



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 699 19 969 T2 2005.09.29

(12)

## Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 016 414 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 699 19 969.7

(96) Europäisches Aktenzeichen: 99 811 135.5

(96) Europäischer Anmeldetag: 10.12.1999

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 05.07.2000

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: 08.09.2004

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 29.09.2005

(51) Int Cl.<sup>7</sup>: A61K 38/27

A61P 37/00, A61P 43/00

(30) Unionspriorität:  
112668 P 17.12.1998 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:  
Applied Research Systems ARS Holding N.V.,  
Curacao, AN

(72) Erfinder:  
Chappel, Scott, Milton, Massachussets 02186, US

(74) Vertreter:  
Grünecker, Kinkeldey, Stockmair &  
Schwanhäusser, 80538 München

(54) Bezeichnung: Humanes Wachstumshormon zur Stimulierung der Hämatopoese und der Immunrekonstitution  
nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation beim Menschen

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung****HINTERGRUND DER ERFINDUNG****Gebiet der Erfindung**

**[0001]** Die Erfindung bezieht sich auf die Verwendung von humanem Wachstumshormon für die Herstellung eines Medikaments zur Stimulierung von Hämatopoese und Immunrekonstitution nach einer Transplantation hämatopoetischer Stammzellen in menschlichen Patienten.

**Beschreibung der verwandten Technik**

**[0002]** Humanes Wachstumshormon (hGH: human growth hormone), auch als Somatotropin bekannt, ist ein durch die somatotropen Zellen der Vorderhypophyse erzeugtes und sekretiertes Proteinhormon. Das humane Wachstumshormon spielt durch seine Wirkungen auf den Metabolismus von Proteinen, Kohlenhydraten und Lipiden eine Schlüsselrolle beim somatischen Wachstum. Zusätzlich zu seinen Wirkungen auf das somatische Wachstum konnte gezeigt werden, dass hGH die Hämatopoese (Proliferation, Reifung und Funktion von erythroiden, myeloiden und lymphoiden Zellreihen) stimuliert.

**[0003]** Über die erythropoetische stimulierende Wirkung einer hGH-Behandlung sowohl von gesunden Patienten als auch von Patienten mit Wachstumshormonmangel (GHD: growth hormone deficient) ist in wissenschaftlichen Veröffentlichungen berichtet worden. Zum Beispiel berichteten Valerio und Mautoren (1997), dass Erythropoese-Marker in vivo wie Hämoglobin (Hb), Hämatokrit (Ht) und rote Blutkörperchen (RBC: red blood cells) nach einer hGH-Therapie in GHD-Kindern anstiegen. Weiter ist berichtet worden, dass die auf eine hGH-Behandlung zurückzuführenden Hb-Erhöhungen in Patienten mit hGH-Mangel denen in Patienten mit einer normalen hGH-Sekretion ähneln waren (Vihervuori und Mautoren, 1996).

**[0004]** In Veröffentlichungen der letzten Zeit wird darüber hinaus gezeigt, dass hGH die Proliferation und die Reifung/Funktion der myeloiden Zellreihen steigert. Humanes Wachstumshormon vermehrt die myeloide Koloniebildung (Merchav und Mautoren, 1988), regt oxidative Stoffwechselbursts der Granulozyten in gesunden und urämischen Kindern an (Derfalvi und Mautoren, 1998) und steigert die Chemotaxis von Monozyten (Wiedermann und Mautoren, 1992).

**[0005]** Schliesslich wurde in mehreren Berichten gezeigt, dass hGH stimulierende Wirkungen auf die Proliferation und Reifung der lymphoiden Zellreihen ausübt. Derfalvi und Mautoren (1998) beschreiben, dass eine Verabreichung von hGH die Lymphproliferation in gesunden und urämischen Kindern stimu-

liert, während Kimata und Mautoren (1994) feststellen, dass hGH sowohl die Proliferation als auch die Ig-Produktion in Plasmazelllinien steigert. Geffner (1997) erwähnte, dass gezeigt worden ist, dass hGH die CH8+-Zellzahlen und in geringerem Ausmass die CD4+-Zellzahlen stimuliert.

**[0006]** Knochenmarktransplantation und die Stammzelltransplantation aus peripherem Blut (hierunter beide als hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSCT: hematopoietic stem cell transplantation) bezeichnet) sind die bevorzugte Behandlung bei verschiedenen Störungen wie Malignitäten, schweren kombinierten Immundefizienzen (SCID: severe combined immune deficiencies), congenital oder genetisch bedingten hämatopoetischen Abnormalitäten, Anämie, aplastischer Anämie, Leukämie und Osteoporose (Fischer und Mautoren, 1998). Während der letzten zehn Jahre stieg der Einsatz von HSCT von weniger als 5000 auf mehr als 40 000 pro Jahr (Waters und Mautoren, 1998).

**[0007]** Autologe HSCT ist als eine Stammzelltransplantation definiert, bei der Donor und Empfänger das gleiche Individuum sind. Nichtautologe HSCT umfasst HSCT, bei der Donor und Empfänger verschiedene Individuen sind, entweder genetisch identische (syngene) oder genetisch verschiedene (allogene).

**[0008]** Bei nichtautologer HSCT treten immunologische Reaktionen auf, nämlich die Transplantat-gegen-Empfänger-Reaktion und die Empfänger-gegen-Transplantat-Reaktion (Implantatabstossung). Die Mechanismen von Implantatabstossungen sind nicht vollständig bekannt, aber zusätzlich zu Immunmechanismen können hämatopoetische Stammzellen auch durch natürliche Killer- (NK-) zellen abgetossen werden. Das Immunsystem des Empfängers muss abgesetzt werden, um eine erfolgreiche nicht-autologe HSCT zu ermöglichen.

**[0009]** In Vorbereitung einer HSCT wird das Immunsystem des Empfängers durch Bestrahlung oder Chemotherapie zerstört. Diese Prozedur verhindert nicht nur eine Abstossung nichtautologer Implantate, sondern dient auch dazu, leukämische Zellen abzutöten, wenn dies die Krankheit des Patienten ist. Nach der HSCT sind die hämatopoetischen und Immunzellen des Empfängers durch die des Donors ersetzt worden.

