A bejelentés napja: 1989. 12.12.

Elsőbbségei: 1988.12.13. / 283,685 /

1989.10.18. / 421,681 /

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A találmány stabil szomatotropin készítményekre vonatkozik, amelyek alkalmasak a szomatotropin infúziós készülékekkel hosszabb időtartamon át való bevitelére. A készítmény legalább kb. 10% biológiailag aktív szomatotropint, hatásos mennyiségű stabilizáló polietilén és egy puffert tartalmaz olyan pH előérése, amelyen a biológiai aktivitás hosszabb időn át fennmarad. Ilyen a kb. 4,5 - kb. 7 közötti vagy a szomatotropin izoelektromos pontja közötti pH tartomány, ha ez utóbbi 7-nél magasabb.

Gerald

10343

~~50.752/8ZE~~

S.B.G. & K.
Budapesti Nemzetközi Ügyvédi
és Szabadalmi Iroda
10 Budapest, Deák tér u. 10.
Telefon: 153-3733, 151-4200

A

**KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY**

65 13 / 89

52395-=-

N205 A 61K 37 136

ECjérel nyújtott hetero szomatotropin

✓ ~~Készítmény polipeptidok nyújtott leadására előállításra~~

MONSANTO COMPANY, ST. LOUIS, MISSOURI,

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

Feltalálók: AZAIN Michael Joseph, ATHENS, GEORGIA

KASSER Thomas Richard, CHESTERFIELD, MISSOURI

SABACKY Milton Jerome, BALLWIN, MISSOURI

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A bejelentés napja: 1988.12.12.

Elsőbbségei: 1988.12.13. / 283,685 /

1989.10.18. / 421,681 /

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A találmány szomatotropinek szabályozott leadást - hosszabb időtartam alatt - biztosító körülmények között történő adagolására, közelebbről egy továbbfejlesztett készítményre vonatkozik, amely szomatotropinek szabályozott leadást biztosító kü-

rülmények között állatoknak való beadagolására alkalmas.

A technika állása szerint számos különböző eljárást javasolnak parenterálisan bevitt szemtetrepinak szabályozott felszabadítására. Egy ilyen rendszernek, annak érdekében, hogy hatásos legyen, számos követelménynek kell eleget tennie.

Elsősorban a felszabadulás sebessége elég magas kell, hogy legyen a kívánt biológiai hatás elérése érdekében.

Másodszer: a felszabadulás sebességének elég alacsonynak kell lennie a túlادagolás elkerülésére vagy az aktív fehérje veszteség megakadályozására.

Harmadszer: a dózisnak elég magasnak kell lennie olyan tartalék képzése érdekében, amely hosszabb időtartamon át elégséges és ezen idő alatt a felszabadulás a kívánt biológiai hatás szempontjából megfelelő sebességgel megy végbe.

Negyedszer: a dózis-térfeget a parenterális bevitel egyszerűsége érdekében elég alacsony kell, hogy legyen.

Mivel minden egyes polipeptid különböző - pl. a háromdimenziós szerkezet és más anyagokkal való kölcsönhatás tekintetében -, lehetetlen előre látni, hogy magas polipeptid-bevitel mellett, megfelelő vívmányaggal, elérhető-e a szabályozott, hatásos felszabadulás. Mégis sok esetben ilyen nyújtott felszabadulást biztosító készítményeket kell kifejleszteni, ha a polipeptid biológiai aktivitását hasznos, gazdaságos módon kívánjuk érvényesíteni.

Az egyik megközelítés, a szabályozott felszabadulás biztosítására, a szemtetrepin olyan injektálható vagy beültethető mátrix alakú készítményként való kiszerezése, amely csökkenti a polipeptidnek a környező testfolyadékokban való oldódása se-

beaságét. Az egyik ilyen módszer szerint a szomatotropint egy biokompatibilis elajban diszpergálják, adott esetben egy hidrátálást gátló anyag jelenlétében / 1. az 1986.04.09-n közzétett 177,479 sz. európai szabadalmi bejelentést /. Egy másik megoldás szerint a szomatotropint egy vízeloldható vagy vízben diszpergálható szénhidrát-polimerekkel / amilyen a dextrin, dextrán vagy a különböző gumik / komplexszé alakítják. Ezt a komplexet viszik be parenterálisan oldat, diszperzió vagy pép alakjában /1. az 1986.09.10-n közzétett 193,917 sz. európai szabadalmi bejelentést /.

A 4,452,775 sz. amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírás szerint / szabadalmas Kent, a megadás napja 1984.06.-05. / a szomatotropint koleszterinnel készítik ki és komprimálják, beültethető mátrix kialakítása céljából. A 4,836,736 sz. amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírás / szabadalmas Azain et al., a megadás napja 1989.09.05. / beültethető pelleteket vagy tablettákat ismertet, amelyeket úgy állítanak elő, hogy a szomatotropint kötőanyag vagy mátrix nélkül tömörítik.

A polipeptidek esetében egy további lehetőséget nyújt a szabályozott felszabadulás mellett történő bevitelre egy elosztó vagy szivattyú alkalmazása, amely a polipeptid-készítményt tartalmazza. A biológiailag aktív anyagok folyamatos továbbítására számos különböző típusú infúziós berendezést javasolnak. A beültethető szivattyú egyik formája egy oszmetikus elosztó; ez egy oszmetikus anyagot és egy. az aktív komponenst tartalmazó készítményt foglal magában egy merev, félig átteresztő membránon belül. Ezen keresztül víz áramlik be a környező

szövetekből. A bekerült víz hatására az ozmotikusan aktív anyag térfogata megnő: ennek hatására az aktív anyag kilépni kényszerül a zárt térből és felszabadul, ennek következtében a gazdaszervezet által abszorbeálható.

Beültethető ozmotikus elesztékat írnak le a 3,995,632 sz. / szabadalmas Nakano et al. /, a 3,845,770 sz. / szabadalmas Theeuwes et al. / és a 3,760,805 sz. / szabadalmas Higuchi / amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírásban.

A Nakano által leírt elesztő egy alsó rekesszel rendelkezik, az elesztő alap-felületén: ez tartalmazza az ozmotikusan aktív anyagot, míg az aktív anyag egy második részben, az elesztő felső részében helyezkedik el. A két részt egy mozgatható gát vagy dugattyú választja el egymástól. Amint az ozmotikus anyag kiterjed, benyomja a dugattyút a második részbe: ennek hatására az aktív anyag egy kimenő nyíláson kilépni kényszerül. Ezt a szerkezet-típust "nyomással működő" beültethető eszkösként vagy elesztőként fogjuk említeni.

A Higuchi által leírt elesztő az aktív anyagot egy flexibilis zsákban tartalmazza; egy kilépő nyíláshoz kötődik ez a zsák, egy olyan térben, amelyben az ozmotikus anyag van jelen. Víz felszívásának hatására az ozmotikus anyag kiterjed, a zsák összehúszik és így az aktív anyag kilépni kényszerül a kimeneti nyíláson át. Erre a berendezés-főleségre, amelyben az aktív anyag egy zsákban foglal helyet, úgy fogunk hivatkozni, mint az "összehúzható zsák típusú" beültethető eszközre vagy elesztőre.

Számos más infúziós berendezést javasolnak, különösen inzulin bevitelére. Ezek közül egyeseket beültetnek, míg másokat a testen kívül viselnek; ezek kanüllel vannak ellátva az ak-

tív anyagnak a testfolyadékokba való injektálására.

Ezeknek az inzulin-adagolékknak mindegyikében az aktív anyag jellegzetesen egy adagolható készítményben van jelen, amely víz- vagy nemvízes lehet. A szomatotropinek esetében az egy hasonló infúziós rendszeren keresztül való bevétel nehézségekkel jár. A szomatotropinek molekuláris változásoknak vannak kitéve, amelyek ezeket biológiailag inaktívvá tehetik. Így pl. a szomatotropin molekulák hajlamosak dimerek és aggregátumok képződése közbeni összekapcsolódásra és ezek a termékek biológiailag nem aktívak. Ezt a tendenciát víz jelenléte általában gyorsítja.

Ezenkívül megfigyelték, hogy a dimerizálódási vagy aggregát-képzési tendencia fokozódik, ha a fehérje magas koncentrációban mobilis fázisban, pl. oldatban van jelen. Továbbá: a dimerek és aggregátumok képződése magasabb hőmérsékleten - így az állati test hőmérsékletén, amelybe az adagolót beültetik - intenzívebbé válik. Ily módon egy olyan jellegű koncentrált keverék, amely a parenterális bevétel szempontjából kívánatos, maximális mértékben sebezhető a biológiai aktivitás elvesztése tekintetében.

Emelendő még, hogy számos fehérje hormon vizsgálhatósága korlátozott. Szilárd hormon-részecskék jelenléte a készítményben, vagy ilyenek képződése kicsapódás következtében a szállítási folyamat közben csökkentheti a hormon hozzáférhetőségét a szivattyú továbbító vezetékeinek eltömődése révén stb. Ezeknek a problémáknak az elkerülésére úgy járhatunk el, hogy az aktív polipeptidet viszonylag alacsony koncentrációban alkalmazzuk a kiszerezelt készítményben, amelyet beadagolunk. Ezt

a megközelítést alkalmazzák pl. az inzulin infúziós berendezésekkel való bevitelére szolgáló készítmények kifejlesztése során. Az ilyen készítményekben az inzulin koncentrációját viszonylag alacsony értékre állítják be.

A technika állásából számos kísérlet ismerhető meg olyan jellegű fehérje hormonok bevitelére szolgáló készítmények kifejlesztésére, amelyek aggregálódásra hajlamosak. A 4,371,523 sz. amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírás / szabadalmas Grodsky et al. / pl. egy vizes készítmény előállítását írja le, amely az inzulin aggregációjának csökkentésére egy adalékanyagot tartalmaz. Az aggregáció ellen ható anyag egy olyan vegyület, amely 2 karboxil-csoportot és legalább 1 aminocsoportot tartalmaz. Különösen kitüntetett a glutaminsav és az aszparaginsav. Ezt az anyagot vizes rendszerben összekeverik az inzulinnal és a pH-t kb. az aggregáció ellen ható anyag izoelektromos pontjára állítják be.

A 4,439,181 sz. amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírás szerint / szabadalmas Blackshear et al. / glicerint vagy egy más poliolt kevernek össze a vizes fehérje hormon oldattal, mielőtt azt bevinnék a gyógyszer-adagoló rendszerbe kerülő oldatba. A glicerint vagy más poliolt ahhoz megfelelő mennyiségben adagolják, hogy megakadályozza a fehérje kicsapódását a hosszabb időtartamu tárolás során. A fehérje/poliol oldatot egy beültethető infúziós szivattyú nyomás alatt álló gyógyszer-tároló tartályába injektálják. A leírásban közölt kiviteli példák inzulint tartalmazó készítményeket írnak le.

A 4,675,184 sz. amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírás / szabadalmas Hasegawa et al. / vírusos betegségek ke-

zelésére szolgáló interferon készítményeket ír le. A keverékek összetétele a következő:

15-60% triol vagy magasabb polihidroxiles cukeralkohol / előnyösen glicerín /,

egy szerves puffer a pH 3-6 értéken való tartására,

egy szokásos gyógyászati vízóanyag vagy hígító és hatásos mennyiségű humán interferon.

Stabilizáléként a keverék egy anionos felületaktív anyagot vagy albumint is tartalmazhat. Pufferként citrát, szukcinát, tartarát, fumarát, glukonát, oxalát vagy acetát alkalmazható. Szervetlen pufferek - pl. foszfátok - a közölték szerint nem fekezzák az interferon stabilitását.

A WO 85/02118 sz. PCT közzétételi irat / bejelentő Wigness et al. / glicerín alkalmazását írja le a fehérjék - pl. hormon-készítmények - kicsapódásának megakadályozására olyan gyógyszer-adagoló berendezésekben, amelyek megfelelő működése az infundált anyag fluiditásának függvénye. Puffert - pl. foszfát-puffert - alkalmaznak annak érdekében, hogy a pH-t a fehérje pH-optimumához képest 1 pH-egységen belül tartsák. Így megőrizhető a fehérje biológiai aktivitása. Az optimális pH az inzulin-szulfát esetében a leírtak szerint 3,5 és a standard semleges inzulin esetében 7,4. A találmány kinyilvánított célkitűzése

az inzulin izoelektromos pH-jának / 5,4 / elkerülése, amely kicsapódáshoz vezet, és

a lúgos / 8-nál magasabb / pH elkerülése, amely a fehérje denaturálódását váltja ki.

A szabadalmi leírás 1. példája olyan készítményt ismertet,

amely 20-40 egységsnyi / kb. 1-2 mg / sertés-inzulint / milliliterenként /, 0,2% fenolt, 12 mM nátrium-hidrogénkardenátot és 80 térf.% glicerint tartalmaz. Az ismertetett készítmények alkalmasak egy beültethető infúziós szivattyú segítségével való bevitelre. Bár a konkrét tárgyalás inzulinra korlátozódik, a leírás megállapítja, hogy más infundálható fehérjék, így a növekedési hormon, a glukagon stb. ugyancsak ki van téve ugyanazeknek a kicsapódási problémáknak.

