

70.839/PA

A COP-1 és Th2 fokozó citokinek gyógyászati alkalmazása**KIVONAT**

A találmány tárgya: eljárás autoimmun reakció elnyomására emlősökben, sclerosis multiplex diagnózis fennállása esetén. Ennek során az emlősöknek nyálkahártyán keresztül COP-1-et és Th-2 fokozó citokin aktivitású nem-interferon polipeptidet adnak, mimellett a COP-1 és a polipeptid a kombinációban az auto-immun válasz csökkenését előidéző mennyiségben van jelen. A COP-1-et előnyösen orálisan adják be. A reakció elnyomására a COP-1-et és a polipeptidet a kombinációban olyan mennyiségekben alkalmazzák, amelyek lényegesen hatásosabbak, mint a COP-1 és a polipeptid önmagában való bevitele által elért hatás. Poli-peptidként IL-4-et, amelynek aminosav szekvenciája ugyanabból a fajtából származik, mint az emlősé, vagy IL-10-et és Th2 fokozó citokin aktivitású fragmentumait alkalmazzák.

Ugyancsak a találmány tárgyát képezi egy nyálkahártya útján bevihető gyógyszerkészítmény sclerosis multiplex ellen, amely a COP-1 és IL-4 kombinációját tartalmazza olyan mennyiségben, amely a kombinációban hatékony a sclerosis multiplex ellen. COP-1 és IL-10 kombinációi ugyancsak felhasználhatók.

jellemező a bra ϕ
Fertő

A COP-1 és Th2 fokozó citokinek gyógyászati alkalmazása

A találmány a sclerosis multiplex-szel /MS/ társult autoimmun reakciók csökkentési képessége javítására irányul.

Az autoimmun betegségekre jellemző, hogy abnormális immunválasz lép fel, amely a saját vagy autológ szövetek ellen irányul. A szóban forgó immunválasz (vagy immunreakció) alapján emlősökben az autoimmun betegségek általában két csoportra oszthatók: sejt által (azaz T sejt által) közvetített vagy antitest által közvetített típusúra. Az MS egy, a T sejt által közvetített autoimmun betegség /Trapp et al., New Eng.J.Med. 338(5), p. 278, 1998/. Világszerte 1 milliónál több, 30 és 40 év közötti fiatal felnőtt szenved MS-ben. Az MS a központi idegrendszer legáltalánosabb betegsége és a neurológiai rendellenességek leggyakoribb oka fiatal felnőttekben. Patofiziológiai alapon az állapítható meg, hogy a keringő autoreaktív T sejtek közvetítik az MS betegekben tapasztalható központi idegrendszeri károsodás zömét (Rudick et al., New Eng.J.Med. 337, p. 1604, 1997).

Az MS-ben a T sejtek reagálnak a bázisos mielin fehérjével /MBP/, amely a központi idegrendszerben a mielin egyik komponense. Annak kimutatása, hogy az MS betegekből a MBP-re specifikus aktivált T sejtek izolálhatók, alátámasztja azt a feltevést, hogy az MS olyan autoimmun betegség, amelyben a T sejtek ron-

csolják a saját vagy autológ idegszövetet (Allegratta et al., Science 247, p. 778, 1990).

Az MS primer állati modellje a kísérletes allergiás enkefalo-mielitisz (EAE). Az EAE könnyen indukálható kis emlősökben MBP-vel megfelelő adjuvánsban vagy a MBP reaktív CD4+ T sejtek passzív átvitelével (Alvord E.C. et al., Experimental Allergic Encephalomyelitis: a Useful Model for Multiple Sclerosis, 1984; Makhatarian et al., Nature 309, p. 356, 1984; Ben-Nun et al., J.Immunol. 129, p. 303, 1982). Az EAE-t egérben és patkányban indukáló T sejtek felismerik azokat a peptideket, amelyek a Major Histocompatibility Complex (MHC: nagyobbik hisztokompatibilitási komplex) II. osztálya sejtjeit bemutató antigénben az MBP immundomináns régióinak felelnek meg.