**[0010]** Wirksame Behandlungen, die auf eine beschleunigte Hämatopoese und Immunrekonstitution abzielen, sind von grossem Interesse nicht nur zur Beförderung des Engraftments, sondern auch zur Verringerung von Infektionsgefahren und Verkürzung der Krankenhausaufenthalte. Es konnte gezeigt werden, dass der Granulozyten-Makrophagen-Kolonien stimulierende Faktor (GM-CSF: granulocyte-macro-

phage colony stimulating factor) und der Granulozyten-Kolonien stimulierende Factor (G-CSF: granulocyte stimulating factor) durch Stimulierung der Stammzellenproliferation die Knochenmarkholung beschleunigen und das Engraftment verstärken (Appelbaum, 1993). In ähnlicher Weise konnte gezeigt werden, dass rekombinantes humanes Erythropoetin (rhEPO) das erythroide Engraftment nach allogener Knochenmarktransplantation verstärkt und den Transfusionsbedarf verringert (Miller und Mitautoren, 1994). Diese Wachstumsfaktorbehandlungen haben in klinischen Versuchen vielversprechende Ergebnisse gezeigt und werden derzeit eingesetzt, um den Erfolg von HSCT zu verbessern.

**[0011]** In dieser Beziehung stellt humanes Wachstumshormon eine attraktive alternative Therapie dar, da es eine stimulierende Wirkung auf die drei hämatopoetischen Progenitorzellreihen ausübt.

**[0012]** Bei Nagetieren wurde berichtet, dass nach syngener Knochenmarktransplantation in Mäusen die hGH-behandelten Tiere sowohl im Knochenmark als auch in der Milz signifikante Erhöhungen des Gesamtgehalts an hämatopoetischen Progenitorzellen aufwiesen (Tian und Mitautoren, 1998). Tian und Mitautoren führten des Weiteren eine Erhöhung bei erythropoetischen Markern (Hb, Ht, RBC), beim Gehalt an erythroiden Progenitorzellen, beim Granulocytenmarker 8C5+ und schliesslich bei der RBC- und Blutplättchenerholung nach Knochenmarktransplantation (BMT: bone marrow transplantation) an; und demonstrierten die Vorteile einer hGH-Therapie bei der Stimulation der Immunrekonstitution nach BMT in Mäusen. Weiter deuteten Tian und Mitautoren an, dass hGH von klinischem Nutzen für eine Beschleunigung der Hämatopoese nach autologer Knochenmarktransplantation sein könnte. Die zu diesen Ergebnissen führenden Untersuchungen waren an Mäusen ausgeführt worden. Dosen von rhGH wurden nach syngener Knochenmarktransplantation an die bestrahlten und transplantierten Mäuse verabreicht. Die Mäuse erhielten ab Tag 1 jeden zweiten Tag bis zu einem Maximum von 20 Tagen die gleiche Dosis von rhGH. Tian und Mitautoren berichteten, dass die wachstumsfördernden hämatopoetischen Wirkungen von rhGH nach SBMT nicht zu Toxizität oder Gewichtszunahme führten.

**[0013]** Bei der Verabreichung an Menschen erwies es sich aber, dass humanes Wachstumshormon auch einige Nachteile besitzt.

**[0014]** Zum Beispiel konnte gezeigt werden, dass humanes Wachstumshormon das Auftreten von Implantatabstossung verstärkt. Bei in ihrem Wachstum zurückgebliebenen Kindern mit Nierentransplantaten waren die Abstossungsepisoden häufiger in hGH-behandelten Patienten als in der Placebogruppe (Fine und Mitautoren, 1991). Friedman

(1997) berichtete, dass eine Behandlung mit rekombinantem hGH bei Kindern mit Nierentransplantaten nicht ungefährlich ist. Friedman argumentierte, dass die durch hGH vermittelte Hochregelung der Immunfunktion ein Grund für den durch die Abstossung verursachten, erhöhten Abfall der Nierenfunktion sein könnte, und wies darauf hin, dass hGH nach einer allogenen Nierentransplantation an Kinder nicht verabreicht werden sollte. In einem klinischen Grossversuch zur Bewertung der Ergebnisse und Nebenwirkungen der hGH-Behandlung von Kindern nach Nierentransplantation konnte die hGH-Behandlung mit einer erhöhten Häufigkeit akuter Transplantatabstossung korreliert werden, und zwar insbesondere bei Patienten, in deren Vorgeschichte mehr als eine Episode vorlag (Johansson und Mitautoren, 1990; Broyer, 1996). Bei der Lebertransplantation schliesslich verbessert hGH das Wachstum in Kindern, die eine Glucocorticoidbehandlung erhalten, erhöht aber auch die Gefahr einer allogenen Implantatabstossung (Sarna und Mitautoren, 1996).

**[0015]** Angesichts der oben vorgelegten Daten gibt es bei einer hGH-Therapie nach HSCT sowohl nützliche als auch nachteilige Wirkungen. Humanes Wachstumshormon wäre nützlich wegen seiner positiven Wirkung auf die Immunrekonstitution; hGH fördert die Proliferation von hämatopoetischen Progenitorzellen, d.h. der Donorstammzellen, und sollte daher das Engraftment erleichtern. Eine Behandlung mit humanem Wachstumshormon würde auch durch eine globale Stimulierung der Immunfunktionen einen besseren Schutz gegen Pathogene schaffen. Es wurde jedoch auch gezeigt, dass hGH das Auftreten von Implantatabstossung verstärkt, was für seine Verwendung bei der Behandlung von Patienten einen ernsten Nachteil darstellt.

#### ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

**[0016]** Daher ist es das Ziel der vorliegenden Erfindung, für Patienten, die eine Transplantation hämatopoetischer Stammzellen erfahren haben, eine Behandlung mit rekombinantem humanem Wachstumshormon zur Verfügung zu stellen, um die Hämatopoese und Immunrekonstitution zu stimulieren, dabei aber die nachteiligen Nebenwirkungen der Verabreichung von hGH, wie sie zum Beispiel oben skizziert worden sind, zu vermeiden.

