

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 880101 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application **880101**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
**A61K 9/10
A61K 37/36**

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **11.01.1988**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **11.01.1988**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **13.07.1988**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

(32) (33) (31) Etu oikeus - Prioritet - Priority

12.01.1987 US 002536

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • American Cyanamid Company, One Cyanamid Plaza, Wayne, NJ 07470-8426, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Tyle, Praveen, USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Jatkuvasti vaikuttavia kasvuhormonikoostumuksia ruoan sulatuskanavan ulkopuolista antomuotoa varten ja niiden käyttö
Kontinuerligt verkande tillväxthormonkompositioner för parenteral dosering och deras användning

Jatkuvasti vaikuttavia kasvuhormonikoostumuksia ruoansulatuskanavan ulkopuolista antomuotoa varten ja niiden käyttö

5 Kehitykset biotekniikan ja geeniteknologian aloilla ovat johtaneet riittävien määrien biologisesti aktiivisia makromolekyylejä, kuten kasvuhormoneja ja/tai vastaavia yhdisteitä, saatavuuteen, tehden näiden aineiden antamisen kaupallisessa mittakaavassa taloudellisesti mahdolliseksi. Kasvuhormonien ja/tai vastaavien yhdisteiden
10 antamisen eläimille on ilmoitettu saavan aikaan hyödyllisiä vaikutuksia, kuten painon nousua, lisääntyntä maidon tuotantoa maitoa tuottavissa eläimissä, lisääntyntä kasvunopeutta, kasvavaa syötön tehokkuutta, kasvavaa lihasten
15 kasvua, vähentynyttä kehon rasvaisuutta ja parempaa rasvaton liha/rasva-suhdetta. Edellä esitetyt hyödylliset vaikutukset voidaan aikaansaada päivittäisellä injektioilla tai jaksottaisella injektioilla jatkuvasti vaikuttavia tai pitkitetysti vaikuttavia koostumuksia.

20 Multippeli vesi-öljy-vesi-emulsiot esitettyinä W/O/W-emulsioina, jotka on kuvattu sopivina apuaineina kemoterapeuttisten aineiden antamista varten, ovat tunnettuja alalla. Multippeli W/O/W-emulsioiden käyttö insuliinin oraalista antomuotoa varten on osoitettu.

25 Tämän keksinnön kohteena on valmistaa injektoitavia jatkuvasti vaikuttavia kasvuhormoni- ja/tai vastaavan yhdisteen koostumuksia, joissa sisäinen vesifaasi sisältää kasvuhormonia ja/tai vastaavaa yhdistettä, jolloin sisäinen vesipitoinen faasi sisältää kasvuhormonin ja/tai
30 vastaavan yhdisteen emulgoituna öljyfaasiin, joka vuorostaan on emulgoitunut vesipitoiseen faasiin.

Tämän keksinnön kohteena ovat uudet jatkuvasti vaikuttavat multippeli vesi-öljy-vesi ($W_1/O/W_2$)-emulsiot, jotka sisältävät sisäisen vesipitoisen faasin (W_1), joka
35 sisältää kasvuhormonia, kasvutekijää, somatomeidiiniä tai

biologisesti aktiivista osaa tai sen johdannaista; dispergoituneena veteen sekoittumattomaan nesteeseen tai öljyfaasiin (W_1); dispergoituneena ulkoiseen vesipitoiseen faasiin (W_2). Keksinnön kohteena ovat myös menetelmät biologisesti aktiivisen kasvuhormonin, kasvutekijän, somatomediinin tai biologisesti aktiivisen osan tai sen johdannaisen veriarvojen kohottamiseksi ja niiden ylläpitämiseksi korkeina tarkoituksena lisätä painon kasvua, kasvun nopeutta, maidon tuotantoa tai lihaksen kokoa, parantaa rehun tehokkuutta ja/tai pienentää kehon rasvaisuutta ja parantaa rasvattoman lihan/rasvan suhdetta eläimessä.