A találmány több tárgya közül az egyik egy olyan adagolható készítmény előállítása, amely alkalmas egy szemototropin hosszabb időtartamon át való bevitelére egy beültethető adagolóból, így egy szemotikus adagolóval. További tárgyai a következők:

- olyan készítmény előállítása, amely a szemototropint nagy koncentrációban tartalmazza;
- olyan készítmény előállítása, amelyben a szemototropin kémiaiilag stabil és bioaktív marad, megőrzi fizikai stabilitását és hosszú tárolási időszakok alatt nem képez csapadékot, valamint kémiaiilag stabil, bioaktív és fizikailag stabil marad testhőmérsékleten olyan időtartamon át, amelyet a szemototropin tartós bevitelének megkíván és
- olyan készítmény előállítása, amely a testhőmérsékleten könnyen adagolható.

Tehát röviden összefoglalva a találmányt: ennek célja adagolható szemototropin készítmény előállítása, amely legalább kb. 10% bioaktív szemototropint / előnyösen szarvasmarha- vagy sertés-szemototropint /, hatásos mennyiségű stabilizáló adalék - ez 3 hidroxilcseportet tartalmaz, mint a glicerint vagy

a triszz/hidroxil-metil/-aminometán - és megfelelő mennyiségű puffert tartalmaz . Ez utóbbi rendeltetése a pH olyan tartományban való tartása, amelyben a szematetropin megőrsi biológiai aktivitását megfelelő időtartamon át annak érdekében, hogy a készítményt hatásosan alkalmazhassuk a szematetropin egy állati szervezetbe való tartós bevitelére.

Egy kitüntetett kiviteli mód esetében a készítmény pH-ját kb. 4,5 és vagy kb. 7 vagy kb. a szematetropin izoelektromos pontja / a kettő közül a magasabb / közötti pH-ra állítjuk be. Kitüntetett puffer pl. a hisztidin-hidroklorid, egy alkálifoszfát puffer, a trisz/hidroxil-metil/-aminometán-hidroklorid és egy citrát-puffer vagy bármely más puffer, amellyel a kívánt pH elérhető.

A készítmény tartalmazhat egy nedvesítőszert is annak a sebességnek a növelésére, amellyel a higító folyadék felveszi a szematetropint.

A találmány további tárgya: eljárás a szematetropin állati szervezetbe való bevitelére, azzal jellemezve, hogy az állatba egy bizonyos időn át az előbbieken leírt készítményeket visszük be infúzióval.

A találmány szerinti eljárás - a fent leírt szematetropin-készítmények előállítására - abból áll, hogy a polietilén és egy viaszos puffer-oldatot, és kívánt esetben a felületaktív anyagot összekeverjük, a szematetropint ezzel a higítóval nedvesítjük és így egyfázisú készítményt nyerünk.

Az ábrák rövid leírása a következő:

Az 1. és 2. ábra beültethető, szmózisnyomás hatására működő infúziós berendezések vázlatát mutatja be.

A 3., 6., 7. és 8. ábra a 2., 5. és 6. példa szerint vég-

zett patkány-tenyésztési vizsgálatok eredményeit mutatja be grafikusán.

A 4. és 5. ábra grafikusán ábrázolja a 3. példa szerinti dimer/aggregátum képződési vizsgálatok eredményeit.

A 9. ábra a 10. példa szerinti tejtermelési vizsgálatok eredményeit ábrázolja grafikusán.

A kitüntetett megvalósítási módokat a következőkben ismertetjük.

A rekombinációval előállított szomatotropinek általában lúgos körülmények között különítjük el és tisztítjuk. Ebből következően a szomatotropin vizes oldatai lúgosak lehetnek, a visszamaradó lúgos puffer / pl. nátrium-hidrogénkarbonát / jelenléte hatására. Kimutattuk, hogy az ilyen vizes oldatok jelentős biológiai aktivitással rendelkeznek. Míg a híg szomatotropin oldatok magas pH-n stabilak lehetnek, a magas pH-ju szomatotropin oldatok - különösen magas koncentrációk mellett - legalább bizonyos mértékben hajlamosak mutatni a kémiai instabilitásra. A szomatotropin hajlamos dimerek és aggregátumok képzésére, amelyek gyakran nem rendelkeznek a nem-agglomerálódott fehérje hormon biológiai aktivitásával.

Bár azt találtuk, hogy a szomatotropinek kémiai stabilitása növelhető a vizes rendszer pH-jának csökkentésével, az optimális kémiai stabilitás rendszerint az izoelektromos pont-hoz viszonylag közeli pH-tartományban érhető el, amelyben a fehérje oldhatósága minimális. Ennek következtében azok az oldatok, amelyek kielégítő kémiai stabilitással rendelkeznek, fizikailag általában nem stabilak, azaz a fehérje kicsapódásra hajlamos. Ezzel szemben a magas oldhatóság fenntartására meg-

felelő pH-ju oldatok kémiai általában nem stabilak, azaz biológiai aktivitásukat az időben elég gyorsan elvesztik.

A találmány szerint azt találtuk, hogy egy adagelható szomatotropin készítmény fizikai stabilitása, kémiai stabilitása és biológiai aktivitása / a készítmény magas szomatotropin koncentrációja mellett / megőrizhető oly módon, hogy jelentős mennyiségű poliolt adagelünk, és pufferelünk a rendszer pH-jának olyan szinten való tartására, amelyen a dimerizáció és az aggregátum-képződés gátolt.

A fehérje hermen oldatbavitele még az izoelektromos ponthoz aránylag közeli pH-n is elérhető. A találmány szerinti készítmények jelentős mennyiségű szomatotropint tartalmaznak; jelentős / az előállítás időpontjának megfelelő / biológiai aktivitást mutatnak; ezt a bioaktivitás-szintet még hosszabb tárolási időtartam után is megőrzi és nem hajlamosak arra, hogy a szomatotropin kicsapódjék a felyadékfázisból. A találmány szerinti adagelható készítmények alkalmasak egy infúziós elesztéből, különösen egy ozmotikus elesztéből való szabályozott felszabadulás előérésére.

A találmány szerinti eljárással különböző szomatotropinek hatékonyan alakíthatók át készítményekké. Példák a találmány szerint használható szomatotropinekre:

- madár-szomatotropinek, csirke, pulyka stb. kezelésére;
- viszálállatok szomatotropinjai, hal stb. kezelésére és különösen
- emlős-szomatotropinek, ember, szarvasmarha, sertés, juh, kecske stb. kezelésére.

Különösen hasznos a szarvasmarha - és a sertés-szomatotropin.

Előnyösen rekombináns DNS technikát alkalmazunk a szomatotropin mikrobiológiai úton való kifejezésére, mivel ez a módszer jelentős mennyiségű szomatotropin termelésére képes. Ezenkívül a rekombináns DNS technikák lehetővé teszik variánsok termelését, amelyek vagy hasonló szekvenciával rendelkeznek, mint a természetben előforduló szomatotropinek, vagy különböznek attól.

A természetben előforduló szarvasmarha és sertés szomatotropinok szekvenciáját Seeburg et al. / DNA, vol. 2, No.,1, p. 37-45, 1983 / írja le; ezt a helyet a hivatkozás révén a leírás részévé tesszük.

A szarvasmarha szomatotropin variánsok közé tartoznak / de nem kerülőeződnek ezekre / a következő aminosav-szekvenciával rendelkező polipeptidok; ezekben a nem-meghatározott aminosav maradékok hasonlóak a természetben előforduló szomatotropinokban találhatóakhoz:

NH₂-met-fe/1/-pre/2/....leu/126/....fe/190/-COOH

- " -val/126/.... - " -

NH₂-ala-fe/1/-pre/2/.... - " - - " -

- " -leu/126/.... - " -

NH₂-fe/1/-pre/2/.... leu/126/....fe/190/-COOH

- " - val/126/.... - " -

NH₂-met-asp-glu-fe/1/-pre/2/....leu/126/....fe/190/-COOH

- " -val/126/.... - " -

NH₂-met/4/-szer/5/....leu/126/....fe/190/-COOH

- " -val/126/.... - " -

NH₂-met-fe/10/....leu/126/....fe/190/-COOH

- " -val/126/.... - " -

Az előbbi jegyzékben szereplő első változatra - amelyben egy metienil-mara-dék alkotja az N-terminálist és egy leucin-maradék van jelen a 126. helyzetben - a leírásban úgy fogunk hivatkozni, mint metienil-szarvasmarha-szomatotropinra /"MBS"/ és a jegyzékben feltüntetett harmadik változatra - amelyben egy alanil-maradék képezi az N-terminálist és valil-maradék van jelen a 126. helyen - úgy hivatkozunk, mint alanil-valil-szarvasmarha-szomatotropinra / "ala-val-BST" vagy "A-BST" /.

A sertés -szomatotropin változatok közé tartoznak / de nem kerülőezednek ezekre / a következő aminosav-szekvenciával rendelkező polipeptidek, amelyekben a nem-meghatározott aminosav-csepertek hasonlóak a természetben előforduló szomatotropinokban jelenlevőkhöz:

$\text{NH}_2\text{-ala-fe/1/....fe/190/-COOH}$

$\text{NH}_2\text{-met-fe/1/....fe/190/-COOH}$

$\text{NH}_2\text{-met/4/-pre/5/....fe/190/-COOH}$

$\text{NH}_2\text{-met-leu/6/....fe/190/-COOH}$

$\text{NH}_2\text{-met-szer/8/....fe/190/-COOH}$

$\text{NH}_2\text{-met-fe/10/....fe/190/-COOH}$

Az előbbi jegyzékben szereplő első változatot - amely alanil-csepertet tartalmaz N-terminálisként - úgy fogjuk említeni, mint alanil-sertés-szomatotropint vagy "APS"-t. A felsorolásban másodikként említett változatra a leírásban úgy fogunk hivatkozni, mint metienil-sertés-szomatotropinra vagy "MPS"-re.

Magától értetődő, hogy az előbbieken leírt változatokon jelenlevő további N-terminális metienil-csepertek ugyancsak eltávolíthatók, az expresszió előtt vagy után.

Ugyancsak magától értetődő, hogy egy vagy több aminosav el-

hagyható az alábbi szekvenciából / amely az előzőekben leírt szarvasmarha és sertés szomatotropin szekvencia 32-38 tagjának felel meg /:

-glu-arg-ala-tyr-ile-pro-glu-.

Ezt a deléció-típust írja le a 282,318 és 282,319 sz. - 1988.09.14-n közzétett - európai szabadalmi bejelentés.

Más, szomatotropin aktivitással rendelkező deléciós variánsok / pl. azok, amelyekben a 32.-45. aminosav hiányzik / ugyan- csak használhatók.

A találmány szerinti készítményben való bevétel esetében a leghatékonyabbnak azokat a szomatotropineket találtuk, amelyek N-terminális csoportja metionintól eltérő. Egyes N-metionil-szomatotropinek erősen csökkent biológiai aktivitást mutatnak a pufferezett poliel készítményben. Kitüntetett szomatotropin az APS és az A-BST.

A "stabilizáló poliel" kifejezés bármely, 3 hidroxil-csoportot tartalmazó polielt jelent, amely a szomatotropint fizikailag stabil készítményként tartja fenn, azaz arra vezet, hogy a szomatotropin nem csapódik ki nemkívánt mértékben egy egyszerű tárolási vagy adagolási periódus során. Kitüntetett poliel a glicerín, de használhatunk más polieleket is, amilyen pl. a trisz/hidroxil-metil/amino-metán.

A készítménybe egy fiziológiailag kompatibilis puffert viszünk be, annak érdekében, hogy a készítmény pH-ját azon a tartományon belül tartsuk, amelyben a szomatotropin biológiai-
gailag aktív. Az oldat pH-ja általában min. kb. 4,5 vagy előnyösen kb. 5 vagy még előnyösebben 5,7 és max. kb. 7 ill. kb. a szomatotropin izoelektromos pontja / a két utóbbi érték kö-

zúl a nagyobb /.

Az APS izoelektromos pontja 7,6; az MPS-é 7,3 és az A-BST-é 8,6. Ezek az izoelektromos pont értékek a standard monomer formáknak felelnek meg, amelyek az ilyen szomatotropinek kereskedelemben hozzáférhető tételeiben rendelkezésre állnak.

Más változatok, más származékok és más alakok izoelektromos pontjai a szokásos módszerekkel határozhatók meg. Az APS esetében az optimális pH a kb. 6,1 - kb. 7,0 tartományban van, míg az A-BST esetében kb. 6,1 - kb. 7,5 között. Bár különböző pufferek alkalmazhatók, előnyben részesítjük az alkálifém-foszfát puffereket. A kívánt pH tartományban fellépő puffer-hatás elérésére különösen előnyös, ha a puffer lényegében egy monobázisos foszfát, amilyen pl. a nátrium- vagy kálium-dihidrogén-foszfát.

Egy másik hatásos puffer a pH-nak a kívánt tartományban való beállítására egy hisztidin-hidrogén-halogenid, pl. a hisztidin-hidreklerid.

További pufferek, amelyek fenntartják ezt a pH-tartományt, a citrát-pufferek és a trisz/hidroxil-metil/amino-metán savaddíciós sói, pl. hidrekleridja. Ezek a trisz/hidroxil-metil/-amino-metán-sók hidroxil-cseperteket is tartalmaznak és egyes esetekben stabilizáló polielként hathatnak. Bármely más puffer is alkalmazható, amely képes a pH-nak a kívánt tartományban való tartására.

Közbevetőleg meg kell jegyeznünk, hogy a találmány szerinti készítmény pH-jának közvetlen mérése nem feltétlenül elvégezhető meg minden esetben. Gyakorlatilag a mérés elvégzésére úgy járhatunk el, hogy kismennyiségű / pl. 1 cseppnyi / ké-

szitményt bemérünk kb. 10 ml vízbe és meghatározzuk a kapott keverék pH-ját. Feltételezhető, hogy ezzel a méréssel erősen megközelítjük a készítmény tényleges pH-ját és mindenesetre az ilyen hígításban mért pH-t a leírás céljaira azonosnak tekintjük magának a készítménynek a pH-jával.