**[0017]** Die Erfindung bezieht sich auf die Verwendung von humanem Wachstumshormon, wie sie in den beigefügten Ansprüchen definiert wird. Der vorliegenden Erfindung zufolge wird humanes Wachstumshormon für die Herstellung eines Medikaments zur Stimulierung der Hämatopoese und Immunrekonstitution in menschlichen Patienten verwendet, das nicht eher als 30 Tage nach der Transplantation der hämatopoetischen Stammzellen zu verabreichen ist. Mit diesem innovativen Plan der hGH-Verabreichung

wird beabsichtigt, die durch hGH induzierte Implantatabstossung zu umgehen.

## DEFINITIONEN

**[0018]** Um ein klareres und konsequenteres Verständnis der Beschreibung und Ansprüche sowie der den betreffenden Ausdrücken zu verleihenden Reichweite zu schaffen, werden die folgenden Definitionen gegeben.

**[0019]** Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen (HSCT): eine klinische Prozedur, bei der pluripotente hämatopoetische Stammzellen, die aus Knochenmark oder peripherem Blut erhalten werden, in einen Patienten transplantiert werden.

**[0020]** Knochenmarktransplantation (BMT): eine klinische Prozedur, bei der pluripotente hämatopoetische Stammzellen, die aus Knochenmark erhalten werden, in einen Patienten transplantiert werden.

**[0021]** Autologe Transplantation: eine Transplantation, bei der Donor und Empfänger das gleiche Individuum sind.

**[0022]** Nichtautologe Transplantation: eine Transplantation, bei der Donor und Empfänger verschiedene Individuen der gleichen Art sind, entweder genetisch identische (syngene Transplantation) oder genetisch verschiedene (allogene Transplantation).

## EINGEHENDE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

**[0023]** Im Laboratorium des gegenwärtigen Erfinders ist überraschend gefunden worden, dass die nützlichen Wirkungen von humanem Wachstumshormon, d.h. eine Stimulierung der Hämatopoese und Immunfunktion, bewahrt werden, während nachteilige Nebenwirkungen, d.h. eine erhöhte Gefahr der Implantatabstossung, verringert oder sogar eliminiert werden, wenn das humane Wachstumshormon den Patienten etwa 30 Tage nach der Implantation verabreicht wird.

**[0024]** Daher bezieht sich die Erfindung auf die Verwendung von humanem Wachstumshormon zur Herstellung eines Medikaments für die Stimulierung von Hämatopoese und Immunrekonstitution in menschlichen Patienten, das nicht eher als 30 Tage nach der Implantation von hämatopoetischen Stammzellen zu verabreichen ist.

**[0025]** Das erfindungsgemäss verwendete Medikament umfasst eine wirksame Menge an hGH. Die wirksame Menge an humanem Wachstumshormon umfasst bevorzugt etwa 0,01 bis 0,50 mg pro kg und Woche. Stärker bevorzugt umfasst sie etwa 0,10 bis 0,30 mg pro kg und Woche.

**[0026]** In einer stark bevorzugten Ausführungsform der Erfindung umfasst die wirksame Menge an humanem Wachstumshormon etwa 0,20 mg pro kg und Woche. Das bedeutet, dass für einen durchschnittlichen Erwachsenen mit einem Gewicht von 70 kg eine wöchentliche Menge von 14 mg an humanem Wachstumshormon verabreicht wird. Das humane Wachstumshormon wird bevorzugt jeden zweiten Tag in Einzeldosen von etwa 0,07 mg/kg verabreicht.

**[0027]** Humanes Wachstumshormon kann über eine ausgedehnte Zeitdauer wie zum Beispiel mehrere Monate oder sogar Jahre verabreicht werden.

**[0028]** In bevorzugten Ausführungsformen wird das Medikament systemisch verabreicht. Es kann vorteilhaft subkutan oder intramuskulär verabreicht werden.

**[0029]** Bevorzugtermassen umfasst das Medikament des Weiteren einen pharmazeutisch annehmbaren Träger, ein Vehikel, einen Stabilisator oder einen Hilfsstoff. Eine bevorzugte Formulierung für eine pharmazeutische Zusammensetzung, die humanes Wachstumshormon enthält, wird in WO 95 35116 beschrieben, wobei dies eine mit Saccharose stabilisierte Zusammensetzung ist. Das erfindungsgemäss Medikament kann als gefriergetrocknetes humanes Wachstumshormon aufbewahrt werden.

**[0030]** In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird das Medikament, in dem humanes Wachstumshormon enthalten ist, nicht eher als 30 Tage nach der Transplantation verabreicht.

**[0031]** Humanes Wachstumshormon (hGH), auch als Somatotropin bekannt, ist ein durch die somatotropen Zellen der Vorderhypophyse erzeugtes und sekretiertes Proteinhormon. Das hGH spielt durch seine Wirkungen auf den Metabolismus von Proteinen, Kohlenhydraten und Lipiden eine Schlüsselrolle im somatischen Wachstum.

**[0032]** Humanes Wachstumshormon ist eine einzelne Polypeptidkette von 101 Aminosäuren, die zwei Disulfidbindungen besitzt, die eine zwischen Cys-53 und Cys-165, die eine grosse Schleife im Molekül bildet, und die andere zwischen Cys-182 und Cys-189, die eine kleine Schleife in der Nähe des C-Terminus bildet.

**[0033]** Von hGH sind einige alternative Formen bekannt, darunter natürlich vorkommende Abkömmlinge, Varianten und Stoffwechselprodukte, Abbauprodukte primär von biosynthetischem hGH sowie technische Varianten von hGH, die mit genetischen Verfahren hergestellt werden. Jede Form von hGH kann für den Zweck der vorliegenden Erfindung verwendet werden, solange es die biologische Aktivität von hGH bewahrt.

**[0034]** Methionyl-substituiertes hGH war die erste Form von hGH, die durch rekombinante DNA-Technologie erzeugt wurde. Diese Verbindung ist eigentlich eine Variante von hGH, die eine zusätzliche Methioninruppe an ihrem N-Terminus trägt (Goeddel und Mitautoren, 1979).

**[0035]** Die erfindungsgemäße Verwendung umfasst daher auch ein Medikament, in dem eine Variante von humanem Wachstumshormon enthalten ist, wobei diese Variante bevorzugt methionyl-substituiertes hGH ist, das eine zusätzliche Methioninruppe an seinem N-Terminus trägt.