Keksinnön mukaiset koostumukset sisältävät painon suhteen sisäisestä vesipitoisesta faasista (W_1) n. 55 % - 99,7 % vettä, 0,2 % - 5 % suoloja ja/tai puskureita, 0,1 % - 40 % kasvuhormonia, kasvutekijää, somatomediiniä tai biologisesti aktiivista osaa tai sen johdannaisia, 0 % - 40 % polyolia, glykolia tai sokeria ja 0 % - 2 % säilöntäaineita ja/tai stabilointiaineita, dispergoituneena öljyfaasiin (W_2), jossa on n. 65 % - 98 % farmaseut-tisesti ja farmakologisesti hyväksyttävää öljyä tai veteen sekoittumatonta nestettä, 2 % - 40 % ei-ionista pinta-aktiivista ainetta (aineita), 0 % - 15 % sakeutinta, geeliytymisainetta tai niiden seosta, dispergoituneena toiseen vesipitoiseen faasiin (W_2), jossa on n. 38 % - 98 % vettä, 0,2 % - 5 % suoloja ja/tai puskureita, 2 % - 20 % ei-ionista pinta-aktiivista ainetta (aineita), 0 % - 15 % sakeutinta, geeliytymisainetta tai niiden seosta, 0 % - 2 % säilöntäaineita ja/tai stabilointiainetta, 0 % - 60 % polyolia, glykolia tai sokeria. Keksinnön edulliset koostumukset sisältävät $W_1/O/W_2$ -emulsiota painosuhteina 1/1/1 - 1/3/8 eri faaseja, kuten edellä on kuvattu.

Stabilointi-, säilöntä-, pinta-aktiiviset aineet, glykolit, polyolit, sokerit, sakeuttimet, geeliytymisaineet, suolat, puskurit ja niiden seokset, joita käytetään keksinnön mukaisissa koostumuksissa, käsittävät tavallisesti

painon suhteen 10 % - 25 % ja edullisesti 14 % - 25 % kokonaiskoostumuksesta. Nämä täyteaineet mahdollistavat multippeliemulsion maksimistabiilisuuden säätää lopullisen koostumuksen viskositeettia ja biologisesti aktiivisen aineen vapautumisen nopeutta sisäisestä vesipitoisesta faasista aikaansaamalla tarkoituksenmukaisen konsentraatiogradientin sisäisen vesipitoisen faasin (W_1) ja ulkoisen vesipitoisen faasin (W_2) välille.

Edullisia suoloja ja puskureita, joita käytetään keksinnön mukaisissa vesipitoisissa faaseissa, ovat ne, joita tavallisesti käytetään fosfaattipuskuroitujen suolaliuosten (PBS) valmistuksessa, joka sisältää $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,025 moolia), Na_2HPO_4 (0,025 moolia) ja NaCl (0,15 moolia), säädettyinä pH 7,1:een, karbonaattipuskuroidun suolaliuoksen (CBS) valmistukseen, joka sisältää Na_2CO_3 (0,025 moolia), NaHCO_3 (0,025 moolia) ja NaCl (0,15 moolia), säädettyinä pH 9,4:ään; ja suolaliuosta.

Edullisia stabilointiaineita, joita käytetään keksinnön mukaisissa koostumuksissa, ovat dehydroetikkahappo ja sen suolat, edullisesti natriumsuola; salisyylilanilidi; sorbiinihappo, boorihappo, bentsoehappo ja sen suolat; natriumnitriitti ja natriumnitraatti.

Edullisia ei-ionisia pinta-aktiivisia aineita käytettäväksi keksinnön mukaisissa koostumuksissa ovat sorbitaani-oleaatit ja stearaatit, polyetoksyloidut sorbitaani-oleaatit ja etyleenioksidin ja propyleenioksidin segmenttikopolymeerit; kokonaismäärien 2 % - 20 % painon suhteen, jakautuneena öljyfaasin (O) ja ulomman vesipitoisen faasin välillä, ollessa edullisia.

Tämän keksinnön edullinen suoritusmuoto on 1 - 10 %:n sorbitaanimono-oleaattia, sorbitaanitrioleaattia, sorbitaaniseskvi-oleaattia, etoksyloitua (5) soijasterolia tai sorbitaanimonostearaattia lisääminen öljyfaasiin (O); yhdessä 1,0 - 10 %:n lisäyksen kanssa polyoksietyleni (20) sorbitaanimono-oleaattia tai etyleenioksidin ja propyleenioksidin segmenttikopolymeeriä, ulompaan vesipitoiseen faasiin (W_2).

Sakeuttimet, geelilytymisaineet ja sokerit, jotka ovat käyttökelpoisia keksinnön mukaisissa koostumuksissa, voivat olla luonnossa esiintyviä tai synteettistä alkuperää. Sakeuttimet, geelilytymisaineet, suspendoimisaineet, 5 täyteaineet, paineen tasaajat tai sokerit alumiinimonostearaatin, alumiinidistearaatin, alumiinitristearaatin, gelatiinin, polyvinyylipyrrolidonin, natriumalginaatin, natriumkarboksimeyyyliselluloosan, metyyyliselluloosan, polyetyleeniglykolin, sorbitolin, mannitolin, glyserolin 10 ja laktoosin kanssa, ovat edullisia.