Annak elősegítésére, hogy a készítmény előállítása során a puffer/poliol hígító nedvesítse a szomatotropint, előnyösen egy nedvesítőszer is alkalmazunk, amilyen egy nemionos felületaktív anyag. Ez a felületaktív anyag egyben gátolja a habzást. Különösen kitűntetett nemionos felületaktív anyag egy poli-etoxilezett szerbitán-észter, pl. a szerbitán-mono-oleát tri/poliexi-etilén/-észtere / a kereskedelemben Tween 80 néven szerezzhető be, gyártja az ICI Americas Inc. /.

Pufferezett poliol hígító alkalmazása a szomatotropin esetében assal a jelentős előnnyel jár, hogy nagy terhelés érhető el, mivel a szomatotropin igen jól oldható a hígító folyadékokban. Ezenkívül annak ellenére, hogy a szomatotropin nagy koncentrációban van jelen egy készítményben, amely jelentős mennyiségű vizet is tartalmaz, a puffer által fenntartott pH megakadályozza dimerek és más aggregátumok képződését. Bár nem határoztuk meg, hogy a szomatotropin valódi oldatban vagy kolloid oldatban van jelen, a szomatotropin nem csapódik ki vagy másként sem válik ki a hígítóból, sem állás közben, sem annak a surlódásnak a hatására, amely akkor lép fel, amikor a készítmény áthalad a kivezető szakaszon és kinyitja az infúziós pumpát.

A szomatotropin koncentrációja a készítményben legalább kb.

10 tömeg%, előnyösen legalább kb. 15 tömeg%, előnyösebben legalább kb. 20 tömeg% és még előnyösebben legalább kb. 25% vagy akár 30 tömeg% fölötti érték. A szomatotropin koncentráció elérhet magas értéket, így kb. 45 tömeg%-et is; értéke előnyösen kb. 40 tömeg%, előnyösebben kb. 35 tömeg%.

A poliol-koncentráció legalább kb. 20 vagy 25 tömeg% és maximális értéke 80, 70, 60, 50 vagy 40 tömeg%. Aránylag magas glicerín-koncentráció ezenkívül bakteriosztatikus hatást fejt ki. Általában az venhető figyelembe, hogy egy legalább kb. 50 tömeg% glicerint tartalmazó hígító bakteriosztatikus hatást fejt ki.

A készítmény továbbá előnyösen tartalmaz egy nedvesítőszert, így egy nemionos felületaktív anyagot, amelynek optimális koncentrációja kb. 0,01 vagy kb. 0,5 tömeg% és kb. 0,7 vagy 1 tömeg% között helyezkedik el, esetleg 2 tömeg% a felső határ.

A készítmény pH-ját - eltekintve a puffer-sótel, amelynek mennyisége egy foszfát-puffer esetében általában 4-7 tömeg% - a víz határozza meg. Kitüntetett esetben a készítmény legalább kb. 7% , előnyösebben legalább kb. 15% vizet, és még előnyösebben kb. 25 - kb. 35 tömeg% vizet tartalmaz.

A készítmény általában tiszta, homogén és egyfázisú. Kb. 4°C tárolási hőmérsékleteken a készítmény szilárdnak vagy félig szilárdnak tűnik. Az állati test hőmérsékletén a készítmény viszkozitása csökken és viszkozus folyadék képződik. Ily módon a készítmény minden hőmérsékleten adagolhatóvá válik anélkül, hogy könnyen folyó anyag lenne.

A készítmény viszkozitásának a hőmérsékletváltozás hatására fellépő változása egy olyan készítmény viszkozitása példá-

ján szemléltethető, amely 33% APS-t, 33,5% glicerint és 33,5% 1M mononátrium-foszfat puffert tartalmaz. 10°C-en ennek a készítménynek a viszkozitása 2,000,000 centipeise-nál nagyobb, 25°C-en kb. 215,000 centipeise és 37°C-en kb. 23,000 centipeise.

A találmány szerinti viszonylag hig készítményekben / amelyekben a szematetropin koncentrációja kb. 25% alatti / kívánatos a szematetropin lényegében állandó tömegarányának fenntartása mind a vízhez, mind a pufferhez képest és olyan poliel-arányok alkalmazása, amelyek a szematetropin-koncentráció csökkenésével növekednek.

Pl. azt találtuk, hogy egy 44% glicerint tartalmazó 10%-os APS oldat esetében bizonyos mennyiségű APS kicsapódhat, de egy 78% glicerint tartalmazó készítményt fizikailag stabilnak találtunk. 25%-nál kisebb szematetropin koncentrációk esetében a szematetropin/víz arányt előnyösen a kb. 0,9 - kb. 1,1 tartományban, míg a szematetropin/foszfat-puffer tömegarányt a kb. 5,5 - kb. 7 tartományban tartjuk. Az adott esetben alkalmazott nedvesítőszerrel eltekintve előnyösen úgy határozzuk meg a 25%-nál kevesebb szematetropint tartalmazó készítmények összetételét, hogy azok főtömege lényegében poliel legyen.

Növekvő szematetropin-koncentráció mellett / ha pl. a szematetropin koncentrációja 25% fölé emelkedik / a víznek és a puffernek a szematetropinhez viszonyított mennyisége előnyösen csökken, mimellett a poliel-koncentrációt a lehető legmagasabb értéken tartjuk. A poliel-tartalmat azonban limitálják a viszkozitásra vonatkozó megrendelések: így a 25%-nál magasabb hormon-tartalmu készítmények esetében a maximális poliel-

-koncentráció kb. 40-45%. Magasabb pellet-koncentrációk előnyösek a fizikai stabilitás szempontjából, de olyan viszkozitást eredményezhetnek, amely bonyolulttá teszi a készítmény kezelését.

A találmány szerinti készítmények kémiai stabilitását a tárolás alatt a hőmérséklet és a tárolási idő egy kombinációs tartományán belül tarthatjuk fenn. Szobahőmérsékleten pl. egy optimális ASP-készítmény 6 hónapra vagy ennél hosszabb időn át tárolható a biológiai aktivitás kimutatható csökkenése nélkül. Testhőmérsékleten van bizonyos mértékű bioaktivitás-vesztés, de a csökkenés sebessége mérsékelt és az idővel lineáris. A készítmények teljes mértékben megőrzik a megfelelő biológiai aktivitást sokkal hosszabb időn át, mint amekkorára a legtöbb alkalmazás esetében szükség van.

Ennek következtében a készítmények hasznosak azoknak az ismert biológiai hatásoknak az elérése szempontjából, amelyek a szomatotropinek bevitelére révén biztosíthatók. Ilyen biológiai hatások pl. a következők:

- a tejtermelés fokozása emlősökben a laktációs periódusban,
- a tápanyag-hasznosítás fokozása,
- a növekedés gyorsítása,
- a tejmirigyek funkcióképességének növelése és
- a zsír/hús arány javítása.

Az elért eredmények függnek a szomatotropin bevitt mennyiségétől és az állat laktációs státuszától ill. növekedési fázisától / azaz attól, hogy az állat a laktációs periódusban van, vemhes stb. /. A találmány szerint szabályozott felszabadulás érhető el, egyetlen adag révén, amely hatás kb. 6 héten

vagy ennél hosszabb időtartamon át fennáll.

A találmány szerinti eljárás alapján egy hígító folyadékot állítunk elő, a poliell és a puffer összekeverésével. A puffer-oldat kiindulási pH-ja előnyösen a kb. 4,0 - kb. 4,4 tartományba esik. A puffer előnyösen egy alkálifém-dihidrogén-foszfátot tartalmaz, előnyösen 0,5 - 2,0 M koncentrációban, vizes oldatban és ezt az oldatot keverjük össze a poliellal. Az anionos felületaktív anyagot előnyösen azelőtt adjuk a poliellhoz, mielőtt azt összekevernénk a puffer-oldattal. A hígító folyadékot általában sterilizáljuk / pl. steril szűrőssel /, majd a steril, szűrt hígítót a szematetropinnal való összekeverés előtt felmelegítjük.

A találmány szerinti eljárás egyik megvalósítási módja szerint szematetropin port adagolunk a sterilizált hígító folyadékhoz. Mielőtt azonban a szematetropin port hozzáadnánk a folyadék főtömegéhez, előnyösen nedvesítjük a hígítóval. Ez különböző módokon végezhető el.

A keverés történhet pl. egy kevertetett edényben, pl. egy lapátkeverővel ellátott tankban. Ilyen körülmények között a folyadék főtömegét mechanikusan keverjük, olyan sebességgel, amely elégséges ahhoz, hogy hullámokat keltsen a felületen és így elősegítse a por nedvesítését, de ezen sebesség alatt, amelynek hatására légbuborékok lépnek be a folyadék főtömegébe. Amikor a por a hígító főtömegének felületén nedvesítetté válik, egy "krémszerű réteg" képződik abban a részben, amelyből a nedvesített por átkerül a folyadék főtömegébe. A keverés továbbá azt a célt szolgálja, hogy a nedvesített por dispergálódjék a folyadék főtömegében, amelyben a találmány szerinti készítmény keletkezése közben oldódik.

Egy másik megvalósítási mód szerint a keverés egy ferge üvegben vagy dobben végezhető. Bármilyen keverési módszer alkalmazható, de előnyben részesítjük azokat, amelyek minimális surlódással járnak és így minimálisra csökkentik a levegő bevonását. Annak érdekében, hogy az elnyelt gázokat eltávolítsuk a készítményből, úgy járhatunk el, hogy azt kevertetés nélkül magasabb hőmérsékleten állni hagyjuk, amíg a bekerült levegő eltávozik.

A találmány szerinti készítmény bármilyen típusu infúziós adagoló berendezéssel bevíhető a szervezetbe. Előnyben részesítjük a beültethető továbbító szerkezeteket. Különösen előnyösek az eszetikus hajtáselven alapuló beültethető adagoló berendezések. Lényeges, hogy a szomatotropin-készítmény védett legyen a beültethető pumpát környező testfolyadékok által való szennyeződéstől. Ez úgy érhető el, hogy a készítményt egy olyan elosztókamrában tartjuk, amely a környező folyadékokkal szemben hatáse mértékben féligáteresztő.

Az 1. és 2. ábra beültethető, eszetikus működésű adagolók vázlatát mutatja be.

Az 1. ábra egy nyomásees típusu adagoló keresztmetszetét tünteti fel. Egy ilyen típusu adagoló esetében az adagoló 1 és 2 fala merev szerkezetet képez, amely magában foglalja a 3 és 5 kamrából álló szakaszt, mimellett ezeket a kamrákat a 4 szivattyu választja el. Az 5 "eszetikus meter" kamra egy eszetikusan aktív anyagot tartalmaz, amilyenek pl. a következők:

- egy vízeláható ső vagy egy vízeláható ső telített oldata;
- egy víz hatására duzzadó polimer, amelyre a továbbiakban mint hidrogélre fogunk hivatkozni;
- vagy egy hidrogél és egy vízeláható ső keveréke.

Az eszetikus aktivitásu anyagokra példákat találhatunk a 3,995,632 sz. amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírásban / szabadalma: Kakano et al. / és a 4,327,725 sz. amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírásban / szabadalmas Certese et al. /, amelyeket e hivatkozás révén a leírás részévé tesszünk.

Előnyben részesítjük azt a megoldást, amikor az esmerikusan aktiv anyag egy hidrogél vagy egy hidrogél és egy visoldható só keveréke.

A 2 falnak az "eszetikus meter kamrát" körülvevő szakasza legalább részben vízáteresztő kell, hogy legyen, annak lehetővé tételére, hogy víz szivárogjon be az "eszetikus meter" kamrába.

A féligáteresztő fal elkészítésére megfelelő anyagok a szakember számára eszésis- vagy fordított eszésis membránok gyanánt ismert anyagok közül kerülhetnek ki; ezekből néhányat a Certese-f. szabadalmi leírás ismertet.

Amint víz lép be az eszetikus meter kamrába, ennek mérete megnő és ennek hatására a 4 dugattyu benyomódik a hatóanyagot tartalmazó 3 kamrába. A hatóanyagot tartalmazó kamrában a találmány szerinti készítmény van jelen, amely a 6 nyíláson keresztül kipréselődik, amint a dugattyu előremozog.

A dugattyu előállításához megfelel bármilyen anyag / pl. viass vagy egy elastomer /, amely deformálható, oly módon, hogy érintkezésben maradjon az adagoló falával, amint az előrehalad, annak elkerülésére, hogy érintkezés jöjjön létre a szomatotropin készítmény és az eszetikus meter között.

A hatóanyagot tartalmazó kamra fala vízátnemeresztő vagy

lényegében vízátnemeresztő kell, hogy legyen, hogy így megvédje a szomatotropin-készítményt a környező testfolyadékokkal való szennyeződéstől, ami káros lehet a készítmény stabilitása szempontjából. A vízátnemeresztés azáltal érhető el, hogy a falat vízátnemeresztő anyagból állítjuk elő; vagy egy vízátnemeresztő bélést alkalmazunk ill. vízátnemeresztő bevenetet viszünk be.

Ez a feladat pl. a következő jellegzetes polimerek alkalmazásával oldható meg:

vízátnemeresztő polietilén, poli-tetrafluor-etilén, polikarbonát, polistirel, poliamid, poliformaldehid, polimelamin-formaldehid, poliszulfon, stirel-butadién-gumi, vízátnemeresztő poliuretán, polipropilén, polivinil-klorid stb.