**[0036]** Eine als 20-K-hGH bekannte, natürlich vorkommende Variante von hGH kommt Berichten zufolge in der Hypophyse wie auch im peripheren Blut vor (Lewis und Mitautoren, 1978; Lewis und Mitautoren, 1980). Diese Verbindung, der die 15 Aminosäurereste von Glu-32 bis Gln-46 fehlen, entsteht bei einer alternativen Zusammenfügung der Messenger-Ribonucleinsäure (DeNoto und Mitautoren, 1981). Diese Verbindung hat viele, aber nicht alle biologischen Eigenschaften des hGH.

**[0037]** Die erfindungsgemäße Verwendung umfasst daher auch ein Medikament, das eine hGH-Variante enthält, der die 15 Aminosäurereste von Glu-32 bis Gln-46 fehlen.

**[0038]** Ein hGH, das am N-Terminus acetyliert ist, wurde isoliert und identifiziert (Lewis und Mitautoren, 1979). Es ist unklar, ob die Acetylierung eine regulatorische Rolle spielt oder nur ein Artefakt der Reinigung ist.

**[0039]** Die erfindungsgemäße Verwendung umfasst des Weiteren ein Medikament, das hGH enthält, das am N-Terminus acetyliert ist.

**[0040]** Humanes Wachstumshormon ist ein Gemisch von Monomeren, Dimeren und höhermolekularen Oligomeren. Zusätzlich finden sich aggregierte Formen von humanem Wachstumshormon sowohl in der Hypophyse als auch im Blutkreislauf (Stolar und Mitautoren, 1984; Stolar und Mitautoren, 1986). Anscheinend gibt es drei unterschiedliche Dimertypen: ein Disulfiddimer, das durch Disulfidbindungen zwischen den Ketten verbunden ist (Lewis und Mitautoren, 1977); ein kovalentes oder irreversibles Dimer, das auf Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelen gefunden wird und kein Disulfiddimer ist (Bewley und Mitautoren, 1975); und ein nicht kovalentes Dimer, das durch eine Behandlung mit Mitteln, die hydrophobe Wechselwirkungen in Proteinen aufbrechen, leicht zu monomerem hGH dissoziiert wird (Becker und Mitautoren, 1987). Zusätzlich bildet humanes Wachstumshormon einen dimeren Komplex mit  $Zn^{2+}$  (Cunningham und Mitautoren, 1991). Durch Scatchard-Analyse wurde gefunden, dass sich pro

hGH-Dimer zwei  $Zn^{2+}$ -Ionen kooperativ verbinden, und dieser dimere  $Zn^{2+}$ -hGH-Komplex erwies sich gegenüber der Denaturierung stabiler als monomeres hGH (Cunningham und Mitautoren, 1991).

**[0041]** Die erfindungsgemäße Verwendung umfasst ebenfalls ein Medikament, das ein Dimer von humanem Wachstumshormon enthält, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die ein über Disulfidbindungen zwischen den Ketten verbundenes Disulfid-Dimer, ein kovalentes irreversibles nicht sulfidisches Dimer, ein nicht kovalentes Dimer und deren Gemische enthält.

**[0042]** Eine Anzahl von hGH-Abkömmlingen entsteht durch proteolytische Abwandlungen des Moleküls. Der primäre Verlauf des Stoffwechsels beim hGH beinhaltet Proteolyse, und mehrere Abkömmlinge von hGH, die Einzelstrangbrüche oder Deletionen in diesem Bereich aufweisen, sind beschrieben worden (Thorlacius-Ussing, 1987). Dieser Bereich befindet sich in der grossen Schleife von hGH, und die Spaltung einer Peptidbindung führt dort zur Entstehung zweier Ketten, die durch die Disulfidbindung bei Cys-53 und Cys-165 verbunden sind. Berichten zufolge haben viele dieser zweikettigen Formen erhöhte biologische Aktivität (Singh und Mitautoren, 1974). Viele Abkömmlinge des humanen Wachstumshormons sind künstlich unter Verwendung von Enzymen erzeugt worden. Die Enzyme Trypsin und Subtilisin wie auch andere sind verwendet worden, um hGH an verschiedenen Stellen des ganzen Moleküls abzuwandeln (Lewis und Mitautoren, 1977). Ein solcher Abkömmling, bekannt als zweikettiges anabolisches Protein (2-CAP: two-chain anabolic protein), wurde durch die kontrollierte Proteolyse von hGH mit Trypsin gebildet. Es wurde gefunden, dass 2-CAP biologische Eigenschaften besitzt, die sich von denen des intakten hGH-Moleküls stark unterscheiden, indem die wachstumsfördernde Aktivität des hGH weitgehend bewahrt blieb, aber die meisten Auswirkungen auf den Kohlenhydratstoffwechsel verschwunden waren.

**[0043]** Asparagin- und Glutaminreste in Proteinen sind unter geeigneten Bedingungen für Desamidierungsreaktionen zugänglich. Es konnte gezeigt werden, dass Hypophysen-hGH diese Art von Reaktion eingeht, was dazu führt, dass Asn-152 in Asparaginsäure und Gln-137 in geringerem Ausmass in Glutaminsäure umgewandelt wird (Lewis und Mitautoren, 1981). Desamidiertes hGH erwies eine veränderte Empfindlichkeit gegenüber Proteolyse mit dem Enzym Subtilisin, was darauf hinweist, dass die Desamidierung vielleicht eine physiologische Bedeutung bei der gerichteten proteolytischen Spaltung von hGH besitzt. Von biosynthetischem hGH ist bekannt, dass es unter bestimmten Aufbewahrungsbedingungen abgebaut wird, was zu einer Desamidierung an einem anderen Asparagin (Asn-149) führt. Dies ist die

primäre Stelle für Desamidierung, aber Desamidierung am Asn-152 wird auch beobachtet (Becker und Mitautoren, 1988). Eine Desamidierung am Gln-137 ist für biosynthetisches hGH nicht berichtet worden.

**[0044]** Die erfindungsgemäße Verwendung umfasst daher auch ein Medikament, bei dem das humane Wachstumshormon desamidiert ist.