Farmaseuttisesti ja farmakologisesti hyväksyttävät veteen sekoittumattomat nesteet, jotka ovat sopivia käytettäväksi keksinnön mukaisessa öljyfaasissa, käsittävät öljyt, nestemäiset rasvat, veteen sekoittumattomat alko- 15 holit ja glykolit tai niiden seokset.

Edullisia veteen sekoittumattomia nesteitä käytettäväksi öljyfaasina (O) keksinnön mukaisissa koostumuksissa, ovat rasvahappoglyseridit ja niiden seokset, jotka ovat nestemäisiä huoneen lämpötiloissa. Kuvaavia esimerkkejä ovat synteettiset öljyt, kevyet mineraaliöljyt, ras- 20 kaat mineraaliöljyt, kasviöljyt, kuten oliivi-, seesami-, maapähkinä-, auringonkukka-, soi-japapu-, puuvillansiemen-, maissi-, saflori-, palmu-, rapsi- ja kookosöljy; eläinöljyt, kuten kalaöljyt, kalanmaksaöljyt, valaanrasva; tai 25 niistä johdetut fraktiot; ja niiden seokset.

Biologisesti aktiivisia aineita, jotka ovat sopivia keksinnön mukaisten koostumusten antomuotoa varten, ovat kasvuhormonit, somatomeidiinit, kasvutekijät ja muut biologisesti aktiiviset osat ja niiden johdannaiset. Edul- 30 lisia aineita ovat sarvikarjan, hevosen, sian, linnun ja ihmisen kasvuhormonit. Termi kasvuhormonit käsittää ne kasvuhormonit, jotka ovat luonnollista, synteettistä, rekombinanttista tai biosynteettistä alkuperää.

Keksintöä kuvataan vielä seuraavien ei-rajoittavien 35 esimerkkien avulla.

Esimerkki 1Jatkuvasti vaikuttavien kasvuhormonimultippeliemulsio-
koostumusten valmistaminenMenetelmät

5 A. Emulgointi injektioruiskutekniikalla

Lyofilisoitu rekombinantti sarvikarjakasvuhormoni liuotetaan ensimmäiseen vesipitoiseen faasiin (W_1) ja otetaan sitten talteen 10 ml:n lasi-injektioruiskuun. Öljyfaasi otetaan talteen toiseen injektioruiskuun. Kaikki ilma poistetaan molemmista injektioruiskuista ja yhdistetään sitten kolmitiehanalla Luer-Lok kiinnikkeillä (Pharmaseal K75). Molemmat faasit sekoitetaan antamalla niiden kulkea injektioruiskusta toiseen tietty määrä kertoja. Kaikki näytteet (W_1/O primaarinen emulsio) kaadetaan sitten kokonaan toiseen injektioruiskuun ja sekundaarinen vesipitoinen faasi (W_2) otetaan talteen toiseen injektioruiskuun. Multippeliemulgointi ($W_1/O/W_2$) suoritetaan taas kaatamalla injektioruiskun sisältö edestakaisin. Riittävä multippeliemulsio valmistetaan aikaansaamaan annos testausta varten.

20 Emulsiot sekoitetaan uudelleen ennen jokaista injektiota sen varmistamiseksi, että primaarisen emulsion homogeeninen dispersio on annettavissa.

B. Emulgointi homogenoimalla

Lyofilisoitu rekombinantti sarvikarjakasvuhormoni liuotetaan primaariseen vesipitoiseen faasiin (W_1) dekanterilasissa ja öljyfaasit lisätään dekanterilasiin jatkuvalla homogenoinnilla Tissumizer'in (Tekmar, malli SDT-1890) avulla alhaisella nopeudella (20-40 V). Muodostunut W_1/O primaarinen emulsio lisätään sitten homogenoimalla dekanterilasiin, joka sisältää ulomman vesipitoisen faasin (W_2). Muodostunut multippeliemulsio tarkistetaan mikroskoopilla.

30

Käyttäen edellä esitettyjä menetelmiä aineiden kanssa, jotka on lueteltu seuraavassa taulukossa I, saadaan multippeli ($W_1/O/W_2$) emulsiokasvuhormonikoostumukset, jotka on lueteltu seuraavassa taulukossa II.