A 2. ábra egy összecukható zsák típusú adagolót mutat be, amely a kereskedelemben hozzáférhető / Alzet^R ozmotikus szivattyú, gyártja az Alza Co. /. A 13 szomatotropin-készítményt a 12 vízátnemeresztő flexibilis zsákban helyezzük el. Ezt a zsáket egy 11 merev, vízre félig áteresztő fal veszi körül. A zsák és a fal között található a 14 ozmotikusan aktív anyag. Amint a falon keresztül a környező testfolyadékokból víz szivárog be, az ozmotikusan aktív anyag térfogata megnő, ennek hatására a zsák bezárul és a szomatotropin-készítmény kilépni kényszerül a 15 adagoló csövön keresztül. A szerkezetet egy 16 dugó és egy 17 perem fogja össze és zárja le.

A külső membrán egy cellulóz-észter-keverék, míg az összecukható zsák egy hőrelágyuló szénhidrogén elastomerből készül.

A szakember számára más típusú beültethető ozmotikus adagolók és más típusú infúziós pumpák is ismertek.

Az elosztó kapacitása, a találmány szerinti készítmény szematotropin-koncentrációja és az adagolóból való kilépés sebessége egyaránt szabályozható annak elérésére, hogy a készítményt a kívánt sebességgel a kívánt időtartamon át adagoljuk. A kitüntetett adagolási sebesség függ az elérni kívánt biológiai hatás típusától és az állatfajtától, ill. ennek méretétől.

Sertések hizlalásának befejezésére pl. kitüntetett adagolási sebesség a kb. 0,5 mg/nap - kb. 10 mg/nap szematotropin-tartomány, előnyösen a kb. 1 mg - kb. 5 mg /nap szematotropin. Szarvasmarhák esetében a laktáció fekozására, a növekedés gyorsítására vagy a tápanyag-hasznosítás javítására a kitüntetett adagolási sebesség a kb. 2 mg - kb. 60 mg/nap szematotropin tartományba esik és előnyösen kb. 5 mg - kb. 25 mg szematotropin/nap.

Sebes-hizlalás befejezése esetében a hatásos adagolási időtartam 6 hét vagy ennél több, míg szarvasmarhák esetében 10-12 hét vagy ennél több.

A találmányt a következő példákkal illusztráljuk.

1. példa

Higitét állítunk elő oly módon, hogy 1,0 M nátrium-foszfát oldat előállítására monobázisos nátrium-foszfát-monohidrátet oldunk vízben; az oldat pH-ja 4 - 4,8. Ehhez a puffer-oldathoz glicerint és Tween 80-at adunk olyan higité előállítására, amely 1% Tween, 49,5% glicerint és 49,5% 1,0 M nátrium-foszfát oldatot / ill. ennek egyenértékét / tartalmazza.

Az előbbiek szerint előállított higitét alkalmazva egy sorozat APS/foszfát/glicerint készítményt állítunk elő, fecskén-

dőkben. Ezeknek a készítményeknek az előállítása során az APS port bemérjük a fecskendő-testbe, amelyből a dugattyút eltávolítottuk. Előre meghatározott mennyiségű hígítót adunk be a fecskendőbe, a dugattyút visszahelyezzük és a levegő nagyrészt eltávolítjuk a kilépő nyílásból. A fecskendőt ezután szobahőmérsékleten 2-3 ford./perc sebességgel forgatjuk és/vagy több órára 37°C hőmérsékletű inkubátorba helyezzük. Tween 80 hozzáadása elősegíti oldat képződését.

Hasonló módon egy készítmény-sorozatot állítunk elő lapátos keverővel ellátott edényekben. Optimális keveredést olyan keverési sebesség beállításával érünk el, amely elégséges hullámkeltéséhez a folyadék felszínén, de elég alacsony a levegő belépésének minimálisra csökkentéséhez.

2. példa

Vizes APS-készítményt állítunk elő, amely 30 tömeg% APS-t, 33,5 tömeg% glicerint, 33,5 tömeg% vizet és kellő mennyiségű / kb. 3 tömeg% / hisztidin-hidrokloridot tartalmaz kb. 6,0 pH-jú készítmény előállítására.

Összehasonlítás céljából további oldateket állítunk elő, amelyek összetétele:

- 30 % APS vízben,
- 30% APS megfelelő mennyiségű hisztidin-hidroklorid puffert - pH 6,0 beállításához - tartalmazó vízben,
- 30% APS megfelelő mennyiségű hisztidin bázist - a pH 8,5-re való beállításához - tartalmazó vízben és
- 30% APS 50%-os glicerinnben.

Az oldat végső összetétele így: 30% APS, 35% glicerinn és 35% víz.

Az oldatekat 4 napon át 37°C-en tartjuk, majd a dimer-képződés mértékének meghatározására nagyság alapon kizáróosan HP-LC-nek vetjük alá / nagymennyiségű dimer képződése a kémiai stabilitás hiányára mutat /.

Az oldatekat szemmel megvizsgáljuk a zavaresság megállapítására; ez a készítmény kicsapódására és a fizikai stabilitás hiányára mutat.

Ezeknek a vizsgálatoknak az eredményeit az 1.Táblázatban mutatjuk be.

1.Táblázat

	Víz	Hisz-HCl	Hisz-bázis 50%glicerín v i z b e n	Hisz-HCl 50% gli- cerinben	
	---	-----	-----	-----	
pH	9,5	6,0	8,5	9,5	6,0
dimer,%					
HPLC	46,7	3,5	27,4	36,0	2,1
fizikai					
stabilitás	+	-	+	+	+
kémiai					
stabilitás	-	+	-	-	+

+ : a készítmény stabilitása jó

- : a készítmény stabilitása alacsony

Az APS/hisztidin-HCl/víz és az APS/hisztidin.HCl/glicerín/-

viz készítmények biológiai aktivitását felnőtt nőnemű patkányokkal végzett kísérlettel határozzuk meg. A kísérleti előírás szerint /^{ivar} érett nőnemű Harlan, Sprague-Dawley patkányokba / 220 g / a vizsgálandó oldatot tartalmazó Alzet-pumpákat ültetünk be. A pumpába bemért oldat térfogata mindegyik patkány esetében azonos. Megfigyeltük azeknek a patkányoknak a tömeg-gyarapodását, amelyekbe a két vizsgált oldatot tartalmazó pumpák valamelyikét beültettük.

Ezeknek a kísérleteknek az eredményeit a 3. ábrán diagramban mutatjuk be. Bár mindkét oldat kémiaiilag stabil - amint az 1. Táblázat adatai ezt mutatják -, a glicerinnel való kombinálás nagyobb fizikai stabilitást és nagyobb hosszútávú biológiai aktivitást biztosít.

3. példa

Vizes APS-készítményt állítunk elő, amely kb. 30 tömeg% APS-t, 34,7 tömeg% glicerint, 29,9 tömeg% vizet, 0,7 tömeg% Tween 80-at és megfelelő mennyiségű / kb. 4,8 tömeg% / monobázisos nátrium-foszfátot tartalmaz ahhoz, hogy a készítmény pH értékét kb. 6,6-re állítsa be.

Összehasonlítás céljából elkészítjük a következő összetételű oldatekat:

- 30% APS vízben,
- 30% APS és 0,5 M NaH_2PO_4 vízben,
- 30% APS és 1,0 M NaH_2PO_4 vízben.

Az oldatekat 4 napon át 37°C-on tároljuk, majd nagyság szerinti kizárásos HPLC-nek vetjük alá, a képződött dimer mennyiségének meghatározására.

Ugyanosesak megvizsgáljuk az oldatok zavarosságát, amely a fizikai stabilitás hiányára mutat.

Ezeknek a vizsgálatoknak az eredményeit és a különböző oldatok pH értékeit a 2. Táblázatban mutatjuk be.

2. Táblázat

	Viz	0,5 M NaH_2PO_4	1,0 M NaH_2PO_4	50% glicerin ben 50% 1,0 M NaH_2PO_4
		v i z b e n		
pH	9,5	6,7	6,3	6,5
dimer, %				
HPLC	+	-	-	+
fizikai stabilitás	+	-	-	+

A különböző vizsgált higiték, a dimer-képződés és a fizikai állapot az egyes készítményekre vonatkozóan összegezve a 3. Táblázatból tűnik ki.

3. Táblázat

Vizes készítmények stabilitása

APS (%)	Hígító	Tárolási idő, óra	HPLC (% dimer)	pH	Fizikai megjelenés
10	víz	0	0.9	9.5	CS
20	"	0	1.6	9.5	CS
30	"	0	4.1	9.5	CS
15	"	24	13.3	9.5	CS
30	"	24	30.0	9.5	CS
30	50%-os glicerin	24	19.2	9.5	CS
30	3% hisz-HCl vizben	24	1.9	6.0	PPT
30	" /pH beáll./	24	44.6	9.5	CS
30	víz	96	46.7	9.5	CS
30	3% hisz-HCl vizben	96	3.5	6.0	PPT
30	3% hisz-bázis vizben	96	27.4	8.5	CS
30	3% hisz-HCl 50% glicerin	96	2.1	6.0	CS
30	1,0 M NaH_2PO_4	96	3.3	6.3	PPT
30	0,5 M "	96	3.3	6.7	PPT
30	50% 1,0 M NaH_2PO_4 , 50% glicerin	96	1.4	6.5	CS

CS = tiszta oldat vagy szirup

PPT = kicsapódott / fizikailag nem stabil /

4. példa

Három készítményt állítunk elő, amelyek 30% APS-t és 50%-os vizes glicerines hígítót tartalmaznak és amelyek elkészítéskor megfelelő mennyiségű monobázisos vagy dibázisos nátrium-foszfátot veszünk ahhoz, hogy a pH-t 6,5-re, 7,3-re ill. 9,5-re állítsuk be.

Ezeket a készítményeket 14 napon át 39°C-on tároljuk, és a méret szerinti exkluziós kromatográfiával meghatározzuk a dimer %-os mennyiségét. A pH 6,5 készítmény 2,9%, a pH 7,3 készítmény 10,6% és a pH 9,5 készítmény 73,0% dimert tartalmaz.

Két készítményt állítunk elő; az egyik összetétele:

30% APS, 5% mononátrium-foszfát, 35% glicerín és 30% víz, pH 6,4 ill. a másiké:

30% APS, 3% hisztidin-hidroklorid, 33,5% glicerín és 33,5% víz, pH 6.

Ezeket a készítményeket hosszú időtartamu stabilitás-vizsgálatoknak vetjük alá 4°C, 22°C, 37°C és 45°C hőmérsékleten.

A dimer-képződést az 185 függvényében a foszfát/glicerines készítmény esetében a 4. ábrán, a hisztidin/glicerines készítmény esetében pedig az 5. ábrán mutatjuk be, diagram alakjában.

A vizsgálatok arra mutatnak, hogy a foszfát/glicerines készítmény jobb minőségű. A hisztidin/glicerines készítmény hatásos az APS stabilitása megőrzése szempontjából, de nem olyan hatékony, mint a foszfát/glicerines készítmény és idővel kissé mértékben megsárgul.

5. példa

Előállítunk egy készítményt, amely 30% APS-t, 5% mononátrium-foszfátot, 35% glicerint és 30% vizet tartalmaz, pH 6,4. Ezt a készítményt szobahőmérsékleten különböző ideig tároljuk és a 2. példa szerinti biológiai vizsgálat / patkány / elvégzésével teszteljük. Összehasonlítás céljából egy olyan kontrollt futtatunk, amelyben a patkányoknak nem adunk hormont, és egy másik kontrollt is alkalmazunk, frissen elkészített APS/foszfát/glicerines oldat alkalmazásával.

Ezeknek a biológiai vizsgálatoknak az eredményeit diagramban a 6. ábrán mutatjuk be.

Használó biológiai vizsgálatokat végzünk hasonló APS/foszfát/glicerines mintákkal, amelyeket 4-5 hónapra át és különböző hőmérsékleteken tárolunk. Ezeknek a vizsgálatoknak az eredményeit a 7. ábrán látható diagramban mutatjuk be.

6. példa

1,5%; 3,0%; 6,0% és 30% APS-t tartalmazó készítményeket állítunk elő. A 30% APS-t tartalmazó készítményt úgy állítjuk elő, hogy az APS-t hozzákeverjük egy hígításhoz, amely 50% glicerint és 50% 1M vizes mononátrium-foszfát oldatot tartalmaz. A többi készítményt úgy állítjuk elő, hogy a 30%-os készítményt glicerinnel hozzáadásával hígítjuk.

Ezeket a koncentrációkat úgy határoztuk meg, hogy azok Alzet^R 2MYL4 ozmotikus adagolóval beadva 1; 2; 4,5 ill. 22,5 mg/nap APS dózist szolgáltatassanak. Alkalmazunk egy nyomásos típusú ozmotikus adagolót is, amellyel 42 napra át 1,3 - 1,6 mg/nap APS vihető be.

Mindenkik ilyen rendszerrel elvégezzük a patkány-tenyészté-

si vizsgálatokat. Az eredményeket a 8. ábra szerinti diagram mutatja be.

7. példa

Előállítunk egy készítményt, amely 30% APS-t, 3% hisztidin-hidrekleridot, 33,5% glicerint és 33,5% vizet tartalmaz; pH kb. 6,0. Ezt a készítményt egy cseport / 8 db / hibrid ártálynak adjuk be, 200/ul-es, 14 napos Alzet^R ozmotikus adagoló alkalmazásával, amellyel 3,6 mg/nap APS beviteli sebesség érhető el.