**[0045]** Methioninreste in Proteinen neigen dazu, oxidiert zu werden, und zwar primär zum Sulfoxid. Sowohl Hypophysen-hGH als auch biosynthetisches hGH erleidet Sulfoxidationen am Met-14 und Met-125 (Becker und Mitautoren, 1988). Eine Oxidation am Met-170 wurde ebenfalls für Hypophysen-hGH berichtet, aber nicht für biosynthetisches hGH. Sowohl für das desamidierte hGH als auch für das Met-14-sulfoxidierte hGH wurde die volle biologische Aktivität gefunden (Becker und Mitautoren, 1988).

**[0046]** Die erfindungsgemäße Verwendung umfasst daher auch ein Medikament, bei dem das humane Wachstumshormon an einem oder mehreren Methioninresten sulfoxidiert ist.

**[0047]** Verkürzte Formen von hGH sind entweder durch die Einwirkung von Enzymen oder durch genetische Verfahren hergestellt worden. Bei einem durch kontrollierte Einwirkung von Trypsin hergestellten 2-CAP fehen die ersten acht Reste am N-Terminus von hGH. Andere verkürzte Versionen von hGH sind durch Modifizierung des Gens vor der Expression in einem geeigneten Wirt erzeugt worden. Die ersten 13 Reste sind entfernt worden, um einen Abkömmling zu liefern, der deutlich andere biologische Eigenschaften besitzt und bei dem die Polypeptidkette nicht gespalten wird (Gerler und Mitautoren, 1986).

**[0048]** Obwohl menschliches Wachstumshormon ursprünglich aus Hypophysen von Toten gewonnen wurde, waren diese Zubereitungen elektrophoretisch nicht homogen, und Antikörper tauchten im Serum von Patienten auf, die mit Zubereitungen behandelt worden waren, deren Reinheit in der Größenordnung von 50 % lag, wobei die Immunogenität den inaktiven Komponenten zugeschrieben wurde. Rekombinante DNA-Technologie ermöglichte dann die Herstellung unbegrenzter Mengen von hGH in einer Anzahl verschiedener Systeme. Die Reinigung von hGH aus dem Kulturmedium wird durch die geringen Mengen an anwesenden, verunreinigenden Proteinen erleichtert. Es konnte tatsächlich gezeigt werden, dass hGH im Labormassstab durch einen einzigen Reinigungsschritt in einer Umkehrphasen-HPLC-Säule gereinigt werden kann.

**[0049]** In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird rekombinant erzeugtes humanes Wachstumshormon verwendet.

**[0050]** Rekombinantes hGH wird allgemein in Ampullen auf den Markt gebracht, die hGH und zusätzliche Vehikel wie Glycin und Mannit in gefriergetrockneter Form enthalten. Eine dazugehörige Verdünnungsampulle wird geliefert, die es dem Patienten ermöglicht, das Produkt vor Verabreichung der Dosis zur gewünschten Konzentration zu rekonstituieren. Die Mengen an hGH pro Ampulle können zum Beispiel 4 bis 6 mg betragen.

**[0051]** Nach intravenöser Verabreichung wird die Ausscheidung von hGH durch eine Kinetik erster Ordnung mit einer Serum-Halbwertszeit von 12 bis 30 Minuten beschrieben, und zwar sowohl in Tieren als auch im Menschen (Moore und Mitautoren, 1988; Hendricks und Mitautoren, 1985). Traditionell ist intramuskuläre Injektion das bevorzugte Verfahren der Verabreichung gewesen. Im Menschen scheint die Aufnahme von exogenem hGH von einer intramuskulären Stelle schneller zu sein, indem die Zeit bis zur maximalen Konzentration zwei bis drei Stunden beträgt, verglichen mit vier bis sechs Stunden nach subkutaner Verabreichung. Die Phase des Verschwindens aus dem Serum reicht, Berichten zufolge, von 12 – 20 Stunden für die intramuskuläre Verabreichung bis zu 20 – 24 Stunden nach subkutaner Verabreichung (Albertsson-Wikland und Mitautoren, 1986; Jorgensen und Mitautoren, 1987). Allgemein sind keine signifikanten Unterschiede in der Pharmakokinetik oder den biologischen Aktivitäten von rekombinantem hGH mit der natürlichen Sequenz, rekombinantem, N-methionyl-substituiertem hGH oder aus der Hypophyse gewonnenem Material im Menschen beobachtet worden (Moore und Mitautoren, 1988; Jorgensen und Mitautoren, 1988).

**[0052]** Das in der vorliegenden Erfindung eingesetzte humane Wachstumshormon kann funktionelle Abkömmlinge, wie oben vermerkt, wie auch andere Arten von Abkömmlingen, Fragmenten, Varianten, Analogen oder chemischen Derivaten einschliessen. Ein funktioneller Abkömmling bewahrt zumindest einen Teil der Aminosäuresequenz von hGH, wodurch seine Nützlichkeit in Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung, nämlich in der Behandlung von HSCT, ermöglicht wird.

**[0053]** Ein „Fragment“ von humanem Wachstumshormon bezieht sich der vorliegenden Erfindung gemäß auf jede Untermenge des Moleküls, d.h. auf ein kürzeres Peptid.

**[0054]** Eine „Variante“ von humanem Wachstumshormon bezieht sich der vorliegenden Erfindung gemäß auf ein Molekül, das im Wesentlichen entweder dem ganzen Peptid oder einem Fragment davon ähnlich ist. Peptidvarianten können bequem durch direkte chemische Synthese der Peptidvariante mit im Fach gut bekannten Verfahren hergestellt werden.

**[0055]** Alternativ können Aminosäurevarianten von hGH durch Mutationen in der cDNA hergestellt werden, die die synthetisierten hGH-Abkömmlinge kodiert. Zu solchen Varianten gehören Deletionen, Insertionen und Substitutionen von Resten innerhalb der Aminosäuresequenz. Obwohl jede Kombination von Deletionen, Insertionen und Substitutionen machbar ist, so wird doch bevorzugt, dass Substitutionen, solange das endgültige Konstrukt die gewünschte Aktivität besitzt, in einem Bereich von ein bis zehn Aminosäuresubstitutionen und bevorzugt in einem Bereich von ein bis fünf Aminosäuresubstitutionen bleiben. Der Fachmann wird erkennen, dass Deletionen und Insertionen, die leicht am N- oder C-Terminus erfolgen können, mit fachmännischer Erfahrung sehr wohl ohne unangemessenen Versuchsaufwand erzeugt und auf hGH-Aktivität geprüft werden können.