35

Taulukko I

<u>Lyhennys</u>	<u>Aine</u>
K. Alg	kaliumalginaatti
HVO	hydrattu kasviöljy
5 LMO	kevyt mineraaliöljy
HMO	raskas mineraaliöljy
CBS	karbonaatilla puskuroitu suolaliuos
CB	karbonaattipuskuri
Gel	liivatetyyppeä A, 150 Bloom
10 Corn	maissiöljy
Cot	puuvillansiemenöljy
Ses	seesamiöljy
Lect	lesitiini UF-H
AMS	alumiinimonostearaatti
15 Dextrin	karboksihydraatti (Nadex 772)
BW	mehiläisvaha
Sq	skvaliini
CO	risiiniöljy (Trylox-CO5, Emery)
CMC	karboksimetyyliselluloosa
20 PG	propyleeniglykoli
STO	sorbitaanitrioleaatti
SMO	sorbitaanimononoleaatti
SSO	sorbitaaniseskvioleaatti
MMO	mannidimononoleaatti
25 PSMS	polyoksietyleni (20) sorbitaanimonostearaatti
PSMO	polyoksietyleni (20) sorbitaanimononoleaatti
SMS	sorbitaanimonostearaatti
PSML	polyoksietyleni (20) sorbitaanimonolauraatti
PSE	polyoksietyleni (2) stearyylieetteri
30 POE	polyoksietyleni (2) oleyylieetteri
SLI	natriumlauriminodipropionaatti
BCP ₁	etyleenioksidin ja propyleenioksidin segmenttikopolymeeri
	keskimääräinen molekyylipaino - 8,350
35 BCP ₂	etyleenioksidin ja propyleenioksidin segmenttikopolymeeri
	keskimääräinen molekyylipaino - 5,000

Taulukko I (jatkuu)

<u>Lyhennys</u>	<u>Aine</u>
BCP ₃	etyleenioksidin ja propyleenioksidin segmenttikopolymeeri
5	keskimääräinen molekyylipaino - 7,700
BCP ₄	etyleenioksidin ja propyleenioksidin segmenttikopolymeeri
	keskimääräinen molekyylipaino - 10,800
BCP ₅	etyleenioksidin ja propyleenioksidin segmenttikopolymeeri
10	keskimääräinen molekyylipaino - 12,500
Sorb	sorbitoli vesipitoinen liuos USP (70 % paino/paino)
EPS	etoksyloitu (5) fytosteroli

Taulukko II

Multippeliemulsiokasvuhormonikoostumukset

Koos- tutus	Faasi W ₁ , joka sisältää kasvuhormonia		Faasi O		Faasi W ₂		W ₁ /O/W ₂ suhte
	Komponentit (% w/w)		Komponentit (% w/w)		Komponentit (% w/w)		
1	CBS (100)		LMO(90), STO(10)		CBS(93), Sorb(5), PSVO(2)		1/1/1,33
2	CBS (100)		HMO(96), SMO(10), AMS(2), PSVO(2)		CBS(93), PSVO(2), Sorb(5)		1/1/1,33
3	CBS (100)		HMO(92,3), SMS(7,7)		CBS(97), BCP ₁ (3)		1/1/1,33
4	CBS (100)		HMO(89), EPS(11)		CBS(97), BCP ₁ (3)		1/1/1,33
5	CBS (100)		HMO(90), MVO(10)		CBS(93), PSVO(2), Sorb(5)		1/1/2
6	CBS (100)		HMO(82), Lect. (13), PSVO(5)		CBS(91), SMO(2), PSVO(7)		1/1/2
7	CBS (100)		LMO(88), AMS(1), MVO(10), PSVO(1)		CBS(97.8), Gel(0.2), PSVO(2)		1/1/1
8	CBS (100)		LMO(76), AMS(2), MVO(20), PSVO(2)		CBS(97), BCP ₁ (3)		1/1/2
9	CBS (100)		LMO(89), AMS(1), STO(10)		CBS(93), Sorb(5), PSVO(2)		1/1/2
10	K.Alg(0.36), Sorb.(5), PSVO(2), CBS		HVO(67), MVO(33),		CBS(93), Sorb(5), PSVO(2)		1/1/1
11	Dextrin(3), CBS(90)		HMO(87,2), SSO(10.5), PSMS(2,3)		CBS(96), Gel(2), PSVO(2)		1/3/2
12	CBS (100)		LMO(89), AMS(10), STO(1)		CBS(96), Gel(2), PSVO(2)		1/3/8
13	CBS (100)		LMO(89), AMS(1), STO(10)		CBS(93), Sorb(5), PSVO(2)		1/1/1,33
14	CBS (100)		LMO(89), AMS(1), STO(10)		CBS(93), Sorb(5), PSVO(2)		1/1/1,33
15	CBS (73), Sorb(25), BCP ₁ (2)		BCP ₂ (12,5), Sq(50), Bx(37,5)		CBS(18,75), Sorb(67,5), PSVO(13.75)		1/1/2
16	CBS(67), Sorb (33)		Corn (83,4), CO(16,6)		CBS(95,15), OVC(2), PSVO(1), PSML(1), NaCl(0/85)		1/2/2
17	CBS(67), Sorb(33)		Cot(83,75), PSE(11,25), POE(5)		CBS(83,3)CO(16,6)		1/2/2
18	CBS(100),		Ses(95), SMO(5),		CBS(90), BCP ₃ (5), BCP ₄ (5)		1,5/2,5