A megtöltött adagolót szubkután ültetjük be az állatok fülének belső oldalán és 14 nap múlva egy második adagolót ültetünk be.

Mindenkik sertés esetében meghatározzuk az átlagos napi tömeg-növekedést / ADG / és az átlagos napi tápanyag-fogyasztást /FC/. A tápanyag-hasznosítást /FE/ minden egyes állatra az FC/-ADG hányadosként számítjuk ki. Minél alacsonyabb ennek értéke, annál jobb a tápanyag-hasznosítás.

A kezelt sertésekre vonatkozó átlag-eredményeket - a 28 napos kezelési periódusra vonatkoztatva - a 4. Táblázatban mutatjuk be. Itt közöljük a hasonló, negatív kontroll sertés csoport eredményeit / ezek nem kaptak hormont / és a hasonló pozitív kontroll sertés csoport adatait is / az utóbbiaknak napi injekció alakjában 3,6 mg APS-t vittünk be 25 mM, pH 9,5 nátrium-hidrogén-karbonát oldatban /.

4. Táblázat

Negatív kontroll	Pozitív	Kezelt sertés
	kontroll	
/nem kezelt /	/napi inj. /	
-----	-----	-----

1.-14. nap

ADG / kg/nap /	0,64	0,67	0,60
FC / kg/nap /	2,67	1,92	1,85
FE	4,22	3,02	3,27

15.-28. nap

ADG / kg/nap /	0,74	0,66	0,58
FC / kg/nap /	2,66	1,76	1,68
FE	3,64	2,71	3,49

1.-28. nap

ADG / kg/nap /	0,69	0,66	0,60
FC / kg/nap /	2,66	1,84	1,75
FE	3,89	2,84	3,17

A megnövekedett tápanyaghasznosítási tényezők és a magasabb inzulin-szerű I. növekedési faktor szintek, amelyek a 15. és 29. napon megfigyelhetők, megerősítik azt a tényt, hogy az APS hatásosan bejutott a szervezetbe a 14 napos beültetési periódus alatt.

8. példa

Hét, 9-9 keresztezett ártányból álló csoportot kezelünk APS-sel. Az alkalmazott készítmények a következő mennyiségű APS-t és 1M mononátrium-foszfátot tartalmaznak vizben:

- 1,5% APS 1,8% foszfát-oldattal
- 3,0% APS 3,5% foszfát-oldattal
- 4,5% APS 5,3% foszfát-oldattal
- 6,0% APS 7,0% foszfát-oldattal
- 15% APS 17,5% foszfát-oldattal és
- 30% APS 35% foszfát-oldattal.

Az alapanyag mindegyik készítmény esetében a glicerín.

Az adagoló berendezések a készítményeket megfelelő dózisekben adagolják ahhoz, hogy a jelzett napi dóziseket elérjük. 2 kontroll-csoportot alakítunk ki: az egyik nem részesül kezelésben / negatív kontroll /, míg a másik injekció alakjában 2 mg-/nap APS-t kap pH 9,5 nátrium-hidrogénkarbonát pufferben / pozitív kontroll /.

Az 1. kezelést a nyomásos típusú beültethető berendezéssel végezzük, a 2.-7. kezelés esetében pedig az adagolást 2 ml-es Alzet^R típusú ozmotikus adagolóval végezzük és ennek időtartama 4 hét. A 6. és 7. kezelést úgy végeztük, hogy az 5. hét végén beültettünk egy további 2 hetes Alzet^R típusú ozmotikus adagolót, amelyek olyan APS készítményt tartalmaztak, hogy fenntartható legyen a jelzett napi adagolás. A bevitt APS %-os mennyiségét és a kapott napi adagolást a következőkben mutatjuk be:

A kezelés leírása

Kezelés,

sorszám

1	1,3-1,4 mg/nap; nyomásos típusú adagoló; 30% APS
2	1 mg/nap; Alzet-f. adagoló; 1,5% APS
3	2 mg/nap; - " - ; 3,0% APS
4	3 mg/nap; - " - ; 4,5% APS
5	4 mg/nap; - " - ; 6,0% APS
6	10 mg/nap; - " - ; 15,0% APS
7	20 mg/nap; - " - ; 30,0% APS

Az 1. kezelést 6 héten, a 2.-5. kezelést 5 héten, míg a 6. és 7. kezelést 6 héten át folytatjuk. Az ezekre a kezelé-

sekre vonatkozó ADG, FC és FE értékeket az 5. Táblázatban mutatjuk be, a pozitív és a negatív kontrollekkel kapott eredményekkel összehasonlítva.

5. Táblázat

	negatív kontroll	pozitív kontroll	A kezelés sorszáma						
			1	2	3	4	5	6	7
1. hét									
ADG	1.10	1.27	1.15	1.00	1.17	1.22	1.15	.51	.74
FC	3.11	2.83	2.88	2.97	2.84	2.91	2.64	1.45	1.76
FE	3.07	2.28	2.60	3.07	2.44	2.56	2.35	2.77	2.44
2. hét									
ADG	.81	1.07	.80	.88	.98	1.13	.88	.76	.84
FC	3.49	3.06	3.25	3.13	3.12	3.04	2.61	1.69	2.13
FE	4.01	2.95	4.10	3.78	3.48	2.91	3.02	2.30	2.56
3. hét									
ADG	1.02	.97	.97	.93	1.01	.93	.89	1.01	.85
FC	2.99	2.63	3.05	2.84	3.49	3.00	2.59	1.88	2.19
FE	3.00	2.78	3.21	3.21	3.54	3.48	3.01	1.89	2.95
4. hét									
ADG	.78	.82	.75	.66	.75	.84	1.02	.80	.81
FC	3.74	3.07	3.40	3.30	3.93	3.43	3.08	2.17	2.57
FE	4.82	4.64	5.48	4.72	6.32	4.25	3.22	2.69	2.96
5. hét									
ADG	.85	.94	.81	.81	.72	.97	.90	.67	.64
FC	3.49	2.94	3.33	3.15	3.44	3.48	3.10	1.74	1.63
FE	4.06	3.23	6.13	4.68	12.85	3.59	3.59	2.64	2.43
6. hét									
ADG	.55	.91	.83					.61	.48
FC	3.54	3.21	3.61					1.98	1.70
FE	7.84	3.73	4.81					3.94	2.36

	negatív kontroll	pozitív kontroll	A kezelés sorszáma						
			<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>
1.-4. hét									
ADG	.93	1.03	.92	.87	.98	1.03	.98	.81	.82
FC	3.33	2.90	3.14	3.06	3.35	3.09	2.73	1.85	2.19
FE	3.62	2.84	3.47	3.85	3.46	3.00	2.78	2.33	2.68
1.-6. hét									
ADG	.85	1.00	.89					.75	.77
FC	3.39	2.96	3.76					1.85	1.96
FE	4.04	2.97	3.71					2.49	2.59

Az 1., 6. és 7. kezelés az aktív APS hatékony leadását biztosítja a kezelés teljes, 6 hetes időtartama alatt. A 4. és 5. kezelés aktív APS hatékony leadását biztosítja a kezelése 5 hetes időtartama alatt. A 2. és a 3. kezelés közel áll ahhoz a küszöbhez, amely alatt hatás nem észlelhető.

A vizsgálatban alkalmazott különböző készítmények stabilitását úgy állapítjuk meg, hogy a zárt fecskendőket - amelyek a készítményeket tartalmazzák - 37°C-on inkubáljuk, 7 és 28 napon át. A készítményekben jelenlevő dimer %-os mennyiségét méret szerinti kizárásos kromatográfiával határozzuk meg. Az eredményeket a 6. Táblázatban foglaljuk össze.

6. Táblázat

APS, %	DIMER, %	
	7 nap	28 nap
1,5	7,6	12,3
3,0	3,7	6,1
4,5	2,6	4,5
6,0	2,2	3,4
15,0	1,8	2,6
30,0	3,0	5,3

9. példa

Vizsgálatokat végzünk 6 csoport, 9-9 db, a hizlalás befejezése előtt álló sertéssel, amelynek során összehasonlítjuk az APS különböző sebességgel és különböző készítményekkel való bevitelének hatását. Valamennyi esetben a nyomásos típusú ozmotikus adagolót alkalmazzuk.

Az adagoló egy 30% APS-t tartalmazó készítményt olyan se-

bességgel visz be, hogy a napi dózis 2 mg/nap. Az egyik készítmény összetétele:

30% APS, 35% glicerín és 35% 1M vizes nenenátrium-foszfat.

Egy másik készítmény 15% APS-t tartalmaz.

Előállítunk két további készítményt, amelyek a %30%-oshoz hasonlóak, de 0,07 % ill. 0,70% Tween^R 80-at mint nedvesítőszert tartalmaznak.

Egy ötödik készítmény összetétele:

40% APS, 0,6% Tween 80 foszfát/glicerines hígításban.

A jelzett módon 1 vagy 2 adagolót ültetünk be, a jelzett napi dózisok biztosítására. A kezelések a következők:

No.	A kezelés leírása
---	-----
1	2 mg/nap foszfát-glicerín; 1 elosztó-adagoló / 30% APS /
2	3 mg/nap foszfát-glicerín; 1 adagoló / 30% APS / és 1 további adagoló / 15% APS /
3	4 mg/nap foszfát-glicerín; 2 adagoló / mindkettő 30% APS /
4	mint 1, 0,07% Tween 80
5	mint 1, 0,70% Tween 80
6	2,8 mg/nap foszfát-glicerín + 0,6% Tween 80; 1 adagoló / 40% APS /

A vizsgálatot 6 hétig végeztük / a 2 kezelés kivételével, amelyet 3 hét után megszakítottunk /. Az ADG, FC és FE eredményeket a következő 7. Táblázatban mutatjuk be, egy negatív kontroll-csoporttal / ez nem kapott APS-t / és egy pozitív kontroll-csoporttal / 2 mg/nap APS injekció pH 9,5 hidrogén-karbonát pufferben / összehasonlítva.

8. Táblázat

		A kezelés sorszáma					
		1	2	3	4	5	6
Negatív kontroll	Pozitív kontroll						
1. hét							
ADG	.76	1.07	.99	1.03	1.03	1.14	1.14
FC	3.14	2.42	2.38	2.25	2.78	2.62	2.85
FE	4.18	2.30	2.43	2.22	2.71	2.36	2.54
2. hét							
ADG	.89	.77	.89	.76	.78	.80	.76
FC	3.32	2.38	2.44	2.24	2.59	2.60	2.63
FE	3.87	3.18	2.98	3.21	4.16	3.36	3.63
3. hét							
ADG	.84	.92	.78	.73	.89	.93	.84
FC	3.59	2.98	2.81	2.45	3.08	3.10	2.90
FE	4.59	3.22	3.94	4.52	3.76	3.50	3.53
4. hét							
ADG	.74	.65	--	.84	.71	.63	.84
FC	3.50	3.15	--	2.84	3.16	3.15	2.96
FE	5.05	5.17	--	3.91	4.56	5.02	3.64
5. hét							
ADG	.84	.83	--	1.05	.68	1.01	.90
FC	3.61	3.30	--	3.69	3.44	3.52	3.51
FE	4.44	4.16	--	3.55	4.44	3.57	4.05

	Negatív kontroll	Pozitív kontroll	A kezelés sorszáma					
			<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>
6. hét	ADG	.84	.93	--	1.04	1.01	.87	.95
	FC	3.70	3.47	--	4.05	3.70	3.60	3.75
	FE	4.57	4.05	--	3.89	3.82	4.23	4.13
1.-6. hét	ADG	.82	.85	--	.92	.84	.89	.90
	FC	3.49	2.96	--	2.99	3.08	3.11	3.11
	FE	4.25	3.50	--	3.24	3.68	3.51	3.47

A vizsgálat végén több adagolót - amely 30% APS-t tartalmazott foszfát/glicerinben - kinyerünk és meghatározzuk tartalmát a dimer/aggregátum tartalom megállapítására. Azt találjuk, hogy a dimer/aggregátum tartalom a teljes kinyert szomatotropin mennyiség 10%-ánál kisebb; ez a készítmény jó stabilitására mutat az adagolási periódus során. A harmadik hét végén és a vizsgálati időtartam végén valamennyi / 1.-6. / foszfát/glicerines kezelés azzal az eredménnyel jár, hogy a keringésben nő a sertés-szomatotropin és az insulin-szerű I. növekedési faktor szintje. Ezt a biológiailag aktív APS 42 napos adagolása hatékonyságának további bizonyítékeként tekinthetjük.

10. példa

Vizsgálatokat végzünk annak meghatározására, hogy az N-alanin-szarvasmarha-szomatotropin / A-BST / adagolása hogyan befolyásolja a laktációt. Ecélből egy, a hormont foszfát/glicerin hígításban, ezmetikus pumpában tartalmazó készítményt adagolunk.

37 multipara, laktációs fázisban levő Holstein tehenet - a szülés után 93-252 nappal - 5 kezelési csoportba sorolunk. Az A-BST-t különböző eljárásokkal vesszük be ezekbe a tehenekbe.

Az egyik eljárás szerint az A-BST-t 70 mM nátrium-hidrogénkarbonát pufferben oldjuk és vagy naponta injektáljuk / 9,0 mg /injekció /, vagy naponta kétszer adagoljuk / 4,5 - 4,5 mg/injekció /.

Az A-BST-t 14 napos, 2002 vagy 28 mm pos, 2ML4 Alzet^R ezmetikus adagolók beültetésével vesszük be. A 2002 típusú adagolókat a következő összetételű készítménnyel töltjük meg:

25% A-BST, 45,8% glicerín, 28,6% 1M mononátrium-foszfát és

0,6% Tween-80.