**[0056]** Auf der genetischen Ebene werden diese Varianten gewöhnlich durch site-directed (zielgerichtete) Mutagenese von Nucleotiden in der DNA, die das Peptidmolekül kodiert, hergestellt, wie zum Beispiel bei Adelman und Mitautoren (1983), wobei also die DNA erzeugt wird, die die Variante kodiert, und anschliessend in einer rekombinanten Zellkultur exprimiert. Die Varianten weisen im typischen Fall die gleiche qualitative biologische Aktivität auf wie ein nicht variantes Peptid.

**[0057]** Ein „Analoges“ des humanen Wachstumshormons bezieht sich der vorliegenden Erfindung gemäss auf ein nicht natürliches Molekül, das entweder dem ganzen Molekül oder einem aktiven Fragment dieses Moleküls im Wesentlichen ähnlich ist.

**[0058]** Ein „chemischer Abkömmling“ des humanen Wachstumshormons enthält der vorliegenden Erfindung gemäss zusätzliche chemische Gruppen, die normalerweise kein Teil der Aminosäuresequenz des humanen Wachstums[abkömmlings] sind. Kovalente Modifizierungen der Aminosäuresequenz sind im Rahmen dieser Erfindung einbezogen. Solche Modifizierungen können durch gezielte Reaktion der betroffenen Aminosäurereste mit einem organischen Derivatisierungsmittel, das in der Lage ist, mit ausgewählten Seitenketten oder endständigen Gruppen zu reagieren, in das humane Wachstumshormon eingeführt werden.

**[0059]** Diese Substitutionen, die der vorliegenden Erfindung gemäss am humanen Wachstumshormon erfolgen können, lassen sich auf eine Analyse der Häufigkeit von Aminosäurewechseln zwischen homologen Proteinen verschiedener Arten zurückführen. Auf der Basis einer solchen Analyse können konservative Substitutionen hier als Austausche innerhalb einer der folgenden fünf Gruppen definiert werden:

I. Kleine aliphatische, nicht oder wenig polare

Reste: Ala, Ser, Thr, Pro, Gly

II. Polare, negativ geladene Reste und ihre Amide: Asp, Asn, Glu, Gln

III. Polare, positiv geladene Reste: His, Arg, Lys

IV. Große, nicht polare aliphatische Reste: Met, Leu, Ile, Val, Cys

V. Große aromatische Reste: Phe, Try, Trp

**[0060]** Innerhalb der vorstehend aufgeführten Gruppen werden die folgenden Substitutionen als „hoch konservativ“ angesehen:

Asp/Glu

His/Arg/Lys

Phe/Tyr/Trp

Met/Leu/Val

**[0061]** Halbkonservative Substitutionen werden als Austausche zwischen zwei der obigen Gruppen I bis IV definiert, die beschränkt sind auf eine Supergruppe A, die aus den obigen Gruppen I, II und III besteht, bzw. auf eine Supergruppe B, die aus den obigen Gruppen N und V besteht. Substitutionen beschränken sich nicht auf die genetisch kodierten, und auch nicht auf die natürlich vorkommenden Aminosäuren. Wenn das Epitop durch Peptidsynthese hergestellt worden ist, kann die gewünschte Aminosäure direkt eingesetzt werden.

**[0062]** Alternativ kann eine genetisch kodierte Aminosäure modifiziert werden, indem sie mit einem derivatisierenden organischen Mittel umgesetzt wird, das in der Lage ist, mit ausgewählten Seitenketten oder endständigen Gruppen zu reagieren.

**[0063]** Cysteinylreste werden meistens mit  $\alpha$ -Halogencacetaten (und den entsprechenden Aminen) wie Chloressigsäure oder Chloracetamid zu Carboxymethyl- oder Carboxyamidomethylabkömmlingen umgesetzt. Cysteinylreste werden auch durch Umsetzung mit Bromtrifluoracet,  $\alpha$ -Brom- $\beta$ -(5-imidazoyl)propionsäure, Chloracetylphosphat, N-Alkylmaleimiden, 3-Nitro-2-pyridyldisulfid, Methyl-2-pyridyldisulfid, p-Chlormercuribenzoat, 2-Chlormercuri-4-nitrophenol oder Chlor-7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol derivatisiert.

**[0064]** Histidylreste werden durch Umsetzung mit Diethylpyrocarbonat bei pH-Werten von 5,5 bis 7 derivatisiert, weil dieses Mittel für die Histidylseitenkette verhältnismässig spezifisch ist. p-Bromphenacylbormid ist auch nützlich; die Reaktion erfolgt bevorzugt in 0,1 M Natriumkakodylat bei pH 6,0.

**[0065]** Endständige Lysinyl- und Aminoreste werden mit Bernstein- oder anderen Carbonsäureanhydriden umgesetzt. Eine Derivatisierung mit diesen Mitteln bewirkt eine Ladungsumkehr der Lysinylreste. Andere geeignete Reagentien für eine Derivatisierung von  $\alpha$ -Aminosäuren enthaltenden Resten sind Imidoester wie Methylpicolinimidat, Pyridoxalphos-

phat, Pyridoxal, Chlorboran, Trinitrobenzolsulfonsäure, O-Methylisoharnstoff, 2,4-Pentandion und die durch Transaminase katalysierte Reaktion mit Glyoxylat.

**[0066]** Arginylreste werden durch Umsetzung mit einem oder mehreren herkömmlichen Reagentien modifiziert, darunter Phenylglyoxal, 2,3-Butandion und Ninhydrin. Die Derivatisierung von Argininresten setzt voraus, dass die Reaktion wegen des hohen  $pK_a$ -Wertes der funktionellen Guanidingruppe unter alkalischen Bedingungen ausgeführt wird. Des Weiteren können diese Reagentien mit den Gruppen von Lysin wie auch mit der  $\epsilon$ -Aminogruppe von Arginin reagieren.