Esimerkki 2Keksinnön injektoitavien koostumusten tehokkuus

Tämän keksinnön injektoitavien koostumusten tehokkuus osoitetaan käyttäen kokeessa rottia, joiden aivolisäke oli poistettu (hypox). Rotta, jolta aivolisäke on poistettu ei muodosta omaa kasvuhormonia ja on herkkä injektoitavan sarvikarjakasvuhormonin suhteen. Mitattu vaikutus on kasvu ajanjakson, kuten 10 päivän aikana.

Jokainen hypox albinorotta (Taconic Farms, Sprague Dawley'stä peräisin) injektoidaan riittävällä määrällä edustavia koostumuksia, jotka on valmistettu esimerkissä 1, antamaan 2400 mikrogramman annos sarvikarjan kasvuhormonia 0,2 ml:ssa $W_1/O/W_2$ multippeliemulsiota.

Testimenetelmä

Ennen testiä eläimet punnitaan ja testissä käytettävät eläimet valitaan perustuen eläimen painoon. Ainoastaan ne eläimet, joiden painot ovat yhden normaalikeski-poikkeaman päässä ryhmän eläinten keskipainosta, valitaan. Saatu ryhmä jaetaan sitten satunnaisesti käsittelyryhmiin, jotka käsittävät 8 rottia/ryhmä, tietokoneen satunnaisohjelman avulla. Koe-eläimet siirretään sitten puhtaaseen häkkiin, jossa on 4 rottia/häkki. Tutkimuksen ensimmäisenä päivänä koe-eläimet punnitaan ja kaikki eläimet, joiden paino on liian korkea tai matala ($\pm$ grammaa) korvataan. Sitten eläimet määritetään testiryhmiin ja käsitellään.

Kymmenen päivän koeajan lopulla kunkin eläimen kokonaispainon lisäys luetteloidaan ja keskimääräinen painon lisäys rottia kohti jokaista käsittelyä kohti määritetään. Näiden kokeiden tulokset, jotka on koottu seuraavaan taulukkoon III, osoittavat tämän keksinnön injektoitavien koostumusten tehokkuuden.

Taulukko III

Keksinnön jatkuvasti vaikuttavien koostumusten tehokkuus
hypox rottien painon lisäykseen

Koos- tumus	Keskimääräinen elopaino (g)/eläin					Keskimääräinen elopaino (g)/eläin				
	Päivä 0	Päivä 2	Päivä 4	Päivä 7	Päivä 10	Päivät 0-2	Päivät 2-4	Päivät 4-7	Päivät 7-10	Päivät 0-10
1	90,3	93,4	98,9	103,4	105,6	3,1	5,4	4,6	2,1	15,2
2	90,0	94,4	98,1	100,3	102,6	4,4	3,8	2,1	2,4	12,7
3	84,8	89,5	92,0	92,5	93,0	4,8	2,5	0,5	0,5	6,3
4	86,4	89,6	93,4	97,4	95,5	3,3	3,8	4,0	-1,9	9,1
5	90,8	93,0	96,8	96,1	98,1	2,3	3,8	-0,6	2,0	7,5
6	86,0	94,1	95,4	95,4	97,4	6,1	1,3	0,0	2,0	9,4
7	93,8	104,7	105,5	108,3	110,0	10,8	0,8	2,8	1,7	16,1
8	86,9	91,7	91,7	93,1	95,1	4,9	0,0	1,4	2,0	7,3
9	89,3	92,1	94,8	99,6	102,6	2,9	2,6	4,9	3,0	13,4
10	92,9	95,9	99,3	100,1	101,6	3,0	3,4	0,9	1,5	9,8
11	94,3	103,1	102,3	100,8	100,4	8,9	-0,9	-1,5	-0,4	6,1
12	91,1	94,0	94,6	98,4	99,1	2,9	0,6	3,8	0,8	8,1
13	94,3	98,0	100,5	105,5	103,6	3,8	2,5	5,0	-1,9	9,4
14	94,6	97,3	103,8	106,4	104,8	2,6	6,5	2,6	-1,6	10,1
15	92,3	94,3	96,9	98,6	98,9	2,0	2,6	1,8	0,3	6,7
16 ¹	90,9	91,0	92,7	96,4	94,9	0,1	1,7	3,7	-1,6	3,9
17 ¹	89,3	89,6	92,4	92,5	92,0	0,4	2,8	0,1	-0,5	2,8
18	91,9	97,9	97,6	102,4	104,3	6,0	-0,3	4,8	1,9	12,4