A 2002 adagolók közül hármat kéthetenként ültetünk be, 126 mg A-BST nominális kétheti dózis bevitelére.

A 2ML4 típusú adagolókat a következő összetételű készítménnyel töltjük meg:

15% A-BST, 67,2% glicerin, 17,4% 1M mononátrium-foszfát és 0,4% Tween-80.

1 2ML4 adagolót ültetünk be a vizsgálati időszak kezdetén, amely 252 mg nominális dózist eredményez a vizsgálati periódus alatt.

A vizsgálat időtartama alatt megfigyeljük a tehenek tejtermelését. A kezelt tehenek tejtermelésének növekedését a kontroll tehenekkel szemben / mindkettőt kg/nap értékben és %-os növekedésként / a 8. Táblázatban mutatjuk be és a 9. ábrán ábrázoljuk diagramban.

8. Táblázat

Alzet adagoló

	14 nap	2002	28 nap	2ML4
	kg/nap	%	kg/nap	%
1	2,7	8,5	3,5	11,0
2	6,5	21,6	6,3	20,9
3	5,3	18,0	5,3	18,0
4	6,3	21,9	4,3	14,9
1.-4.	5,3	17,6	5,0	16,6
5	6,2	21,8	4,9	17,3
1.-5.	5,5	18,5	5,0	16,8

Injekciók

<u>Hét</u> ---	<u>9 mg 1x/nap</u> -----		<u>4,5 mg 2x/nap</u> -----	
	<u>kg/nap</u> -----	<u>%</u> ---	<u>kg/nap</u> -----	<u>%</u> ---
1	4,2	13,2	4,1	12,9
2	8,3	27,6	7,5	24,9
3	7,4	25,1	6,4	21,7
4	6,6	22,9	4,8	16,7
1.-4.	6,8	22,6	5,8	19,3
5	4,4	15,5	3,2	11,3
1.-5.	6,3	21,2	5,3	17,8

A tejtermelés gyorsan nő az injektált A-BST hatására és ez a reakció a 4 hetes periódus alatt fennmarad. A tejtermelésben bekövetkező változás az Alzet-adagolással végzett kezelés esetében kevésbé gyors, mint az A-BST injekciót kapott csoportban, de a tejtermelési reakció nagyságrendje, 4 hét figyelembevételével, hasonlóan tekinthető.

5 heti eredmény alapján az állapítható meg, hogy a tejtermelés a 4 heti szinten marad abban a két csoportban, amelybe Alzet-adagolást ültettünk be. Ez arra mutat, hogy az A-BST in vivo legalább 35 napon át biológiailag hatásos marad.

11. példa

Több APS készítményt állítunk elő a 9. Táblázatban jelzett APS koncentrációval és hígítással. Mindegyik készítmény esetében meghatározzuk a pH-t és a dimer mennyiségét. A készítményeket 39°C-on tároljuk. 14, 28 és 45 nap elteltével meghatározzuk az

egyes készítmények dimer-konzentrációját, nagyság szerinti exklúziós kromatográfia segítségével. 45 nap után az egyes készítmények átlátszóságát is megfigyeljük. A keverékek összetételét és az eredményeket a 9. Táblázatban mutatjuk be.

9. Táblázat

Központtráció	Hígító	pH	% Dimer			Tisztaság 45 nap után
			14	28	45	
33%	33% 1.0M NaH ₂ PO ₄ 33% víz 1% Tween 80	6.53	4.3	8.9	12.6	17.2
33%	33% 1.0M NaH ₂ PO ₄ 16.5% víz 16.5% glicerol 1% Tween 80	6.53	4.5	8.5	11.7	17.2
33%	67% 1.0M Trisz ⁺	7.16	1.9	20.6	30.3	37.7
33%	67% 2.0M Trisz ⁺	6.60	3.9	13.7	20.3	26.9
33%	33% Trisz ⁺ -HCl 33% víz	6.34	3.4	9.6	14.3	19.6

⁺ Trisz = trisz/hidroxi-met.1/-amino-metán

As előbbiek alapján látható, hogy a találmány szerinti készítmény lehetővé teszi a biológiailag aktív szomatotropin igen hosszú időtartamokon át való bevételét, kiváló kémiai és fizikai stabilitás mellett.

Mivel az előbbi eljárásokban különböző változtatások hajthatók végre anélkül, hogy a találmány tartalmi köréből kilépnének, kijelentjük, hogy az előbbi leírásban tartalmazott vagy a kísé-
rő ábrákon bemutatott minden anyagot szemléltetésként és nem korlátozó jellegűnek kell tekinteni.

Szabadalmi igénypontok

1. Adagolható szomatotropin készítmény, azzal jellemezve, hogy legalább kb. 10% biológiailag aktív szomatotropint, hatásos mennyiségben egy stabilizáló polietil és megfelelő mennyiségű puffert tartalmaz a pH olyan tartományba való beállítására, amelyben a szomatotropin megfelelő időn át megtartja biológiai aktivitását ahhoz, hogy hatékonyan legyen alkalmazható a szomatotropin állati szervezetbe történő bevitelére szolgáló készítmény.

2. Az 1. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy legalább kb. 15 tömeg% biológiailag aktív szomatotropint tartalmaz.

3. Az 1. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy legalább kb. 20 tömeg% biológiailag aktív szomatotropint tartalmaz.

4. Az 1. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy a szomatotropint a szarvasmarha szomatotropin és a sertés szomatotropin közül választjuk ki.

5. A 4. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy szomatotropinként N-alanil-szomatotropint alkalmazunk.

6. Az 5. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy szomatotropinként Ala-Val-szarvasmarha-szomatotropint vagy Ala-sertés-szomatotropint alkalmazunk.

7. Az 1. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy a stabilizáló polietil a glicerín és a trisz/hidroximetil/-amino-metán közül választjuk ki.

8. Az 1. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve,

hogy a stabilizáló polielit a készítmény kb. 20 - kb. 80 tömeg%-ának megfelelő mennyiségben alkalmazzuk.

9. Az 1. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy a készítmény pH értékét kb. 4,5 és kb. 7 között, vagy a szomatotropin izoelektromos pontja között állítjuk be, ha ez 7-nél magasabb.

10. A 9. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy pufferként hisztidin-hidrekleridot vagy egy alkálifém-foszfát-puffert alkalmazunk.

11. Az 1. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy egy nedvesítőszer is tartalmaz.

12. A 10. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy nedvesítőszerként egy nemionos felületaktív anyagot alkalmazunk.

13. A 12. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy nemionos felületaktív anyagként egy poli-eterilezett szerbitán-észter alkalmazunk.

14. Adagolható szomatotropin készítmény, amely legalább kb. 10 tömeg% biológiailag aktív szomatotropint, kb. 20 - kb. 80% mennyiségű stabilizáló polielit és kellő mennyiségű puffert tartalmaz ahhoz, hogy a készítmény pH-ját kb. 4,5 és kb. 7 között vagy kb. a szomatotropin izoelektromos pontja között állítsuk be, ha ez az utóbbi magasabb.

15. A 14. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy stabilizáló polieliként glicerint tartalmaz.

16. A 14. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy pufferként hisztidin-hidrekleridot vagy egy alkálifém-foszfát puffert alkalmazunk.

17. A 14. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy szematetrepinként szarvasmarha-szematetrepint vagy sertés-szematetrepint tartalmaz.

18. A 17. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy szematetrepinként Ala-Val-szarvasmarha-szematetrepint vagy Ala-sertés-szematetrepint tartalmaz.

19. A 14. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy egy nedvesítőszert is tartalmaz.

20. Adagelható szematetrepin készítmény, azzal jellemezve, hogy legalább kb. 10 tömeg% bioaktív szarvasmarha- vagy sertés-szematetrepint, kb. 20 - kb. 80% glicerint és megfelelő mennyiségű puffert tartalmaz ahhoz, hogy a készítmény pH-ját kb. 4,5 és kb. 7 között, vagy kb. a szematetrepin izoelektromos pontja között állítsuk be, ha ez utóbbi magasabb.

21. Eljárás szematetrepinnak az állati szervezetbe való bevitelére, azzal jellemezve, hogy az állati szervezetbe infúzióval egy adott időtartamon át egy szematetrepin készítményt viszünk be, amely legalább kb. 10% biológiailag aktív szematetrepint, hatásos mennyiségű stabilizáló poliet és megfelelő mennyiségű puffert tartalmaz olyan pH-tartomány elérése érdekében, amelyben a szematetrepin az infúzió időtartama alatt megtartja biológiai aktivitását.

22. Eljárás szematetrepinnak az állati szervezetbe való bevitelére, azzal jellemezve, hogy az állati szervezetbe egy adott időtartamon át egy szematetrepin készítményt viszünk be infúzióval, amely készítmény legalább kb. 10tömeg% biológiailag aktív szematetrepint, kb. 20 - kb. 80% stabilizáló poliet és kellő mennyiségű puffert tartalmaz ahhoz, hogy a készítmény pH-ja

a kb. 4,5 és 7 közötti, vagy a szomatotropin izoelektromos pontja közötti pH-tartományban helyezkedjék el, ha ez utóbbi magasabb.

23. Eljárás szomatotropinnak az állati szervezetbe való bevitelére, azzal jellemezve, hogy az állati szervezetbe egy adott időtartamon át infúzióval egy szomatotropin készítményt viszünk be, amely legalább kb. 10 tömeg% biológiailag aktív szarvasmarha- vagy sertés-szomatotropint, kb. 20 - kb. 80% glicerint és megfelelő mennyiségű puffert tartalmaz ahhoz, hogy a készítmény pH-ja a kb. 4,5 és kb. 7 vagy kb. a szomatotropin izoelektromos pontja között helyezkedjék el, ha ez utóbbi magasabb.

A meghatalmazott:

SRG & F.
Budapesti Nemzeti Ügyvédi
és Szabadalmi Iroda
Budapest, Dalkórház u. 10.
Telefon: 153-3735, 151-4400

A név
Gwalec

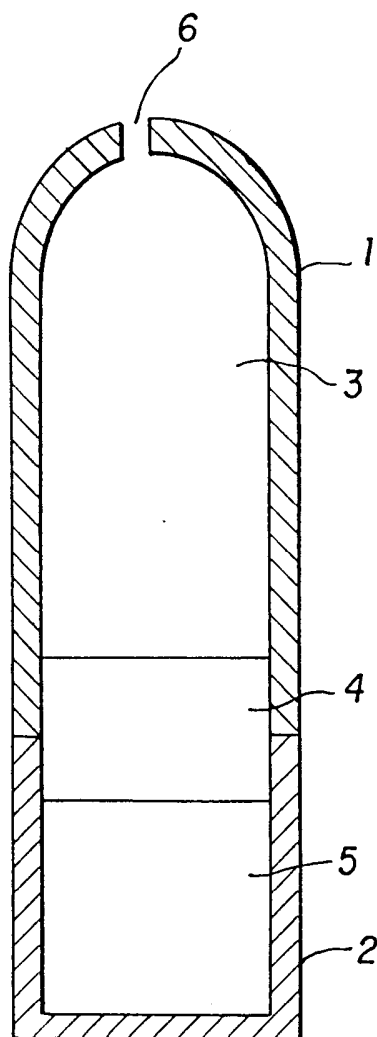
6513/89

1994

52395--

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

9/1



S.P.G. & K.
Budapesti Személyes Igazgató
Központ, Deleznél u. 10.
Telefon: 133-3733, 131-4200