**[0067]** Per se ist die spezielle Modifizierung von Tyrosylresten ausgiebig untersucht worden, wobei ein besonderes Interesse in der Einführung von spektralen Labels in Tyrosylreste durch Umsetzung mit aromatischen Diazoniumverbindungen oder Tetranitromethan vorlag. Meistens werden N-Acetylimidazol und Tetranitromethan verwendet, um O-Acetyltyrosyl- bzw.  $\epsilon$ -Nitroabkömmlinge zu bilden.

**[0068]** Carboxyl-Seitengruppen (Aspartyl oder Glutamyl) werden selektiv durch Umsetzung mit Carbodiimiden ( $R'N-C-NR'$ ) wie 1-Cyclohexyl-3-[2-morpholino-(4-ethyl)]carbodiimid oder 1-Ethyl-3-(4-azonia-4,4-dimethylpenty)carbodiimid modifiziert. Des Weiteren werden Aspartyl- und Glutamylreste durch Umsetzung mit Ammoniumionen in Asparaginyl und Glutaminylreste umgewandelt.

**[0069]** Glutamyl- und Asparaginylreste werden oft zu den entsprechenden Glutamyl- und Aspartylresten desamidiert. Alternativ werden diese Reste unter mild sauren Bedingungen desamidiert. Beide Formen dieser Reste fallen in den Bereich dieser Erfindung.

**[0070]** In weiteren vorteilhaften Ausführungsformen der Erfindung umfasst das erfindungsgemäße Medikament ein Fragment des humanen Wachstumshormons. Das Fragment kann ein verkürztes humanes Wachstumshormon sein, dem die ersten acht oder die ersten 13 Aminosäuren fehlen.

**[0071]** Die vorliegende Erfindung ist dafür bestimmt, als eine bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung Patienten zu behandeln, die sich einer nicht autologen Transplantation hämatopoetischer Stammzellen unterziehen. Das verabreichte humane Wachstumshormon ist bevorzugt rekombinantes humanes Wachstumshormon (rhGH).

**[0072]** Während die vorliegende Erfindung mit Abkömmlingen von rekombinantem humanem Wachstumshormon ausgeführt werden kann, die zum Beispiel in prokaryontischen oder eukaryontischen Zel-

len mit rekombinanter DNA-Technologie hergestellt werden können, ist es auch möglich, diese Abkömmlinge mit herkömmlichen Methoden der Proteinsynthese zu erzeugen, mit denen der Fachmann gut vertraut ist.

**[0073]** Die Verwendung eines Medikaments zur Verabreichung gemäss vorliegender Erfindung kann zumindest hGH und/oder hGH-Fragmente, -Varianten, -Analoga oder deren chemische Abkömmlinge in einer pharmazeutisch annehmbaren Form, wahlweise mit einem annehmbaren Träger kombiniert, einschliessen.

**[0074]** Diese Zusammensetzungen können auf jede Weise verabreicht werden, die den beabsichtigten Zweck erfüllt. Zum Beispiel kann die Verabreichung parenteral wie auf subkutanem, intravenösem, intramuskulärem, intraperitonealem, transdermalem oder bukkalem Wege erfolgen. Die verabreichte Dosis hängt vom Alter, der Gesundheit und dem Gewicht des Empfängers, dem Typ einer eventuellen voraufgegangenen oder gleichzeitigen Behandlung, der Häufigkeit der Behandlung und der Natur der erwünschten Wirkung ab.

**[0075]** Geeignete Formulierungen für eine parenterale Verabreichung sind unter anderem wässrige Lösungen der aktiven Verbindungen in einer wasserlöslichen Form, zum Beispiel wasserlösliche Salze. Außerdem kann eine Aufschämmung der aktiven Verbindung in Gestalt geeigneter öiger Injektions-Aufschämmungen verabreicht werden. Geeignete lipophile Lösungsmittel oder Vehikel sind unter anderem Fettsäuren, zum Beispiel Sesamöl, oder synthetische Fettsäureester, zum Beispiel Ethyoleat oder Triglyceride. Wässrige Injektions-Aufschämmungen, die Substanzen enthalten können, die die Viskosität der Aufschämmung erhöhen, sind unter anderem Natrium-carboxymethylcellulose, Sorbit und/oder Dextran. Wahlweise kann die Aufschämmung auch Stabilisatoren enthalten.

**[0076]** Die zu verabreichenden Mengen an hGH können auch individuell festgelegt werden. Es gehört zum Können von Fachleuten. Eine Dosierung kann bei etwa 1 Mikrogramm je Kilogramm des Patientengewichts und Tag beginnen und wird gesteigert, bis die erwünschte Wirkung erreicht ist. Es versteht sich, dass die geeignete Dosis auch vom Alter, Geschlecht und der Gesundheit des Empfängers abhängen wird. Die am meisten bevorzugte Dosierung wird spezifisch auf die jeweilige Person zugeschnitten, wie vom Fachmann der relevanten Richtung verstanden und bestimmt. Siehe beispielsweise Avery's Drug Treatment: Principles and Practices of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 3. Auflage, ADIS Press, Ltd., Williams and Wilkins, Baltimore MD (1987), und Ebadi, Pharmacology, Little, Brown & Co., Boston MA (1985), die als zitierte Literatur im Ganzen durch Be-

zugnahme hierin einbezogen werden.

**[0077]** Die Gesamtdosis, die für jede Behandlung erforderlich ist, kann in Mehrfachdosen oder in einer Einzeldosis verabreicht werden. Die Zusammensetzung kann allein oder in Verbindung mit anderen Therapeutika verabreicht werden, die gegen die Erkrankung oder andere Symptome der Erkrankung gerichtet sind.