¹ Sarvikarjakasvuhormoniannos 1200 mikrogrammaa.

Esimerkki 4Keksinnön koostumusten tehokkuus kohottaa ja ylläpitää kohonneet arvot kasvuhormonia veressä

Kolmen oinaskaritsan, joista kukin painaa n. 35 kg, 5 ryhmiä käsitellään koostumuksilla, jotka on kuvattu seuraavassa taulukossa IV.

Ennen formuloinnin injektiota yksi esikäsittely-
verinäyte otetaan jokaisesta eläimestä 24 tuntia ennen
käsittelyä. Nämä eläimet sopeutetaan tiloihin ja niitä syö-
10 tetään päivittäin 8.00 aamulla. Pidetään huolta siitä, et-
tä lampaita ei kiihdytetä enemmän kuin tarpeellista, koska
tämä voi kiihottaa kasvuhormonin luonnollista erityystä.

Käsittelypäivänä verinäytteet otetaan juuri ennen
injektiota. Kukin lammas saa sitten yhden injektion formu-
15 laatiota. Verinäytteet kerätään 0, 2, 4, 6, 24, 48, 72, 96
tunteina ja jaksottaisesti sen jälkeen.

Seerumi erotetaan hyytyneistä kokkareista sentri-
fugoinnilla ja jäädytetty seerumi toimitetaan analyyt-
seen laboratorioon kasvuhormonin määrittämiseksi radio-
20 immuuninäyttemenetelmillä.

Näiden kokeiden tulokset, jotka on koottu seuraa-
vaan taulukkoon V, osoittavat keksinnön koostumusten te-
hokkuuden kasvuhormonien veriarvojen kohottamisessa ja
niiden ylläpitämisessä. Vertailevat tulokset on saatu
25 muilla keksinnön koostumuksilla.

Taulukko IV

Koostumus		% w/w <u>faasista</u>	% kokonais- <u>määrästä</u>
A. <u>W₁ faasi</u>			
5	Rekombinantti sarvikarja- kasvuhormoni	12,5	3,75
	CBS	87,5	26,3
<u>O faasi</u>			
	LMO	89,0	27,1
10	AMS	1,0	0,03
	STO	10,0	3,0
<u>W₂ faasi</u>			
	CBS	93,0	37,1
	PSMO	2,0	0,8
15	Sorb (70 %)	5,0	2,0
Koostumus			
B. <u>W₁ faasi</u>			
	Rekombinantti sarvikarja- kasvuhormoni	7,3	2,8
20	Geeli	13,3	5,1
	Vesi	79,4	30,4
<u>O faasi</u>			
	SES	91,9	24,9
	CO	1,8	0,5
25	SSO	7,3	1,97
<u>W₂ faasi</u>			
	Geeli	1,0	0,65
	Vesi	79,0	26,9
	BCP ₅	20,0	6,74

Koostumus		% w/w <u>faasista</u>	% kokonais- <u>määrästä</u>
C. <u>W₁-faasi</u>			
Rekombinantti sarvikarja-			
5	kasvuhormoni	13,25	2,65
	CB	86,75	17,35
<u>O faasi</u>			
	SES	95,0	28,5
	SMO	5,0	1,5
10	<u>W₂-faasi</u>		
	BCP ₃	5,0	2,5
	BCP ₄	5,0	2,5
	Vesi	90,0	45,0

Taulukko V
 Sarvikarjajasvuhormoni veriarvot lampaissa
 Koostumus A
 (2 mL)

5

		(ng/mL)			
		Lampaat #			
	Aika	1	2	3	Keskiarvo
10	- 24 h	7,1	8,0	6,6	-
	- 23 h	5,1	4,0	4,8	4,6
	- 22 h	5,4	4,5	3,8	4,6
	0 h	9,6	6,0	7,5	7,7
	2 h	222,0	816,0	979,0	672,3
15	4 h	177,0	505,0	689,0	457,0
	6 h	166,0	368,0	468,0	334,0
	1 d	146,0	49,1	77,3	90,8
	2 d	27,9	19,8	21,5	23,1
	3 d	27,9	13,7	28,0	23,2
20	4 d	21,7	11,0	22,0	11,6
	6 d	6,6	6,6	7,4	6,9
	8 d	7,8	6,9	9,3	8,0
	10 d	10,1	7,5	7,7	8,4
	13 d	4,7	5,3	7,1	5,7
25	15 d	6,5	4,7	4,7	5,3
	17 d	5,3	3,9	8,3	5,8
	20 d	6,4	6,6	5,8	6,3
	22 d	5,7	6,1	7,1	6,3
	24 d	2,8	4,5	6,0	4,4

Taulukko V (jatkuu)

Koostumus B

(5 mL)

		(ng/mL)			
Aika		Lampaat		#	
		1	2	3	Keskiarvo
10	- 24 h	2,6	4,0	2,3	3,0
	0 h	1,5	4,0	2,9	2,8
	1 h	13,8	10,3	10,4	11,5
		11,1	8,3	8,0	9,2
	2 h	376,0	66,4	38,5	160,3
15		20,7	24,6	20,9	22,1
	4 h	109,8	102,6	53,3	88,6
	6 h	171,8	119,8	156,1	149,2
	1 d	65,1	176,4	319,4	187,0
	2 d	17,1	38,9	67,8	41,3
20	3 d	9,9	22,0	31,7	21,2
	4 d	9,6	14,6	38,9	21,0
	5 d	5,1	9,4	28,5	14,3
	6 d	2,2	7,7	48,2	19,4
	8 d	2,0	18,3	98,1	39,5
25	10 d	1,5	13,7	80,9	63,4
	13 d	1,7	11,7	81,0	31,5
	15 d	1,8	15,1	73,7	30,2
	17 d	4,0	13,7	73,1	30,3

Taulukko V
Koostumus C
 (2,5 mL)

5

		(ng/mL)			
		Lampaat		#	
<u>Aika</u>		<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>Keskiarvo</u>
10	- 24 h	2,7	2,4	1,8	2,3
	0 h	2,9	1,8	2,2	2,3
	1 h	315,5	168,0	196,3	226,6
	2 h	551,2	280,6	296,9	376,2
	4 h	756,8	462,2	466,7	561,9
	6 h	1007,1	593,1	624,6	741,6
15	1 d	70,4	91,5	142,5	101,5
	2 d	29,0	36,0	41,1	35,4
	3 d	21,3	23,8	26,2	23,8
	4 d	15,3	11,4	18,5	15,1
	5 d	19,2	8,3	14,3	13,9
20	6 d	22,0	5,4	11,9	13,1
	8 d	21,7	8,5	8,7	12,9
	10 d	21,6	12,3	7,2	13,7
	13 d	16,3	19,9	4,1	13,4
	15 d	17,0	19,2	3,1	13,1
25	17 d	14,5	17,5	2,2	11,4
	20 d	16,0	14,4	2,3	10,9

Patenttivaatimukset:

1. Biologisesti aktiivinen, jatkuvasti vaikuttava multippeli vesi-öljy-vesi -emulsio, t u n n e t t u siitä, että sisäinen vesifaasi W_1 sisältää kasvuhormonin, kasvutekijän, somatomeidiinin tai biologisesti aktiivisen osan tai sen johdannaisen; dispergoituneena veteen sekoitumattomaan tai öljyfaasiin O; dispergoituna ulkoiseen vesipitoiseen faasiin W_2 .
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen koostumus, jossa sisäinen vesipitoinen faasi W_1 on t u n n e t t u siitä, että painon suhteen n. 55,0 % - 99,7 % on vettä, 0,2 % - 5,0 % on suolaa ja/tai puskuria, 0,1 % - 40,0 % on kasvuhormonia, kasvutekijää, somatomeidiiniä tai biologisesti aktiivista osaa tai sen johdannaista; 0 % - 40,0 % on polyolia, glykolia tai sokeria ja 0 % - 2,0 % on säilöntäaineita ja/tai stabilointiaineita, öljyfaasi O koostuu painon suhteen n. 65,0 % - 98 %:sta farmaseuttisesti ja farmakologisesti hyväksyttävää öljyä tai veteen sekoittumattomasta nestettä, 0 % - 15,0 %:sta sakeutinta, geeliytymisainetta tai niiden seosta, 2,0 % - 40,0 %:sta ei-ionista pinta-aktiivista ainetta (aineita), ulompi vesipitoinen faasi W_2 koostuu painon suhteen n. 38,0 % - 98,0 %:sta vettä, 0,2 % - 5,0 %:sta suolaa ja/tai puskuria, 2,0 % - 20,0 %:sta ei-ionista pinta-aktiivista ainetta (aineita), 0 % - 15,0 %:sta sakeutinta, geeliytymisainetta tai niiden seosta, 0 % - 2,0 %:sta säilöntäaineita ja/tai stabilointiaineita ja 0 % - 60 %:sta polyolia, glykolia tai sokeria.
3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että faasien $W_1/O/W_2$ suhde on alueella 1/1/1 - 1/3/8, painon suhteen.
4. Patenttivaatimuksen 3 mukainen koostumus, t u n n e t t u siitä, että sisäinen vesipitoinen faasi sisältää sarvikarja-, sian-, hevos-, lintu- tai ihmisen kasvuhormonia, joka on luonnollista, synteettistä, rekombinoitua tai biosynteettistä alkuperää.

5. Menetelmä biologisesti aktiivisen kasvuhormonin, kasvutekijän, somatomeidiinin tai sen biologisesti aktiivisen osan veriarvojen kohottamiseksi ja niiden ylläpitämiseksi kohonneina tarkoituksena lisätä painon nousua, kasvun nopeutta, maidon tuotantoa tai lihaksen kokoa, parantaa syötön tehokkuutta ja/tai alentaa kehon rasvaisuutta ja parantaa rasvaton liha/rasva-suhdetta eläimessä, t u n n e t t u siitä, että eläimelle annetaan ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti biologisesti aktiivista, jatkuvasti vaikuttavaa multippeli vesi-öljy-vesi -emulsiota, joka käsittää sisäisen vesipitoisen faasin W_1 , joka sisältää kasvuhormonin, kasvutekijän, somatomeidiinin tai biologisesti aktiivisen osan tai sen johdannaisen; dispergoituneena veteen liukenemattomaan tai öljyfaasiin O; dispergoituneena ulompaan vesipitoiseen faasiin W_2 .

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, jossa vesipitoinen faasi W_1 on t u n n e t t u siitä, että se sisältää painon suhteen n. 55,0 % - 99,7 % vettä, 0,2 % - 5,0 % suoloja ja/tai puskureita, 0,1 - 40,0 % kasvuhormonia, kasvutekijää, somatomeidiiniä tai biologisesti aktiivista osaa tai sen johdannaista; 0 % - 40,0 % polyolia, glykolia tai sokeria ja 0 % - 2,0 % säilöntäaineita ja/tai stabilointiaineita, öljyfaasi O käsittää painon suhteen n. 65,0 % - 98 % farmaseuttisesti ja farmakologisesti hyväksyttävää öljyä tai veteen liukenematonta nestettä, 0 % - 15,0 % sakeutinta, geeliytymisainetta ja niiden seosta, 2,0 % - 40,0 % ei-ionista pinta-aktiivista ainetta (aineita); ulompi vesipitoinen faasi W_2 käsittää painon suhteen n. 38,0 % - 98,0 % vettä, 0,2 % - 5,0 % suoloja ja/tai puskureita, 2,0 % - 20,0 % ei-ionista pinta-aktiivista ainetta (aineita), 0 % - 15,0 % sakeutinta, geeliytymisainetta tai niiden seosta, 0 % - 2,0 % säilöntäaineita ja/tai stabilointiaineita ja 0 % - 60 % polyolia, glykolia tai sokeria.

7. Patenttivaatimuksen 6 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että faasien $W_1/O/W_2$ suhde on alueella 1/1/1 - 1/3/8, painon suhteen.

8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että sisäinen vesipitoinen faasi sisältää sarvikarjan-, sian, hevosen, linnun tai ihmisen kasvuhormonia, joka on luonnollista, synteettistä, rekombinoitua tai biosynteettistä alkuperää.

9. Menetelmä biologisesti aktiivisen, jatkuvasti vaikuttavan multippeli vesi-öljy-vesi -emulsion valmistamiseksi, tunnettu siitä, että (a) liuotetaan kasvuhormoni, kasvutekijä, somatomeidiini tai biologisesti aktiivinen osa tai sen johdannainen sisäiseen vesipitoiseen faasiin W_1 , (b) dispergoidaan vaiheen (a) faasi veteen liukenemattomaan tai öljyfaasiin O ja (c) dispergoidaan vaiheen (b) faasi ulompaan vesipitoiseen faasiin W_2 .