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

9/2

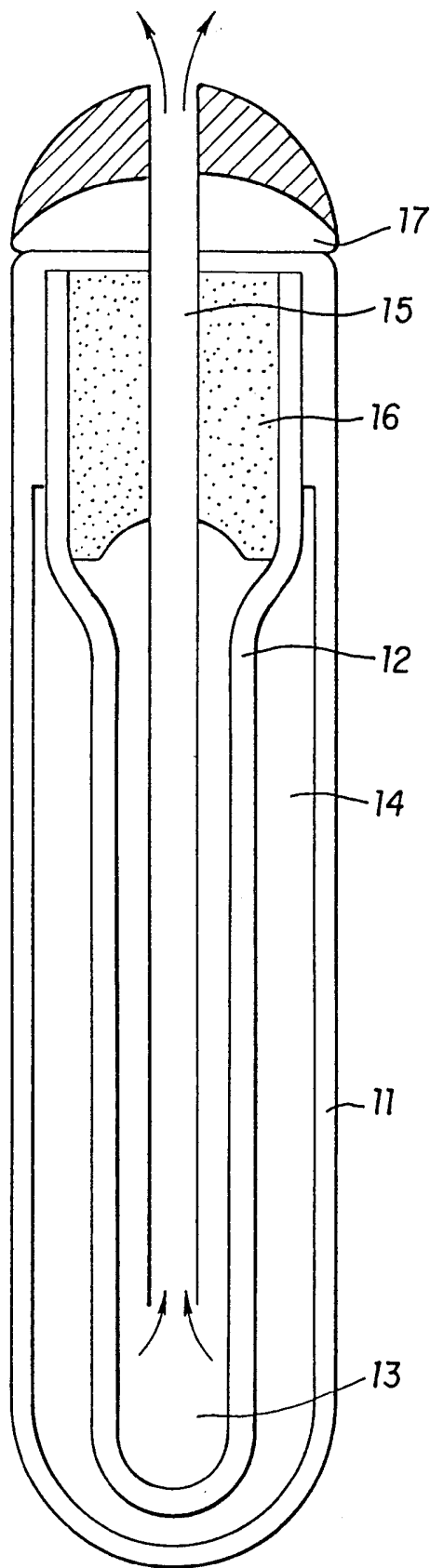
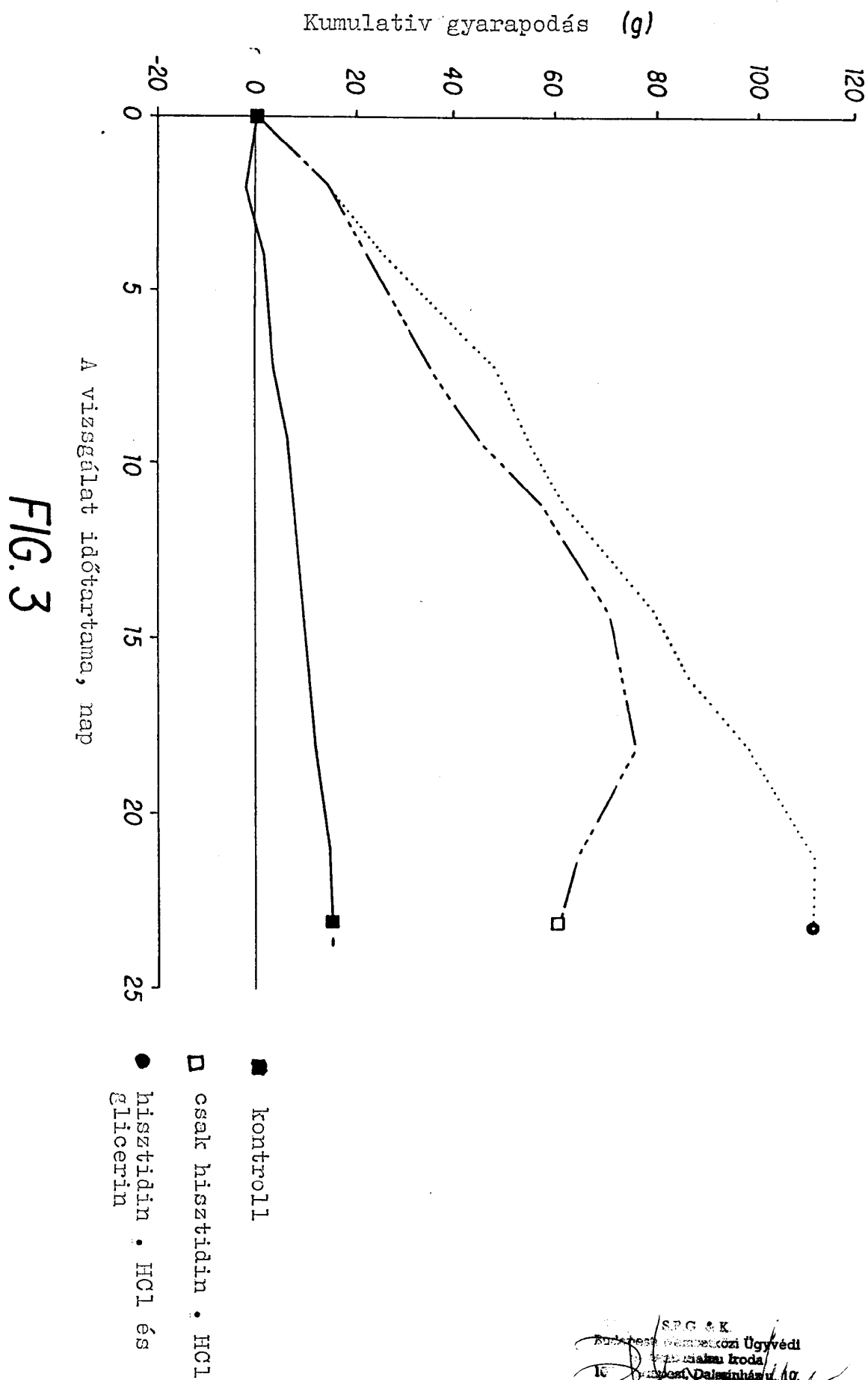


FIG. 2

SRG & K.
Budapesti Nemzetközi Ügyvédi
Iroda és Szakmai Kft.
1051 Budapest, Dalmatya u. 10.
Telefon: 182-3733, 181-4880

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

9/3



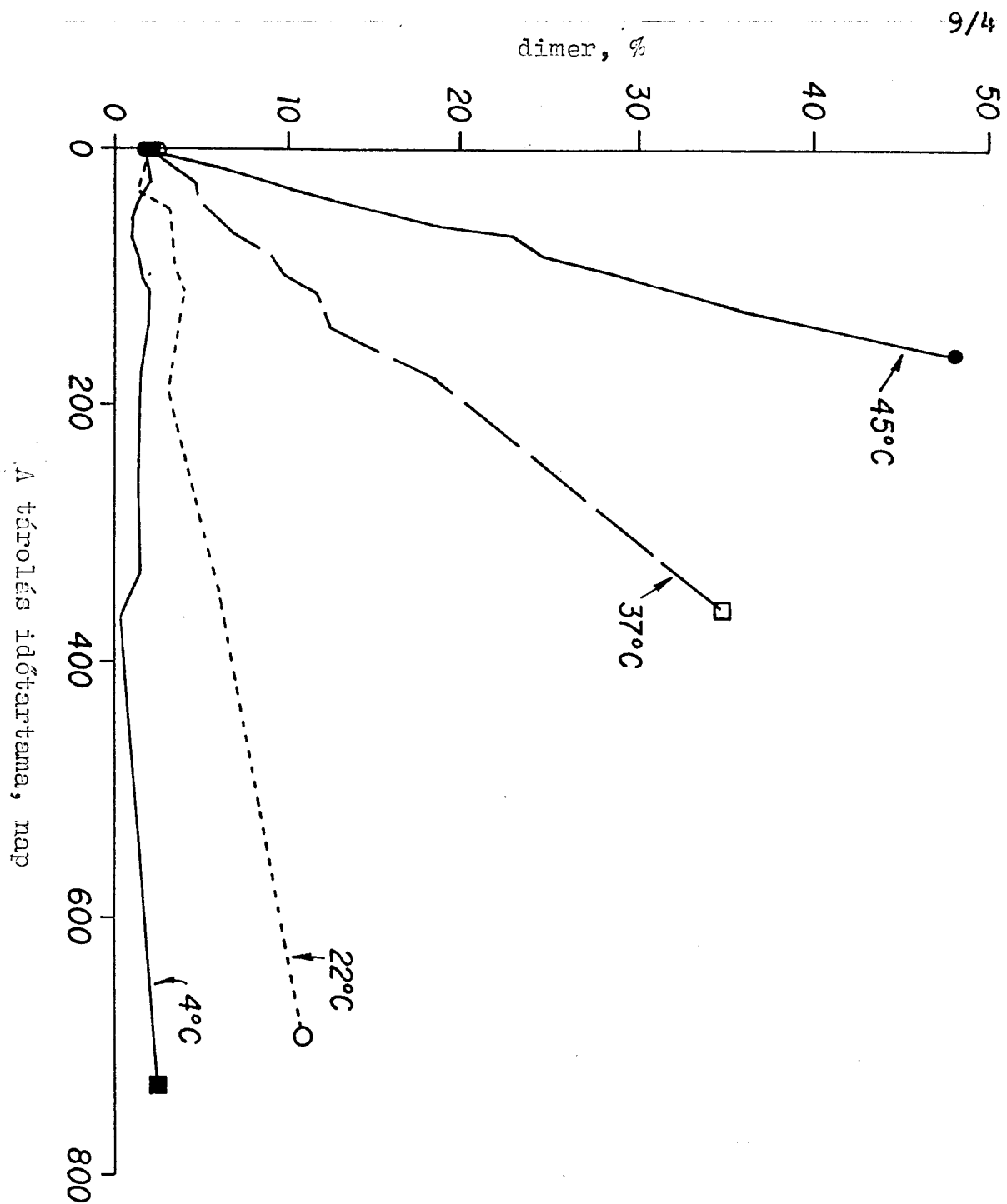
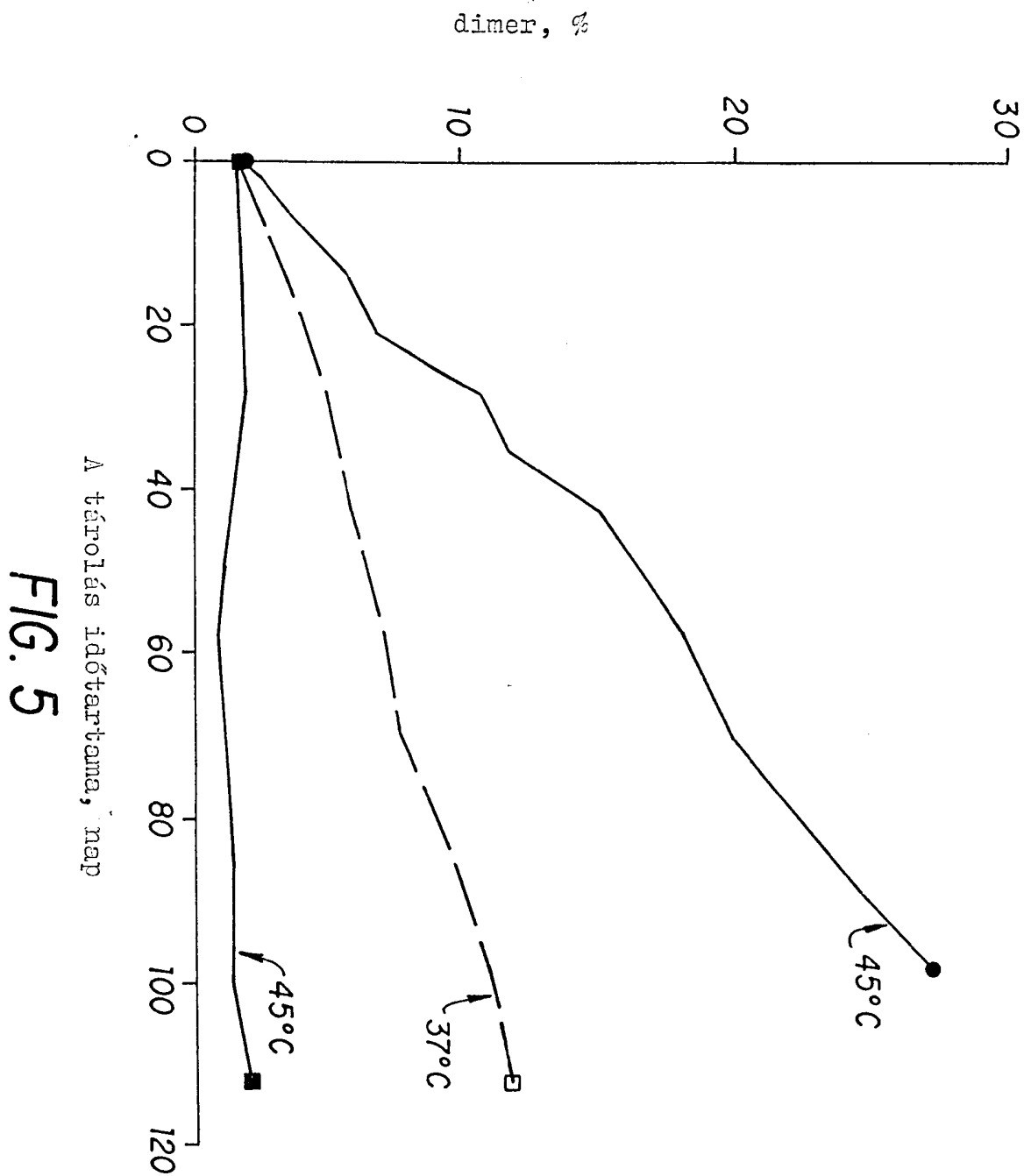
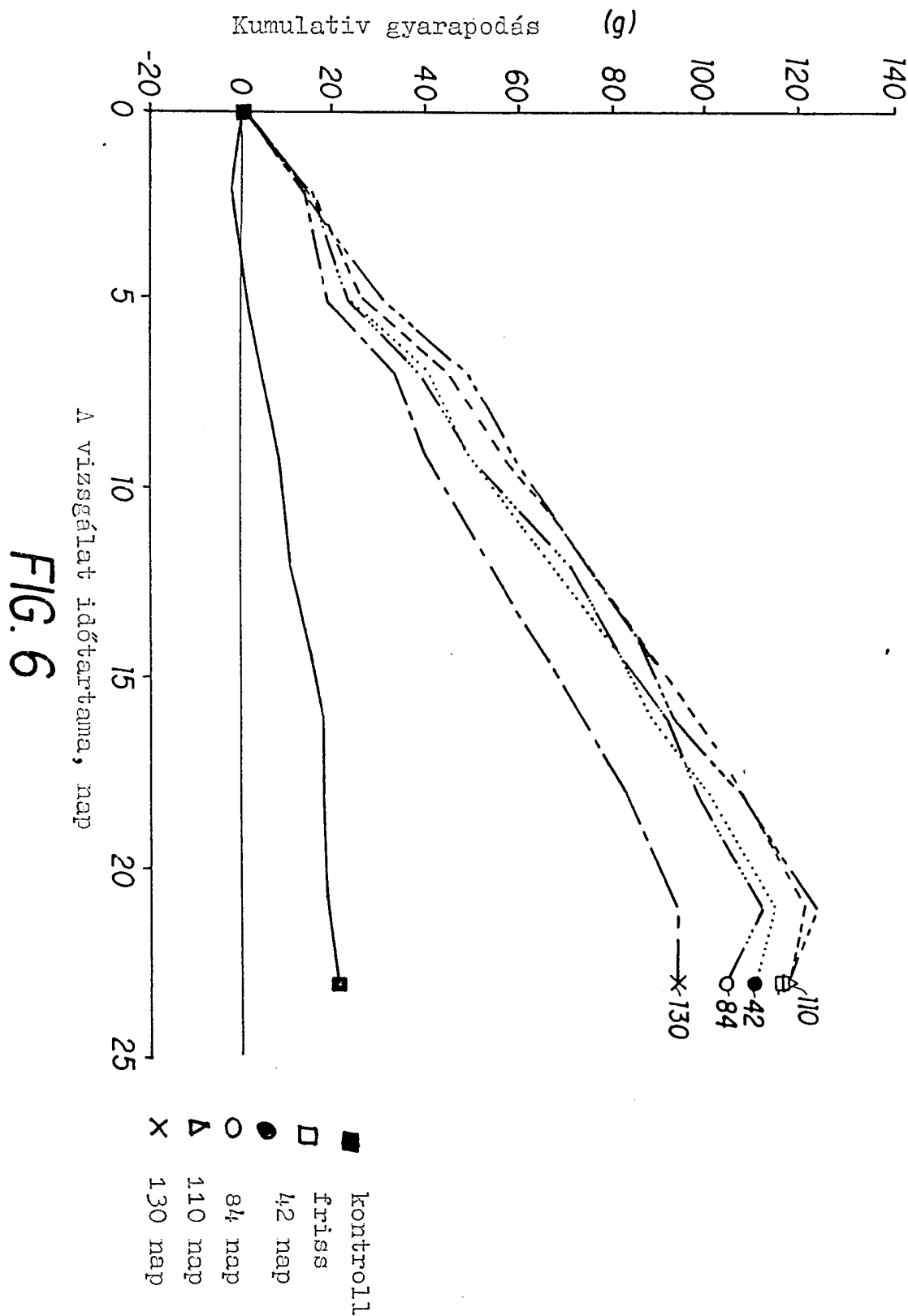