## LITERATUR

Adelman und Mitautoren, DNA 2: 183 – 193 (1983).  
 Albersson-Wikland und Mitautoren, Acta Paediatr. Scand. 75: 89 – 97 (1986).  
 Appelbaum, F. R., Cancer 72: 3387 – 3392 (1993).  
 Becker und Mitautoren, Biotechnol. Appl. Biochem. 9: 478 – 487 (1987).  
 Becker und Mitautoren, Biotechnol. Appl. Biochem. 10: 326 – 337 (1988).  
 Bewley und Mitautoren, Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 42: 73 – 166 (1975).  
 Broyer, M., Acta Paediatr. Suppl. 417: 76 – 79 (1996).  
 Cunningham und Mitautoren, Science 253: 545 – 548 (1991).  
 DeNoto und Mitautoren, Nucleic Acids Res. 9: 3719 – 3730  
 Derfalvi und Mitautoren, Pediatr. Nephrol. 5: 147 – 151 (1991).  
 Fischer und Mitautoren, Springer Semin. Immunopathol. 19: 479 – 492 (1998).  
 Friedman, A. L., J. Pediatr. 131: S25 – S27 (1997).  
 Geffner, M., Acta Paediatr. Suppl. 423: 76 – 79 (1997).  
 Gertler und Mitautoren, Endocrinology 118: 720 – 726 (1986).  
 Goeddel und Mitautoren, Nature 281: 544 – 548 (1979).  
 Hendricks und Mitautoren, J. Clin. Endocrinol. Metab. 60: 864 – 867 (1985).  
 Johansson und Mitautoren, Acta Paediatr. Scand. Suppl. 370: 36 – 42 und Diskussion 43 (1990).  
 Jorgensen und Mitautoren, Acta Endocrinol. (Copenh.) 116: 381 – 386 (1987).  
 Jorgensen und Mitautoren, Pharmacol. Toxicol. 63: 129 – 134 (1988).  
 Kimata und Mitautoren, J. Clin. Endocrinol. Metab. 78: 635 – 641 (1994).  
 Lewis und Mitautoren, J. Biol. Chem. 252: 3697 – 3702 (1977a).  
 Lewis und Mitautoren, Endocrinology 101: 1587 – 1603 (1977b).  
 Lewis und Mitautoren, Endocrinology 104: 1256 – 1265 (1979).  
 Lewis und Mitautoren, J. Biol. Chem. 256: 11645 – 11650 (1981).  
 Lewis und Mitautoren, Endocrinology 101: 1587 – 1603 (1977b).  
 Merchav und Mitautoren, Br. J. Haematol. 70: 267 – 271 (1988).

Miller und Mitautoren, Hematol. Oncol. Clin. North Am. 8: 975 – 992 (1994).  
 Moore und Mitautoren, Endocrinology 122: 2920 – 2926 (1988).  
 Sarna und Mitautoren, J. Clin. Endocrinol. Metab. 81: 1476 – 1482 (1996).  
 Singh und Mitautoren, Endocrinology 94: 883 – 891 (1974).  
 Stolar und Mitautoren, J. Clin. Endocrinol. Metab. 59: 212 – 218 (1984).  
 Stolar und Mitautoren, Metabolism 35: 75 – 77 (1986).  
 Thorlacius-Ussing, O., Neuroendocrinology 45: 233 – 242 (1987).  
 Tian und Mitautoren, Stem Cells 16: 193 – 199 (1998).  
 Valerio und Mitautoren, Horm. Res. 47: 62 – 66 (1997).  
 Vihervuori und Mitautoren, Blood 87: 2075 – 2081 (1996).  
 Waters und Mitautoren, Bone Marrow Transplant. 21: 641 – 650 (1998).  
 Wiedermann und Mitautoren, Brain Behav. Immun. 6: 387 – 393 (1992).

## Patentansprüche

1. Verwendung von humanem Wachstumshormon für die Herstellung eines Medikaments zur Stimulierung von Hämatopoiese und Immunrekonstitution bei menschlichen Patienten, das nicht eher als 30 Tage nach der Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen zu verabreichen ist.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament eine wirksame Menge humanen Wachstumshormons umfasst.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die wirksame Menge humanen Wachstumshormons 0,01 bis 0,50 mg pro kg und Woche umfasst.
4. Verwendung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die wirksame Menge humanen Wachstumshormons 0,10 bis 0,30 mg pro kg und Woche umfasst.
5. Verwendung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die wirksame Menge humanen Wachstumshormons 0,20 mg pro kg und Woche umfasst.
6. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass das humane Wachstumshormon in Einzeldosen von 0,07 mg/kg verabreicht wird.
7. Verwendung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass das humane Wachstumshormon jeden zweiten Tag verabreicht wird.

8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament subkutan verabreicht wird.

9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament intramuskulär verabreicht wird.

10. Verwendung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament ein Fragment, ein Analoges, eine Variante oder einen chemischen Abkömmling von humanem Wachstumshormon mit der die Hämatopoese stimulierenden Aktivität des humanen Wachstumshormons umfasst.

11. Verwendung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament weiter einen Träger, ein Vehikel, einen Stabilisator oder ein Adjuvans enthält, die pharmazeutisch annehmbar sind.

12. Verwendung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament rekombinant erzeugtes humanes Wachstumshormon umfasst.

13. Verwendung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament eine Variante von humanem Wachstumshormon umfasst.

14. Verwendung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Variante von humanem Wachstumshormon methionyl-substituiertes humanes Wachstumshormon ist, das eine zusätzliche Methioningruppe am N-Terminus des humanen Wachstumshormons besitzt.

15. Verwendung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Variante von humanem Wachstumshormon ein humanes Wachstumshormon ist, dem die 15 Aminosäurereste von Glu32 bis Glu46 fehlen.

16. Verwendung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament ein Fragment von humanem Wachstumshormon umfasst.

17. Verwendung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass das Fragment ein verkürztes humanes Wachstumshormon ist, von dem die ersten acht Aminosäurereste am N-Terminus entfernt worden sind.

18. Verwendung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass das Fragment ein verkürztes humanes Wachstumshormon ist, von dem die ersten 13 Aminosäurereste am N-Terminus entfernt worden

sind.

19. Verwendung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament ein Dimer von humanem Wachstumsfaktor umfasst, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus einem durch Zwischenketten-Disulfidbindungen verbundenen Disulfid-Dimer, einem irreversiblen kovalenten Nichtdisulfid-Dimer, einem nicht kovalenten Dimer und deren Mischungen besteht.

20. Verwendung nach einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament einen chemischen Abkömmling von humanem Wachstumshormon umfasst.

21. Verwendung nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass das humane Wachstumshormon am N-Terminus acetyliert ist.

22. Verwendung nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass das humane Wachstumshormon desaminiert ist.

23. Verwendung nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass das humane Wachstumshormon an einem oder mehreren Methioninresten sulfoxidiert ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen