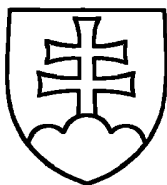


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19)

SK



**ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY**

**ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA
VYNÁLEZU**

- (22) Dátum podania: 03.12.97
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 60/033 182
(32) Dátum priority: 12.12.96
(33) Krajina priority: US
(40) Dátum zverejnenia: 14.02.2000
(86) Číslo PCT: PCT/US97/21400, 03.12.97

(21) Číslo dokumentu:

746-99

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.7:

**A 61K 31/045
A 61K 47/14
A 61K 47/44**

(71) Prihlasovateľ: **PHARMACIA & UPJOHN COMPANY, Kalamazoo, MI, US;**

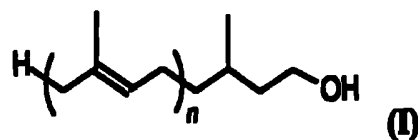
(72) Pôvodca vynálezu: **Foster Todd P., Kalamazoo, MI, US;
Barsuhn Karen, Plainwell, MI, US;**

(74) Zástupca: **Guniš Jaroslav, Mgr., Bratislava, SK;**

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Olejová zmes dihydropolyprenolov**

(57) Anotácia:

Je opisovaná olejová zmes na parenterálne podávanie liekov obsahujúcich dihydropropenol vzorca (I), kde n je celé číslo od 5 do 7 a farmaceuticky prijateľný olej, ktorým môže byť olej kokosový, saflórový, sezamový, sójový, bavlníkový, podzemnica olejná a minerálny olej.



Olejová zmes dihydropolyprenolov

Oblasť vynálezu

Vynález sa týka novej zmesi na parenterálne podanie. Konkrétnejšie sa vynález týka olejovej zmesi dihydropolyprenolov na zlepšenie imunitného systému zvierat.

Doterajší stav techniky

Americký patent č. 4624966 opisuje β, γ -dihydropolyprenylalkoholové deriváty používané ako filaktické prostriedky proti infekčným ochoreniam ľudí a zvierat, a metódy ich použitia.

Americký patent č. 4839389 opisuje injekcie polyprenylalkoholu obsahujúce ako základné prímеси polyprenylalkoholy a lecitín.

Americký patent č. 5139740 opisuje zmes pre mäkké kapsule obsahujúce zlúčeninu polyprenylu, činidlo a/alebo nenasýtenú alifatickú kyselinu.

Americký patent č. 5280048 opisuje metódu použitia polyprenylovej zlúčeniny proti infekcii.

K ďalším všeobecným odkazom patria:

H. Nagahata, G. J. Kociba, H. Noda, M. Koiwa a M. Kimura, „Účinky dihydroheptaprenolu na neutrofilnú funkciu popôrodných dojnic“, *Veterinárna imunológia a imunopatológia*, 29, str. 163-169 (1991).

O. Yoneyama, S. Osame, S. Ichijo, M. Kimura, S. Araki, M. Suzuki a E. Imamura, „Účinky dihydroheptaprenolu na neurofilné funkcie teliat“, *Britský veterinárny časopis*, 145, str. 531-537 (1989).

O. Yoneyama, S. Osame, M. Kimura, S. Araki a S. Ichijo, „Zlepšenie neutrofilnej funkcie dospelých kráv dihydroheptaprenolom“, *Japonský časopis veterinárnej vedy*, 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 zníženie hladiny nitroblue tetrazólia d'asnovým makrofágom prasníc“, *Japonský časopis veterinárnej vedy*, 51(3), str. 630-631 (1989).

S. Araki, M. Suzuki, K. Ogura, M. Kimura, E. Imamura, C. Kuniyasu, K. Kagaya a Y. Fukazawa, „Zlepšenie fagocytózy (pohlcovanie častôčiek hmoty) a bakteriálnej aktivity neutrofilov novorodených prasiat dihydroheptaprenolom, derivát syntetického polyprenolu“, *Mikrobiológia, imunológia*, 33(10), str. 877-882 (1989).

S Araki, K. Kagaya, K. Kitoh, M. Kimura a Y. Fukazawa, „Zlepšenie odolnosti myši voči infekcii črevným bacilom dihydroheptaprenolom, derivát syntetického polyprenolu“, *Infekcia a imunita*, 55(9), str. 2164-2170 (1987).

O. M. Kimura, S. Araki, T. Nakai a K. Kume, „Ochranné účinky dihydroheptaprenolu v kombinácii s vakcínou na experimentálne očkovanie morčiat a prasiat proti bacilu, ktorý spôsobuje súčasný zápal pľúc a pohrudnice“, *Japonský časopis veterinárnej vedy*, 55(4), str. 627-630 (1993).

E. J. Robb, D. D. Kratzer, C. H.-Ho a K. J. Dame, „Opis dávok a hodnotenie režimu dávkovania dihydroheptaprenolu pri vyvolanej infekcii hovädzieho zápalu pľúc spôsobenej baktériami“, *Zoologický časopis*, 71 (Príloha 1), str. 203 (1993).

Dihydropolyprenoly patria do triedy známych polyprenolov, ktoré sa poskytli na zvýšenie nešpecifickej obrany proti rôznym patogénnym mikróbom v tele hostiteľov napríklad hlodavcov, kráv, teliat a prasiat. Vzhľadom na ich schopnosť zlepšovať rezistenciu hostiteľa, sa tieto zlúčeniny môžu používať ako prostriedky na liečbu alebo ochranu pred infekciami u zvierat a ľudí.

Je však stále viac zrejmé, že vývoj farmaceutických prípravkov sa nemôže obmedziť na samotné hľadanie maximálne biologicky aktívnej zmesi. Než sa potenciálne aktívna zmes stane lekárskeym výrobkom, musí sa zväžiť mnoho ďalších aspektov. Veľmi dôležitá je stabilita aktívneho prípravku, absorpčné chovanie v zamýšľanom mieste podávania, fyzikálny stav aktívneho prípravku a mnoho ďalších súvisiacich ohľadov. Okrem vlastností samotného aktívneho prípravku sa zvažujú aj ekonomické aspekty hromadnej výroby liečiva.

Všetky vyššie uvedené problémy a nedostatky rieši olejová zmes podľa vynálezu.

Podstata vynálezu

Jednou z úloh vynálezu je poskytnúť farmaceutickú zmes obsahujúcu dihydropolyprenol a olejový nosič, ktorá zvýši vrodenu odolnosť voči infekcii, stimuluje imunitný systém zvierat a je so zvieratami biologicky kompatibilný.

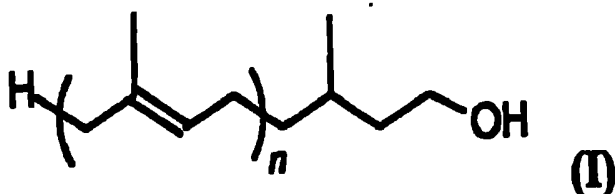
Ďalšou úlohou vynálezu je poskytnúť olejovú zmes obsahujúcu vysoký podiel dihydropolyprenolu tak, aby sa pre vhodnú liečbu mohla použiť jedna dávka.

Ďalšou úlohou vynálezu je poskytnúť olejovú zmes s takou fyzikálnou a chemickou stabilitou, aby mala po zabalení do konečného obchodného balenia vhodnú skladovateľnosť.

Ďalšou úlohou vynálezu je poskytnúť olejovú zmes s nízkou viskozitou umožňujúcu jej aplikáciu injekčnou striekačkou.

Ďalšou úlohou vynálezu je poskytnúť olejovú zmes, ktorú je možné vyrábať jednoduchým postupom tak, aby konečná cena výrobku bola minimálna.

Úlohy vynálezu sa splnili tým, že olejová zmes, ktorá je predmetom vynálezu, slúži na parenterálne podávanie, sa skladá z dihydropolyprenolu vzorca (I) a z farmaceuticky prijateľného oleja, kde n je celé číslo 5 až 7.



Prekvapivo a neočakávane sa zistilo, že olejové zmesi podľa vynálezu, ktoré v podstate neobsahujú žiadnu vodu, zlepšujú využitie dihydropolyprenolov vzorca (I). Poskytujú nosiče dodávky lieku, ktoré sú stabilné, ľahko sa podávajú a vyrábajú sa s nižšími nákladmi.

Olejová zmes podľa vynálezu je farmaceuticky elegantná a znamená nečakanú olejovú zmes. Zložky tejto olejovej zmesi sa obmedzujú na vehikulum (t.j. olej) a účinné dihydropolyprenoly. Zmes je teda potenciálne dlhšie skladovateľná, pretože obsahuje menej zložiek pôsobiacich škodlivo na dihydroprenoly. Olejová zmes chráni dihydropolyprenoly pred oxidáciou, ktorá ich primárne degraduje, pretože kyslík by musel do dihydropolyprenolov difundovať cez olejový nositeľ. Niektoré oleje obsahujú endogénne antioxidanty, čo je obzvlášť výhodné. Fyzikálna stabilita navyše nie je u olejovej zmesi problémom, pretože sa jedná o jednofázový roztok. Iné preparáty, ako sú napríklad emulzie opísané v príslušných odborných publikáciách, sú naopak dvojfázové a majú schopnosť časom navzájom reagovať.

Olejová zmes podľa vynálezu sa lepšie podáva, pretože môže byť koncentrovanejšia než emulzné preparáty a do zvierat sa teda injekčnou striekačkou vpravujú menšie objemy. Emulzný preparát sa napríklad bežne robí 10 mg/ml, zatiaľ čo naše preparáty založené na oleji môžu byť prinajmenšom 150 mg/ml s pätnásťnásobným zmenšením objemu. Olejovou zmes je možné navyše ľahko vstrekať, pretože jej viskozita je dostatočne nízka, aby mohla pretekať obvykle používanou striekačkou a ihlou, zatiaľ čo napríklad implantabilná tabletká obsahujúca dihydropolyprenoly sa zvieratám podáva obtiažnejšie.

K dispozícii je konečne jednoduchá metóda veľkovýroby dihydropolyprenolových olejových zmesí. Iné typy dávkovania často vyžadujú zložitejšie a drahšie postupy.

Dihdropolyprenoly tvoria triedu známych zmesí. Ich účinky na zlepšenie imunitného systému zvierat a postupy ich prípravy sú opísané v amerických patentoch č. 4624966, 4839389, 5139740, 5280048, ktoré sú uvedené v odkazoch.

Dihdropolyprenolom vzorca (I), ktorý sa s výhodou používa pri výrobe olejovej zmesi podľa vynálezu, je dihydroheptaprenol, zlúčenina vzorca I, kde n je 6.

Zvieratami sa myslí dobytok, hydina a domáce zvieratá. Vynález je možné však využívať u ostatných stavovcov a u nižších druhov, vrátane bezstavovcových.

Olejové zmesi podľa vynálezu sa môžu pripravovať spojením dihydropolyprenolu vzorca (I) a farmaceuticky prijateľného oleja. Metódami výroby týchto zmesí sú konvenčné techniky a sú odborníkom dobre známe. Požadovaná hmotnosť alebo objem oleja sa napríklad naleje do sklenenej alebo nerezovej nádoby. Olej sa môže do nádoby filtrovať cez sterilizačný filter (filter 0,22 mikrónov). Do nádoby s olejom sa naleje dihydropolyprenol s hmotnosťou alebo objemom vypočítaným pre danú koncentráciu. Tieto dva roztoky sa miešajú tak dlho, až vznikne homogénna zmes. Čas miešania závisí od veľkosti nádoby a druhu miešacieho zariadenia. Všeobecne platí, že na získanie 100 ml dávky homogénneho roztoku je treba 5 minút, u 1000 l dávky je treba asi 30 minút. Homogénnu zmes je možné filtrovať cez sterilizačný filter (0,22 mikrónov) a plniť do ampúl.

Termínom „farmaceuticky prijateľný“ sa myslia vlastnosti z farmakologického a toxikologického hľadiska biologicky kompatibilné s liečenými subjektami, z fyzikálneho a chemického hľadiska potom výroba farmaceutických látok s určitou stabilitou, rozpustnosťou a biologickou dostupnosťou.

Farmaceuticky prijateľným olejom je kokosový olej.

Termíny „Miglyol 810, Miglyol 812 a Miglyol 829“ označujú rôzne triedy frakcionovaného a čisteného kokosového oleja obsahujúceho hlavne stredné reťazce triglyceridov predávaných pod ochrannou známkou Miglyol firmou Huls, Inc.

Olejové zmesi podľa vynálezu sú dostupné vo forme určenej na parenterálne podávanie. S výhodou sa dobytku podáva podkožne, aby sa obmedzilo na minimum poškodenie jedlého tkaniva. Je možné však použiť aj intramuskulárne a ostatné parenterálne cesty podávania.

Množstvo použitého dihydropolyprenolu vzorca (I) a koncentrácie olejovej zmesi podľa vynálezu sa môže pohybovať alebo upravovať v širokom rozsahu podľa účinnosti konkrétnej použitej zmesi, požadovaného dávkovania, koncentrácií a druhu liečeného zvieratá. Množstvo aktívnej zložky sa všeobecne pohybuje od 0,1 do 1000 mg/kg, koncentrácie od 1 mg/ml do 500 mg/ml. Horná hranica koncentrácie sa dosiahne, keď je

olejová zmes príliš viskózná na aplikáciu injekčnou striekačkou. Napríklad pri použití dihydropolyprenolu pri prevencii ochorení dýchacích ciest hovädzieho dobytku (BRD) vo výkrmniach teliat sa dávkovanie pohybuje od 1 do 10 mg/kg. Pri liečbe BRD kŕmených teliat s dávkovaním 2 mg/kg dihydroheptaprenolu sa napríklad s výhodou používa koncentrácia zmesi 150 mg/ml. Takže jedna injekcia 1,3 ml poskytne dostatočné množstvo dihydropolyprenolu na priemerné liečené zviera.

Na lepšie pochopenie olejových zmesí podľa vynálezu sú ďalej uvedené príklady ilustrujúce jeho použitie. Bez ďalšieho upresnenia je zrejmé, že s problematikou oboznámený človek so znalosťou vyššie uvedeného opisu a s nižšie uvedenými príkladmi môže vynález využívať v celom rozsahu.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Dihydroheptaprenolu (0,341 g) sa dá do 20 ml sklenenej kadičky s 10,997 g Miglyolu 812. Zmes sa mieša 30 minút magnetickou miešacou tyčinkou. Zmesou sa potom plnia 5 ml sklenenej ampule, ktoré sa uzavru a vybaví štítkom. Koncentrácia dihydroheptaprenolu je 30,1 mg/g preparátu. Preparát sa skúša systémovým ochranným testom u myši dávkou vyvolávajúcou reakciu je *Pasteurella haemolítica* 28,2 LD₅₀.

Príklad 2

Dihydroheptaprenolu (0,339 g) sa pridá do 20 ml sklenenej kadičky s 10,996 g Miglyolu 812. Magnetickou miešacou tyčinkou sa zmes mieša 30 minút. Zmesou sa potom plnia 5 ml sklenené ampule, ktoré sa uzavru a vybaví štítkom. Koncentrácia dihydroheptaprenolu je 26,5 mg/g preparátu. Preparát sa skúša systémovým ochranným testom u myši, dávkou vyvolávajúcou reakciu je *Pasteurella haemolítica* 12 LD₅₀.

Príklad 3

Výrobku (1,886 g) podľa príkladu 2 sa zriedi s 26,467 g Miglyolu 810 miešaním v kadičke počas 10 minút. Koncentrácia dihydroheptaprenolu je 9,8 mg/ml. Preparát sa skúša systémovým ochranným testom u myši, dávkou vyvolávajúcou reakciu je *Pasteurella haemolítica* 10 LD₅₀.

Príklad 4

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) sa naleje do 20 ml sklenenej ampule. Pridá sa 9,9 g Miglyolu 810. Ampula sa potom 1 minútu mieša v Yamamotovej virivej sade plnou rýchlosťou. Po hodinovom stání sa ampula mieša ďalších 15 sekúnd. Ampula sa uzavrie a vybaví štítkom. Koncentrácia dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát sa skúša systémovým ochranných testom u myši, dávkou vyvolávajúcou reakciu je *Pasteurella haemolytica* 22 LD₅₀.

Príklad 5

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) sa naleje do 20 ml sklenenej ampule. Pridá sa 9,9 g Miglyolu 812. Ampula sa potom 1 minútu mieša v Yamamotovej virivej sade plnou rýchlosťou. Po hodinovom stání sa ampula mieša ďalších 15 sekúnd. Ampula sa uzavrie a vybaví štítkom. Koncentrácia dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát sa skúša systémovým ochranných testom u myši, dávkou vyvolávajúcou reakciu je *Pasteurella haemolytica* 22 LD₅₀.

Príklad 6

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) sa naleje do 20 ml sklenenej ampule. Pridá sa 9,9 g Miglyolu 829. Ampula sa potom 1 minútu mieša v Yamamotovej virivej sade plnou rýchlosťou. Po hodinovom stání sa ampula mieša ďalších 15 sekúnd. Ampula sa uzavrie a vybaví štítkom. Koncentrácia dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát sa skúša systémovým ochranných testom u myši, dávkou vyvolávajúcou reakciu je *Pasteurella haemolytica* 22 LD₅₀.

Príklad 7

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) sa naleje do 20 ml sklenenej ampule. Pridá sa 9,9 g saflórového oleja. Ampula sa potom 1 minútu mieša v Yamamotovej virivej sade plnou rýchlosťou. Po hodinovom stání sa ampula mieša ďalších 15 sekúnd. Ampula sa uzavrie a vybaví štítkom. Koncentrácia dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát sa skúša systémovým ochranných testom u myši, dávkou vyvolávajúcou reakciu je *Pasteurella haemolytica* 22 LD₅₀.

Príklad 8

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) sa naleje do 20 ml sklenenej ampule. Pridá sa 9,9 g sázamového oleja. Ampula sa potom 1 minútu mieša v Yamamotovej vírivej sade plnou rýchlosťou. Po hodinovom stání sa ampula mieša ďalších 15 sekúnd. Ampula sa uzavrie a vybaví štítkom. Koncentrácia dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát sa skúša systémovým ochranných testom u myši, dávkou vyvolávajúcou reakciu je *Pasteurella haemolitica* 25 LD₅₀.

Príklad 9

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) sa naleje do 20 ml sklenenej ampule. Pridá sa 9,9 g sójového oleja. Ampula sa potom 1 minútu mieša v Yamamotovej vírivej sade plnou rýchlosťou. Po hodinovom stání sa ampula mieša ďalších 15 sekúnd. Ampula sa uzavrie a vybaví štítkom. Koncentrácia dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát sa skúša systémovým ochranných testom u myši, dávkou vyvolávajúcou reakciu je *Pasteurella haemolitica* 6 LD₅₀.

Príklad 10

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) sa naleje do 20 ml sklenenej ampule. Pridá sa 9,9 g bavlnikového oleja. Ampula sa potom 1 minútu mieša v Yamamotovej vírivej sade plnou rýchlosťou. Po hodinovom stání sa ampula mieša ďalších 15 sekúnd. Ampula sa uzavrie a vybaví štítkom. Koncentrácia dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát sa skúša systémovým ochranných testom u myši, dávkou vyvolávajúcou reakciu je *Pasteurella haemolitica* 9 LD₅₀.

Príklad 11

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) sa naleje do 20 ml sklenenej ampule. Pridá sa 9,9 g oleja podzemnice olejnej. Ampula sa potom 1 minútu mieša v Yamamotovej vírivej sade plnou rýchlosťou. Po hodinovom stání sa ampula mieša ďalších 15 sekúnd. Ampula sa uzavrie a vybaví štítkom. Koncentrácia dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát sa skúša systémovým ochranných testom u myši, dávkou vyvolávajúcou reakciu je *Pasteurella haemolitica* 25 LD₅₀.

Príklad 12

Dihydroheptaprenolu (0,1 g) sa naleje do 20 ml sklenenej ampule. Pridá sa 9,9 g minerálneho oleja. Ampula sa potom 1 minútu mieša v Yamamotovej vírivej sade plnou

rýchlosťou. Po hodinovom stání sa ampula mieša ďalších 15 sekúnd. Ampula sa uzavrie a vybaví štítkom. Koncentrácia dihydroheptaprenolu je 10 mg/g preparátu. Preparát sa skúša systémovým ochranným testom u myši, dávkou vyvolávajúcou reakciu je *Pasteurella haemolitica* 9 LD₅₀.

Príklad 13

Príprava preparátu sa uskutočňuje pri laminárnom prúde v ochrannom kryte, ktorý je sterilný. 9,02 g dihydroheptaprenolu a 47,73 g Miglyolu 810, ktorý sa filtruje cez 0,22 mikrónový filter, naleje sa do 100 ml sterilnej sklenenej kadičky. Magnetickou miešacou tyčinkou sa zmes mieša 10 minút. Zmesou sa potom plnia 50 ml sterilné sklenené ampule, ktoré sa uzavru a vybaví štítkom. Koncentrácia vzorky je 142,2 mg/ml. Neaktívna substancia sa pripravuje filtráciou približne 50 ml Miglyolu 810 do 50 ml sterilnej sklenenej ampule, cez 0,22 mikrónový filter. Ampula sa uzavrie a vybaví nálepkou. Preparát sa skúša testom, kde boviná *Pasteurella haemolitica* vyvoláva reakciu.

Príklad 14

Príprava preparátu sa uskutočňuje pri laminárnom prúde v ochrannom kryte, ktorý je sterilný. 21,43 g dihydroheptaprenolu a 110,94 g Miglyolu 810, ktorý sa filtruje cez 0,22 mikrónový filter, sa naleje do 200 ml sterilnej sklenenej kadičky. Magnetickou miešacou tyčinkou sa zmes mieša 10 minút. Zmesou sa potom plnia 50 ml sterilné sklenené ampule, ktoré sa uzavru a vybaví štítkom. Koncentrácia vzorky je 149,8 mg/ml. Neaktívna substancia sa pripravuje filtráciou približne 50 ml Miglyolu 810 do 50 ml sterilnej sklenenej ampule, cez 0,22 mikrónový filter. Ampula sa uzavrie a vybaví štítkom. Preparát sa skúša testom, kde boviná *Pasteurella haemolitica* vyvoláva reakciu.

Príklad 15

Zmesi z príkladu 1 až 12 sa vyhodnotili testom systémovej ochrany u myši proti *Pasteurella haemolitica*. V tomto teste dostane každá myš podkožnú dávku zmesi a o 24 hodín neskôr sa vyvolá reakcia proti *Pasteurella haemolitica*. Dávka vyvolávajúca reakciu v príklade 1 je 28,2 krát väčšia než aká je potrebná na uhynutie 50 % myši (LD₅₀ = 28,2). Dávky vyvolávajúce reakciu sú pre ďalšie príklady uvedené v tabuľke 1. Dávky sa pohybujú od 25 do 400 mg/kg. Zmes sa rozmieša s olejom, ktorý sa testuje pred dávkovaním, aby jej bolo dosť pre injekcie aplikované na myši. Skupina prijímajúca 0 mg/kg predstavuje kontrolu a očkuje sa Miglyolom 812. Používaným kmeňom *Pasteurella haemolitica* je UC6531, ktorý

sa izoluje v prípade hovädzích dýchacích chorôb. Kmeň určený na testovanie sa uchováva na 3 mm sklenených guľkách, ponorené v sójovom bujóne (Becton-Dickinson Microbiology Systems) s 10 % glycerolu pri teplote -70°C , dokiaľ sa neoživí. Zapiše sa počet myši, ktoré prežijú po siedmych dňoch. Z týchto čísiel sa vypočítava ED_{50} . Tabuľka 1 znázorňuje výsledky testu.

Príklad 16

Test vyvolania reakcie hovädzím *Pasteurella haemolítica*

Zmes z príkladu 13 sa vyhodnotí testom vyvolania reakcie hovädzím *Pasteurella haemolítica*. V tomto teste sa podľa náhodne pridelenej hmotnosti naočkuje skupina mladých Holstein býčkov, ktorý sú 35 až 50 dní starí. Skupina pätnástich zvierat sa berie ako placebo skupina obsahujúce len vehikulum Miglyol 810 alebo 4 mg/kg olejového preparátu. Dávka 4 mg/kg sa každému zvieraťu naočkuje pod kožu a po 24 hodinách dochádza vyvolanie reakcie. Dávka vyvolávajúca reakciu na tele sa skladá z intratracheálnej inokulácie 6×10^6 jednotkami tvoriace kolóny (colony forming units (CFU)) virulentného *Pasteurella haemolítica* v okyslenom 10 ml (pH 4,5) bujóne zo srdca a mozgu (Brain Heart Infusion (BHI)), o štyri hodiny neskôr sa u teľat vyvolá reakcia 4×10^8 CFU v 10 ml BHI bujóne bez okyslenia. Teľatá sa počas desiatich dní pozorujú, zväžia, podrobia eutanázii a histologicky sa vyšetrí. Rozhodujúcim kritériom je úmrtnosť, počet teliat, ktoré pribrali 2,7 kg počas skúmania a vypočítaný stav konsolidácie pľúc. Navrhnutá štúdia u 80 % prípadov mala 21-23 % rozdiely v úmrtnosti a rast s $\alpha = 0,2$.

Žiadne z teliat zo skupiny, ktorá obdržala 4 mg/kg nezomrelo, zatiaľ čo u placebo skupiny došlo k podstatným odchýlkam a 2 z 15 teliat zomrelo ($P = 0,04$, jednostranné). Podstatne viac teliat priberie 2,27 kg v 4 mg/kg skupine (14 z 15) oproti negatívnej kontrole (7 z 15) ($P = 0,006$, jednostranné). V počte pľúcnych poranení nie sú podstatné rozdiely.

Porovnaním príkladu 14 sa vyhodnotí rovnaký test vyvolania reakcie hovädzím *Pasteurella haemolítica* používanej v príklade 13. Skupina pätnástich zvierat obdrží neaktívnu substanciu obsahujúce len prísadu Miglyol 810, 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg alebo 4 mg/kg olejového prípravku. Dávka dihydroheptaprenolu sa každému zvieraťu naočkuje pod kožu a po 24 hodinách nasleduje vyvolanie reakcie. Teľatá sa počas desiatich dní pozorujú, zväžia, podrobia eutanázii a histologicky sa vyšetrí. Rozhodujúcim kritériom je úmrtnosť, počet teliat, ktoré pribrali 2,7 kg počas skúmania a vypočítaný stav skonsolidovaných pľúc. Navrhnutá štúdia u 80 % prípadov mala rozdiely v úmrtnosti.

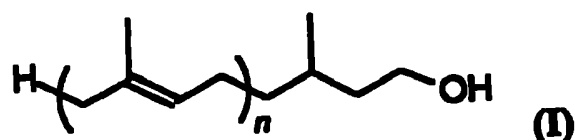
Úmrtnosť je 4 z 15 (placebo), 2 z 15 (0,5 a 1 mg/kg), 0 z 15 (2 mg/kg) a 1 z 15 (4 mg/kg, jedno zviera zomrelo na zauzlenie čriev, čo nesúvisí s vyvolaním reakcie). Štatisticky menej úmrtí ($P \leq 0,11$) je u skupín s obsahom 0,5 mg/kg alebo s väčším obsahom dihydroheptaprenolu. Počet teliat, ktoré priberú viac než 2,27 kg je 3 z 15 (neaktívna substancia), 5 z 15 (0,5 mg/kg), 9 z 15 (1 mg/kg), 12 z 15 (2 mg/kg) a 13 z 15 (4 mg/kg). Takto liečené skupiny, prijímajúce 1 mg/kg alebo viac dihydroheptaprenolu, sa štatisticky líšia ($P \leq 0,03$, jednostranné) od skupiny neaktívnej substancie. Počty pľúcnych poranení sú $18,9 \pm 8,4 \%$ (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 pľúcnych poranení u teliat pri podávaní 4 mg/kg sú výrazne nižšie ($P = 0,03$, jednostranné), než u teliat z placebo skupiny.

Tabuľka 1. Systematický test ochrany u myši

Príklad č.	LD ₅₀	ED ₅₀
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 zmes na parenterálne podávanie pozostávajúca z dihydropropenolu vzorca (I),



kde n je celé číslo od 5 do 7,

a z farmaceuticky prijateľného oleja.

2. Dihydropolyprenol vzorca (I) podľa nároku 1, vyznačujúci sa tým, že n je číslo 6.
3. Dihydropolyprenol vzorca (I) podľa nároku 1, vyznačujúci sa tým, že to je dihydroheptaprenol.
4. Olejová zmes podľa nároku 1, vyznačujúci sa tým, že uvedený olej je kokosový olej, safiórový olej, sezamový olej, sójový olej, bavlníkový olej, podzemnica olejná a minerálny olej.
5. Olej podľa nároku 1, vyznačujúci sa tým, že to je kokosový olej.
6. Olej podľa nároku 1, vyznačujúci sa tým, že to je Miglyol.
7. Olej podľa nároku 1, vyznačujúci sa tým, že to je olej podzemnice olejnej.
8. Olej podľa nároku 1, vyznačujúci sa tým, že to je sezamový olej.
9. Olej podľa nároku 1, vyznačujúci sa tým, že to je safiórový olej.
10. Olejová zmes podľa nároku 1, vyznačujúca sa tým, že dihydroprenol vzorca (I) je prítomný v koncentrácii od 1 mg/ml do 500 mg/ml.