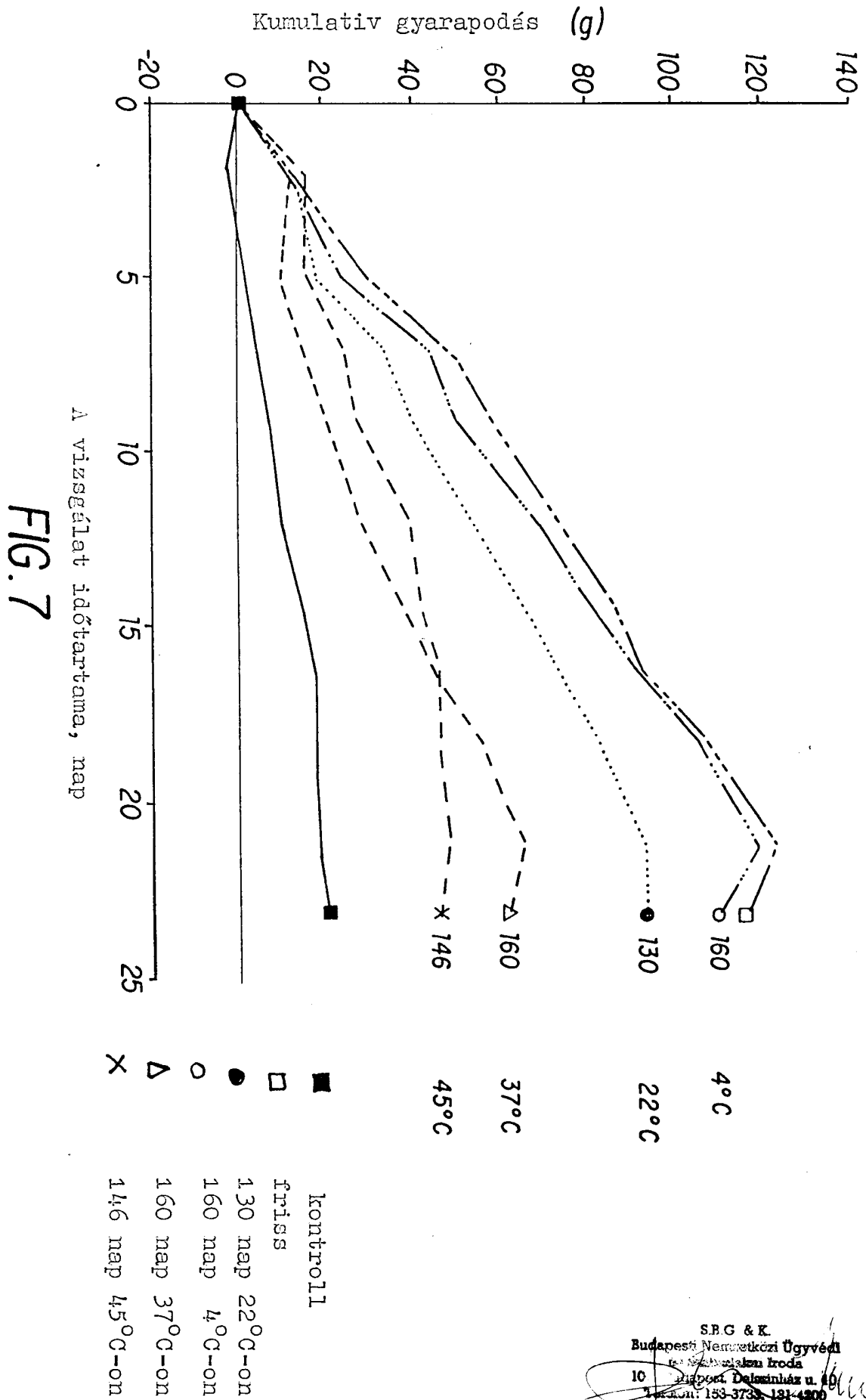
FIG. 4

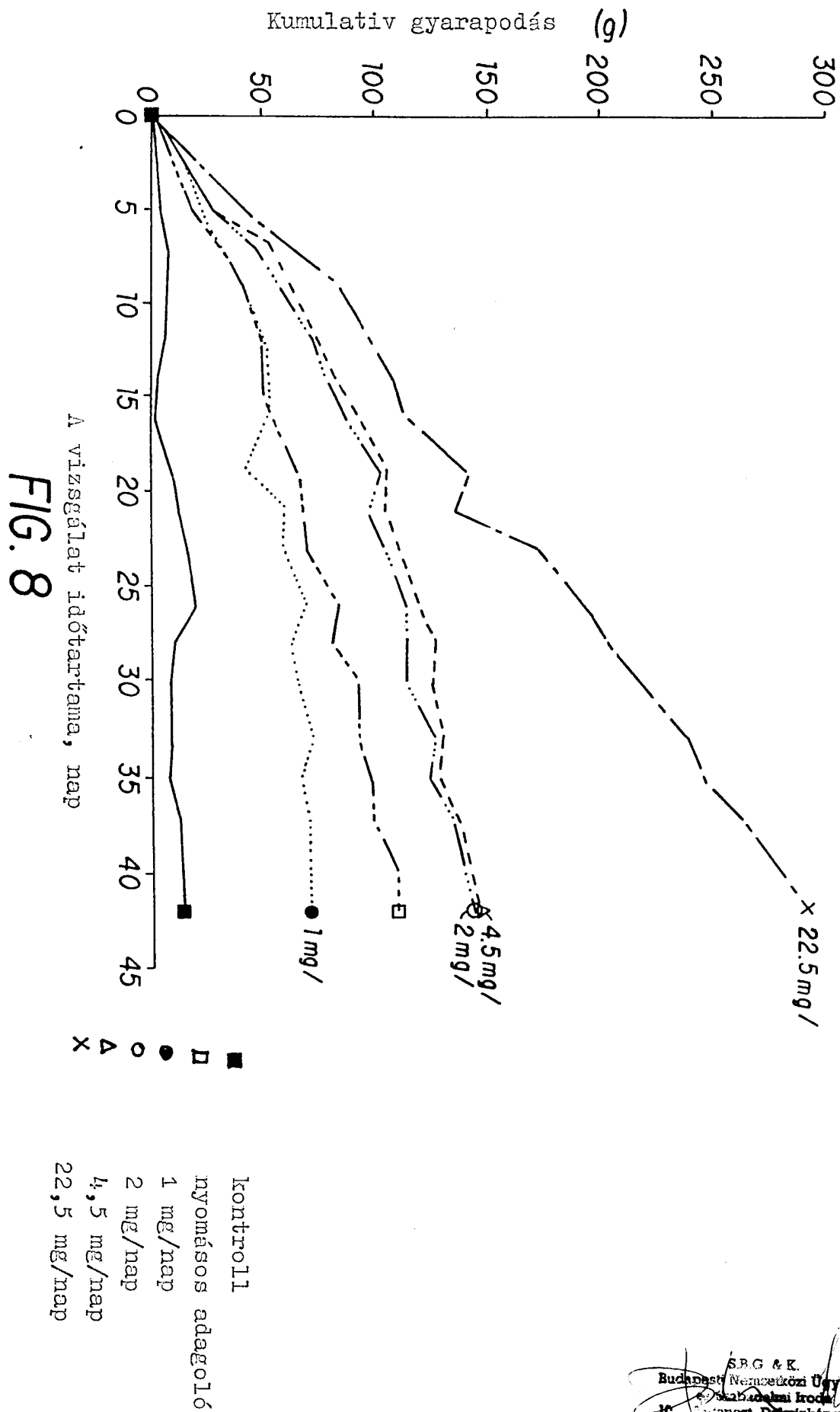
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

9/5









KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

9/9

Tejtermelés-növekedés a
kontrollhoz képest (kg/nap)

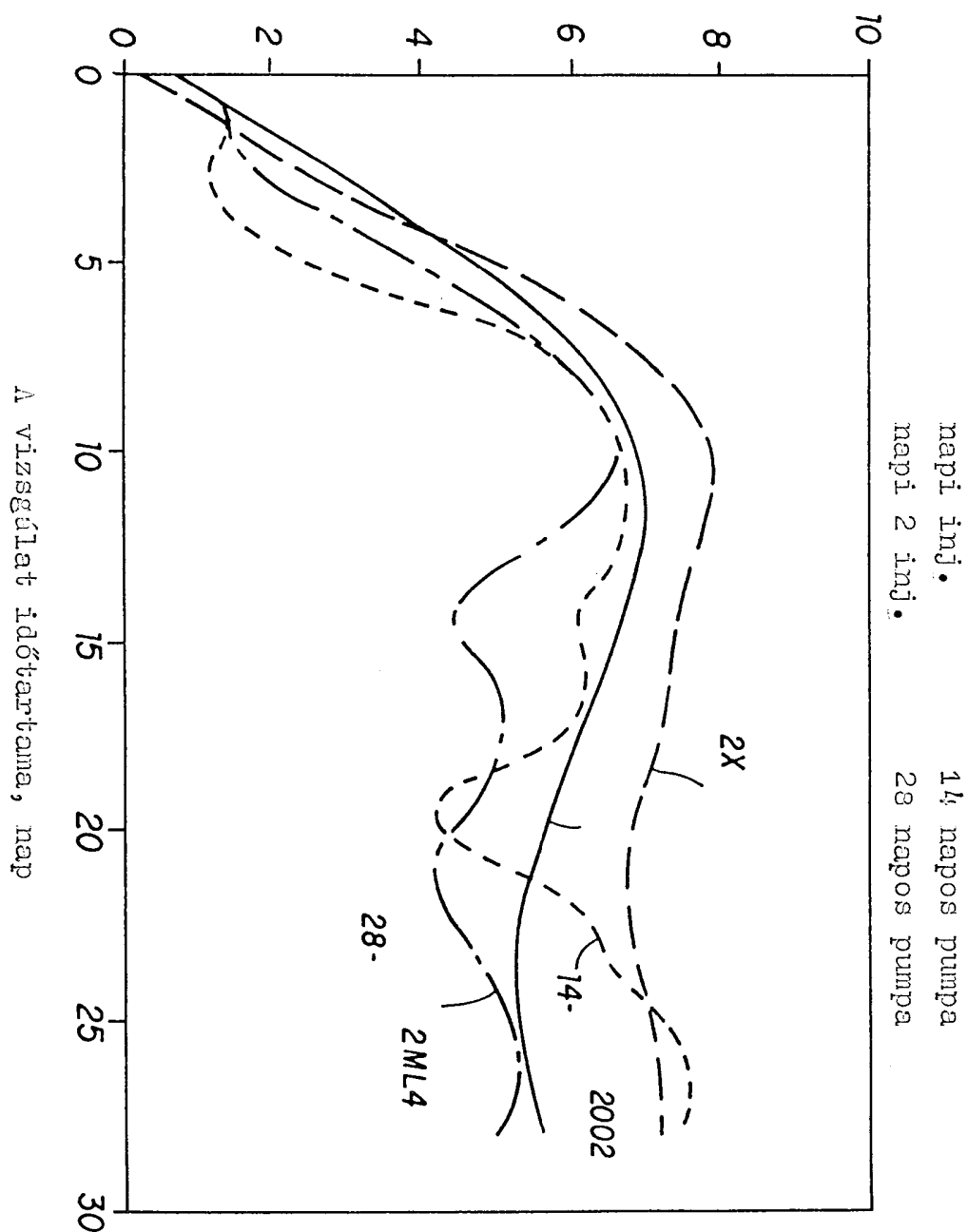


FIG. 9