Az MS-t jelenleg gyulladásgátló és immunszuppresszív szerekkel kezelik; ezek közé tartoznak pl. a következők:

- (i) kortikoszteroidok, amelyek immunmodulátor és immunszuppresszív hatással egyaránt rendelkeznek,
- (ii) beta-interferon;
- (iii) COP-1 /glatiramer-acetát/;
- (iv) azatioprin, egy purin analóg, amely a sejt által közvetített és a humorális immunitást egyaránt csökkenti;
- (v) intravénás immunglobulin;
- (vi) metotrexát, amely gátolja a dihidrofólsav-reduktázt és a sejt által közvetített és a humorális immunitást csökkenti;
- (vii) ciklofoszfamid, egy alkilezőszer, amely citotoxikus és immunszuppresszív hatású és

(viii) ciklosporin, amely a T sejt aktiválás gátlásával hatásos immunszuppresszív anyag.

Az ilyen gyulladásgátló és immunszuppresszív gyógyszerekkel való kezelés ellenére az MS-ben szenvedő betegek több, mint 50%-ának állapota folyamatosan romlik, a gerincvelő, kisagy és az agykéreg fokális roncsolódása következtében.

Számos jelenleg használatos gyógyszer hosszútávú hatása korlátozott, részben azért, mivel jelentős citotoxikus hatást fejtenek ki. A ciklofoszfamiddal való hosszantartó kezelés pl. a következő betegségekhez vezethet: kopaszodás, hányás, hemorrágiás hólyaghurut, leukopénia, szívizomgyulladás, terméketlenség és intersticiális tüdőfibrózis. Az immunszuppresszív szerekkel való kezelés végül is „globális” immunszuppressziót idézhet elő a kezelt betegben, és ez nagymértékben megnöveli a fertőzésveszélyt. A hosszantartó globális immunszuppresszióknak alávetett betegek esetében megnövekedett az a veszély, hogy a kezelés komoly orvosi problémákhoz vezet, amilyen a rosszindulatú daganat, vesekárosodás és cukorbetegség.

Az MS kezeléséhez egy másik megközelítés az MBP intravénás vagy orális bevitele a T sejt immunválasz modulálására. Az MBP vagy fragmentumainak - amelyek az MBP immundomináns epitópjait tartalmazzák - bevitele az immunrendszer elnyomását váltja ki klón allergia vagy a T sejtre adandó válasz hiánya okozásával, ami inaktiválja az MBP-re specifikus T sejteket. A végeredmény az, hogy az MBP specifikus T sejtek szaporodása leáll MBP adagolás hatására. A T sejtek szaporodási képességének hiánya csökkenti az idegszövetek T sejtek által közvetített roncsolódását.

Autoantigének, amilyen az MBP, orális adagolása az MBP-vel szembeni immunválaszt aktív szuppresszió (anergia) révén nyomja el, az alkalmazott dózis függvényében. Az MBP egyszeri dózisban és lényegesen nagyobb mennyiségben való hozzáadása, mint az a mennyiség, amely megindítja az aktív szuppressziót, ugyancsak indukálhat toleranciát, klón deléció folytán.

Az MBP-nek az MS kezelésében hatékonynak bizonyult immunkémiai analógja a glatiramer-acetát vagy kopolimer-1 (COP-1) (US 3 849 550; WO 95/31990). Kereskedelemben hozzáférhető alakjában ez szintetikus polimerek statisztikus keveréke, amely 6,0;1,9;4,7;1,0 mólarányban L-alanint, L-glutaminsavat, L-lizint és L-tirozint tartalmaz. Először az MBP immunkémiai megfelelőjeként szintetizálták. A COP-1 egyes monoklonális antitestjei keresztreakciót mutatnak az MBP-vel (Teitelbaum et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, p. 9258, 1995). Azt is megállapították, hogy a COP-1 az MBP-re specifikus T szuppresszor sejteket indukál (Lando et al., J.Immunol. 123, p. 2156, 1979). Egérkísérletek arra mutatnak, hogy a COP-1 specifikusan gátolja azokat az MBP specifikus T sejteket is, amelyek EAE esetén szerepet játszanak a központi idegrendszeri szövet károsításában (Teitelbaum et al., Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85, p. 9724, 1991).

Bár a COP-1 immunológiailag hasonló az MBP-hez, a COP-1 lineáris aminosav szekvenciájáról nem ismert, hogy homológ-e az MBP aminosav-szekvenciájával. A COP-1 ezenkívül bizonyos mértékig immunológiai különbségeket mutat az MBP-vel szemben. A COP-1 pl. nem enkefalitogén, azaz injektálva nem okoz kísérletes allergiás enkefalitist (EAE), míg az MBP nagymértékben enkefalitogén

(Teitelbaum et al., Eur.J.Immunol. 4, p. 242, 1971). Azt is megállapították (Burns et al., Neurology 36, p. 92, 1986), hogy nem lép fel immunológiai keresztreakció sem.

A COP-1 bevitele a következő hatásokkal jár:

- (i) növeli az NK sejtek %-os mennyiségét,
- (ii) csökkenti a szérumban az IL-2 receptorok mennyiségét,
- (iii) elnyomja a TNF- α -t és
- (iv) növeli a TNF- β -t és az IL-4-et (Ariel et al., Multiple Sclerosis 3 (5), p. 5053, 1997).

Az MS-ben szenvedő betegeket sikeresen kezelték parenterálisan bevitt COP-1-gyel (Bornstein et al., Transactions American Neurological Association, 348, 1987). A betegek naponta 20 mg COP-1-et kaptak s.c. injekció alakjában (Bornstein et al., Annals of Neurology 11, p. 17, 1981). A kezelt betegekben

- (i) az éves visszaesési arány 29%-kal alacsonyabb volt,
- (ii) nagyobb azon betegek hányada, akiknél nem következett be visszaesés a klinikai betegségben (34% 27%-kal szemben) és
- (iii) a kezelt csoport jelentős javulást mutatott az „elnyúló betegség-státusz skála” tekintetében (ez a fizikai függés standard klinikai mértéke MS-ben szenvedő betegeknél).

Újabb vizsgálatok arra mutatnak, hogy a COP-1 hatásos az EAE kezelésére orális bevitel mellett [Teitelbaum et al., Multiple Sclerosis 3(5), p. 169, 1997]. A COP-1 orális bevitele patkányoknak

- (i) csökkentette az EAE súlyosságát és előfordulási gyakoriságát,
- (ii) gátolta a T sejt szaporodási reakciót és

(iii) gátolta a Th1 citokin képződést.

Az autoimmun betegségek kezelhetők bystander antigének orális bevitelével. Ez a kezelés egy aktív szuppressziós mechanizmuson nyugszik. Ezt a módszert részletesen ismerteti a WO 93/16724; lényege az, hogy orálisan az autoimmun támadásnak kitett szövetre specifikus antigéneket viszünk be.

Bystander antigének orális bevitele aktiválja a regulátor (szuppresszor) T sejteket (amelyek CD4+ vagy CD8+ típusúak lehetnek), amelyek a támadásnak kitett szerv vagy szövet felé irányulnak és itt legalább 1 antigén nemspecifikus immunszuppresszív faktor vagy immunregulátor citokin (amilyen a TGF- β , IL-4 vagy IL-10) felszabadulását váltják ki, elnyomva ezáltal a helyi immunválaszt.

A bystander antigénekkel való orális kezelés közelebbről azt váltja ki, hogy regulátor (szuppresszor) T sejtek indukálódnak a bélhez kapcsolódó limfoid szövetben (GALT) vagy inhalálással történő bevitel esetén a nyálkahártyával társult limfoid szövetben (MALT). Ezek a regulátor sejtek a vérben vagy nyirokszövetben szabadulnak fel, majd az autoimmun betegség által befolyásolt szervhez vagy szövethez vándorolnak. Itt a T sejtek elnyomhatják a kérdéses szerv vagy szövet autoimmun megtámadását. A bystander antigének által aktivált T sejtek az autoimmun támadás helye felé irányulnak és itt egyes immunmodulátor faktorok és citokinek helyi felszabadulását váltják ki, amilyen a beta transzformáns növekedési faktor (TGF- β), az interleukin-4 (IL-4) vagy az interleukin-10 (IL-10). Ezek közül a TGF- β egy antigén-nemspecifikus immunszuppresszív faktor, amennyiben elnyom min-

denféle immuntámadást, függetlenül attól, hogy milyen antigén váltja ki ennek a felszabadulását. Mivel a bystander antigénnel kiváltott orális tolerancia csak az autoimmun támadás közelében válthatja ki a TGF- β felszabadulását, nem lép fel szisztémás immunszuppresszió. Az IL-4 és az IL-10 ugyancsak antigén nemspecifikus immunregulátor citokin. Az IL-4 a T sejt prekurzorokra hatva különösen a Th2 reakcióját fokozza. Ennek eredményeként a T sejtek kitüntetetten Th2 sejtekké differenciálódnak. A Th2 sejtek számos citokint termelnek, amilyen - nem korlátozó jelleggel - az IL-4, IL-5, IL-6 és IL-10. Ezek a citokinek szabályozzák a B limfociták különböző típusú (pl. IgG1) immunglobulin termelését. A Th2 sejtek képesek arra is, hogy csökkentsék az immunrendszer más effektor tényezői által beindított sejt-immunválasz intenzitását (W.E. Paul. Fundamental Immunology, Raven Press, p. 13-14, 1993).

Th2 fokozó citokinek MBP-vel alkotott keverék formájában való bevitele növeli az MBP szuppresszor hatását mind a betegség gyakorisága, ind az EAE fellépésének késleltetése vonatkozásában (WO 95/27500). Így például EAE-t indukáltunk SJL/J egérben 0,4 mg egér-MBP-vel való immunizálással és megfelelő időközökben Mycobacterium tuberculosis és pertussis toxint is adtunk. Az egereket több kísérleti csoportba soroltuk, amelyeknek per os a következő anyagokat adtuk be:

- (i) tyúktojás lizozim /HEL/ mint kontroll,
- (ii) egér IL-4,
- (iii) egér MBP vagy
- (iv) MBP + IL-4.

Az állatokat 35 napon át tartottuk megfigyelés alatt, hogy fellép-e a betegség. Az orális IL-4 (1000 egység) + MBP kombináció csökkentette mind a betegség fellépését, mind a klinikai képsúlyosságát, ezenkívül késleltette a betegség fellépését. A kombinációval való kezeléssel elért késleltetés ténylegesen nagyobb (30 nap), mint akár önmagában az IL-4-gyel vagy a MBP-vel (21 illetve 22 nap).

Mindmáig nem volt ismeretes, hogy az orális COP-1 kombinálható IL-4-gyel vagy IL-10-zel az MS hatékony kezelésének elérésére. Az sem volt ismert, hogy egy Th2 citokin bevitele más autoimmun szuppresszív szerek orális adagolásával kombinálva általában előnyös az EAE vagy az MS kezelésében. Míg a COP-1 bizonyos immunológiai tulajdonságai megegyeznek az MBP-ivel, aminosav szekvenciája statisztikus és nem ismert, hogy bármilyen szerkezeti hasonlóságát mutatna az MBP-vel. Bizonyos immunológiai tulajdonságaiban a COP-1 különbözik az MBP-től. Ezért nem volt előrelátható, hogy a nyálkahártya útján beadott COP-1 kombinációja a nyálkahártya útján vagy parenterálisan beadott IL-4-gyel vagy IL-10-zel hatásos lesz-e az MS vagy az EAE kezelésében.

Ennek megfelelően a találmány tárgya javított és/vagy egyszerű eljárás MS-ben szenvedő emlősök kezelésére.

A találmány további tárgya javított eljárás MS-ben szenvedő emlősök kezelésére; ezzel kapcsolatban kívánt esetben választható kizárólagosan az orális beviteli mód.

A találmány harmadik tárgya: eljárás MS-ben szenvedő emlősök kezelésére a COP-1 bevitelével járó kiegészítő terápia segítségével.

Azt találtuk, hogy ha kombináljuk a következő lépéseket:

- (i) COP-1 bevitele a nyálkahártya útján és
- (ii) Th2 fokozó citokin aktivitással rendelkező polipeptid bevitelével,

jóval hatásosabb módszerhez jutunk az MS-sel együtt járó autoimmun reakció elnyomása tekintetében, mint ha a COP-1-et egyedül, vagy a Th2 fokozó citokin aktivitással rendelkező peptidet egyedül vinnénk be. Közelebbről azt találtuk, hogy az IL-4 vagy IL-10 nyálkahártya útján vagy parenterálisan történő bevitele a COP-1 nyálkahártya útján történő bevitelével kombinálva jótékony hatást fejt ki az MS kezelésében.

A leírásban idézett szabadalmi leírások és irodalmi hivatkozások teljes egészében a leírás részének tekintendők. A meghatározások és az értelmezések bármilyen ütközése esetén a leírás tekintendő mérvadónak.

A leírásban szereplő, alábbiakban felsorolt kifejezések jelentését a következők szerint adjuk meg:

„Th2 fokozó citokinek”: természetes antigén nemspecifikus immunregulátor anyagok, amelyek

- (i) normál állapotban a regulátor immunrendszer sejtjei által választódnak ki vagy indukálódnak és
- (ii) növelik a Th2 sejtek gyakoriságát (és/vagy gátolják a Th1 sejteket).

„Emlős”: melegvérű szervezet, amely eleve szülő, immunrendszerrel rendelkezik és autoimmun betegségekre fogékony.

„Kezelés”: a sclerosis multiplex bármilyen megnyilvánulásának, klinikai vagy szubklinikai (pl. szövettani) tünetei megjelenésének megelőzését vagy késleltetését biztosító kezelés, valamint megjelenésük után a tünetek terápiás elnyomása vagy enyhítése az autoimmun támadás elhárítása és az autoimmun szövetroncsolás megelőzése vagy lassítása révén. Az autoimmun támadás vagy reakció „elhárítása”, „elnyomása” vagy „csökkentése” a támadás vagy reakció egy vagy több tünetének részleges csökkentését vagy javulását jelenti. Az „autoimmun reakció”-ra kifejtett „lényegesen” megnövekedett elnyomó hatás (vagy a reakció elhárítása vagy csökkentése) az MS egy vagy több markerében vagy szövettani vagy klinikai jellemzőjében bekövetkezett jelentős csökkenést jelenti. Nem korlátozó jellegű példa: legalább 1 egységnyi csökkenés a végtag paralízis osztályzatában.

A leírásban alkalmazott kifejezés, amely szerint a Th2 fokozó citokint a COP-1-gyel „együtt”, azzal „társítva” vagy „kombinációban” visszük be, a COP 1-et megelőzően, lényegében egyidejűleg vagy azt követően történő adagolást jelenti. A „lényegében egyidejűleg” azt jelenti, hogy a beadás azonos 24 órás időtartamon belül és előnyösen ± 1 órán belül történik.

Az „orális” adagolás orális, enterális vagy intragasztrikus bevitelt jelent.

A „nyálkahártya útján” történő bevitel orális, enterális, intragasztrikus, intranazális, inhalációs, bukkális vagy bármilyen más beviteli módot jelent, amelynek eredménye a nyálkahár-

tyával társult limfoid szövet (MALT) antigéneknek való kitétele. A limfoid szövettel társult gyomor-bél szakaszba (GALT) történő bevitelt a „nyálkahártya útján” történő bevitel körébe soroljuk.

A „parenterális” bevitel s.c., i.d., i.m., i.v., i.p. vagy intratekális adagolást jelent.

Állat modellek

A leírásban olyan modell rendszerre hivatkozunk, amelyet az MS:EAE tanulmányozására fejlesztettünk ki. A szakember számára nyilvánvaló, hogy számos, az MS-sel kapcsolatos potenciális immunterápiás módszert először állat modell rendszerben próbálnak ki. A betegséget MBP-vel vagy proteolipid proteinnel (PLP) és egy adjuvánssal (ilyen pl. a Freund-f. komplett adjuváns, „CFA”) való immunizálással indukálják. A betegség indukálására használt antigén az autoantigén, MBP vagy PLP. Bármelyik antigénnel való immunizálás a mielin vesztéssel járó betegség egyfázisú vagy súlyosbodó/visszavonuló típusát indukálja (a rágcsló típusától, fajtájától és az indukció jól ismert részletei függvényében). Az indukált betegség számos ugyanolyan jellemzőt mutat, mint az MS mint autoimmun betegség komponensei, ezért a betegség állat modelljeként szolgál. Továbbá: az EAE orális toleranciát kiváltó módon való sikeres kezelése és a betegséget indukáló sejtek gyakoriságának csökkentése terén emberben elért párhuzamos siker, valamint az a körülmény, hogy mielin orális adagolása esetén sok esetben javulnak az MS tünetei, igazoltta az EAE mint modell rendszer alkalmazását a különböző orális toleranciát kiváltó módszerek sikerének előrejelzésében.

Az előbbi modell rendszert alkalmaztuk a hatékonyság és a találmány szerinti javított kezelés előnyeinek kimutatására. A modell különösen alkalmas a terápiák vizsgálatára, mivel az EAE-ben megfigyelt immunológiai mechanizmus közeli megfelelője az MS-ének. Orális tolerancia kiváltása során a modellben kapott autoimmun szuppresszió független a humán MS autoimmun betegség és az állat modell közötti tényleges vagy lehetséges különbségektől. A modell különösen alkalmas a Th2 fokozó citokinek használatán alapuló terápiák vizsgálatára, mivel az ilyen citokinek általában azonos vagy hasonló aktivitást mutatnak állat modellekben és emberben.

A COP-1, IL-4 és IL-10 előállítása

A találmány szerint a COP-1 nyálkahártya útján való bevitele - egy Th2 fokozó citokin hatású peptid nyálkahártya útján vagy parenterálisan való bevitele mellett - használjuk fel az MS-sel társult autoimmun reakció elnyomására.

A találmány szerinti COP-1-et ismert módon állíthatjuk elő. Így a COP-1 előállítható az US 3 849 550 szerinti eljárással, amelynek során a tirozin, alanin, γ -benzil-glutamát és ϵ -N-trifluor-acetil-lizin szobahőmérsékleten, vízmentes dioxánban, dietil-aminnal mint inhibitorral polimerizálható. A glutaminsav γ -karboxilcsoportjának eltávolítását HBr-dal (jégecetben) végzik; ezt követi a trifluor-acetil-csoportok eltávolítása a lizin maradékokból 1 M piperidinnel. A kapott polipeptid keverék lényegében az alanin, glutaminsav, lizin és tirozin polimerjeiből áll, kb. 6:2:5:1 arányban.

A COP-1 a kereskedelemben is hozzáférhető (Teva Pharmaceuticals, Kfar-Saba, Izrael).

A COP-1 a találmány szerinti felhasználáshoz bármilyen formában kikészíthető, amelyben megtartja terápiás hasznosságát. Ezek a formák pl. különböző molekulatömeg-tartományokba eső peptidek keverékei. A keresett molekulatömegű COP-1 ismert módon állítható elő. Ezen módszerek közé tartozik a COP-1 gélszűrése, nagynyomású folyadékkromatográfiája a nagy molekulatömegű vegyületek eltávolítására (WO 95/31990). Egyik kiviteli alak esetében a COP-1 kb. 75%-ban a kb. 2 - kb. 20 kDa molekulatömeg tartományba eső polimer féleséget tartalmaz. Egy másik kiviteli alak esetében a COP-1 átlagos molekulatömege kb. 4 - kb. 9 kDa. Magától értetődik, hogy a COP-1 enzimes vagy más lebontásnak vethető alá olyan polimer fajták előállítására, amelyek hosszúsága vagy valamely más tulajdonsága különbözik az ismert módszerekkel előállított szokásos COP-1-étől.

Egy kitűntetett megvalósítási mód szerint a COP-1-et IL-4-gyel vagy IL-10-zel kombinálva adjuk be. Az IL-4 és az IL-10 a kereskedelemben hozzáférhető (Pharmingen, San Diego, CA). Ezek természetes forrásokból (T sejtek) is elkülöníthetők, amelyekben valamelyik citokin termelődik (John E. Coligan et al., Current Protocols in Immunology. Vol. 1, Chapter 6, J.H. Wiley and Sons, Inc., 1997). A két citokin a rekombináns DNS technológia alkalmazásával is előállítható, baktérium, élesztő, rovar és emlős sejtekben a szakember által jól ismert technikák alkalmazásával. A humán IL-4-et kódoló DBS szekvenciát pl. Yokota et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 5894, 1986) ismerteti.

A találmány szerint a beviteli mód a COP-1 és az IL-4 vagy IL-10 esetében egyaránt az orális vagy az enterális. A kitűntetett orális vagy enterális gyógyszerkészítmény (pl. pirula, folyadék vagy kapszula) olyan mennyiségű COP-1-et és IL-4-et vagy IL-10-et tartalmazhat, amely a kombináció alakjában hatékony az MS kezelésében.

A találmány szerinti orális vagy enterális gyógyszerkészítmények tartalmazhatnak közömbös hatóanyagokat, amint ez a technika állásából jól ismert, amilyenek a gyógyászatilag elfogadható vivőanyagok, hígítók, töltőanyagok, oldódást elősegítő vagy emulgeáló anyagok és sók. A tabletták pl. a szokásos eljárások szerint készíthetők ki, a szakterületen jól ismert szilárd vivőanyagok alkalmazásával. A találmány szerint alkalmazott kapszulák bármely gyógyászatilag elfogadható anyagból készülhetnek, amilyen a zselatin vagy a cellulóz származékok. Orálisan bevihető adagolási formák esetében késleltetett felszabadulást biztosító orális beviteli rendszerek és/vagy enterális bevonatok is figyelembe vehetők (US 4 704 295; 4 556 552; 4 309 404 és 4 309 406).

Példa a szilárd vivőanyagokra: keményítő, cukor, bentonit, szilikagél és más általánosan használt vivőanyagok. További, nem korlátozó jellegű példák a találmány szerinti készítményekben alkalmazható vivőanyagokra és hígítókra: sóoldat, szirup, dextróz és víz.

A hatóanyag(ok) egységben kifejezett mennyisége az egyedi dózisban, minden adagolási alak esetében, nem kell, hogy önmagában hatásos mennyiséget képviseljen, mivel a szükséges hatásos

menyiség elérhető több dózisegység (pl. kapszula, tablettá vagy ezek kombinációja) beadásával.

A COP-1 és az IL-4 vagy IL-10 bevihető egyszeri vagy többszörös adagolási forma alakjában, külön-külön vagy együtt.

A COP-1 vagy a Th2 fokozó citokinek inhalálással is beadagolható (WO 91/08760). A találmány egy további fogatosítási módja szerint a bevitel aeroszol alakjában vagy inhalálás történik. A COP-1 vagy a citokin adagolható száraz por részecskék alakjában vagy gáz vivőanyagban szuszpendált atomizált vizes oldat formájában is.

A találmány szerinti, inhalálással való bevitelre szánt gyógyszerkészítmények tetszőleges komponensként tartalmazhatnak gyógyászati lag elfogadható vivőanyagokat, hígítókat, oldódást elősegítő és emulgeáló szereket és a szakterületen jól ismert sókat. Példák az ilyen anyagokra: hagyományos sóoldatok, pl. fiziológiásan puffertolt sóoldatok, és kb. 1 mg - kb. 300 mg antigént tartalmazó víz.

A találmány megvalósításában hasznosak a száraz aeroszók is, amelyek a hatóanyag finom eloszlású részecskéit tartalmazzák és ez utóbbiak nem oldhatók vagy szuszpendálhatók folyadékban. A hatóanyag por alakú lehet, és olyan finom eloszlású részecskéket tartalmaz, amelyek átlagos részecskenagysága kb. 1-5 mikron, előnyösen 2-3 mikron. A finom eloszlású részecskéket a szakterületen jól ismert porítási és szitán szűrés i módszerekkel állítjuk elő. A részecskék úgy vihetők be, hogy a finom eloszlású anyagból (amely por alakú lehet) előre meghatározott mennyiséget inhaláltatunk.

A találmány szerinti gyógyszerkészítmények aeroszól permet alakjában is bevihetők, pl. egy ködképző alkalmazásával (US 4 624 251; 3 703 173; 3 561 444 és 4 635 627). A kezelendő beteg belélegzi az aeroszól anyagot.

Az inhalálásra szánt gyógyszerkészítmény előállításában felhasználható vivőanyagok és/vagy hígítók jellegzetes, nem korlátozó példái: víz, és fiziológiailag elfogadható pufferolt sóoldatok, pl. a pH 7,0-8,0 foszfát pufferes sóoldat. A találmány szerinti inhalációs gyógyszerkészítményekben vagy adagolási alakokban használható megfelelő vivőanyagokra vagy hígítókra további, nem korlátozó jellegű példákat mutat be az US 4 659 696; 4 863 720 és 4 698 332.

A találmány gyakorlati megvalósítása során az aeroszól bevitelére más rendszerek is alkalmasak, mint a nyomás alatti doziméteres inhalátor (MDI) és a száraz por inhalátor (S.P. Newman, *Aerosols and the Lung*. Butterworths, London, p. 197-224, 1984).

Az itt tárgyalt típusoknak megfelelő aeroszól beviteli rendszerek számos kereskedelmi forrásból beszerezhetők (Fisons Co., Bedford, MA; Schering Corp., Kenilworth, NJ; American Pharmoseal Co., Valencia, CA).

Az IL-4 vagy IL-10 parenterális bevitele történhet s.c., i.m. vagy i.p. úton; ezek közül kitüntetett kezelési célokra a s.c. Parenterális bevétel esetében az IL-4 vagy IL-10 steril sóoldatban vagy más, a szakterületen jól ismert vivőanyagban formázható és tartalmazhat a szakterületen standard-nek tartott hígítókat és stabilizátorokat.

Az MS kezelése kombinációs terápiával

Meglepő módon azt találtuk, hogy COP-1 nyálkahártya útján IL-4-gyel vagy IL-10-zel együtt (nyálkahártya útján vagy parenterálisan) azt eredményezi, hogy az MS-nél és állat modelljeiben szokásos autoimmun reakciók elnyomása következik be. A kombinációs terápia hatása lényegesen nagyobb, az egyes kezelések külön-külön végzéséhez képest. Pl.: orális IL-4-gyel vagy IL-10-zel COP-1 orális beadása mellett végzett kezelés mint kombinációs terápia jóval nagyobb csökkentő hatást fejt ki az EAE klinikai osztályzatára, mint az egyedül a COP-1-gyel vagy a citokinnel végzett kezelés.

Autoimmun betegségek klinikai és szövettani tüneteinek szuppressziója egy meghatározott minimális dózis bevétele után következik be, amely azonban változik a betegség, az emlős fajta és a citokin minősége függvényében. Orális IL-4 esetében a hatásos dózis tartomány, ember és kombinációs terápia vonatkozásában, előnyösen 500-1 000 000 nemzetközi egység (NE)/nap, előnyösebben kb. 2000-50 000 NE/nap és legelőnyösebben kb. 5000-kb. 20 000 NE/nap. Hasonló dózisok alkalmazhatók IL-10 bevitele esetében. A maximális dózist leginkább kísérleti úton állapítjuk meg. Várható, hogy nagyobb dózisok megengedhetők, de sürgősen szükségesek. A COP-1 terápia kiegészítéseként az IL-4 parenterálisan is bevitelhető, de ennek szisztémás hatásai miatt előnyben részesítjük az IL-4 orális adagolását. A parenterális IL-4 azonban nagyon hatékony az autoimmun betegségek elnyomásában. Emlősök esetében a parenterális dózis általában kb. 500-kb. 1 000 000 IL-4, de a tartomány felső határát leginkább kísérletekkel határozzuk meg.

Felső határnak tekintjük azt a mennyiséget, amely mellett a parenterális IL-4 maximális szuppresszív hatása figyelhető meg (azaz a hatékonyság nem veszhet el, ha magasabb mennyiségeket veszünk, de ez szükségtelen lehet). A parenterális adagolás s.c. történhet, általában másnaponta egyszer (korlátozás nélkül), egyszeri vagy megosztott dózisban. Hasonló dózisok és adagolási gyakoriság alkalmazható az IL-10 esetében.

A találmány szempontjából nem szükséges, hogy egy IL-4 dózis önmagában hatékony legyen. TH-2 fokozó citokinek szuboptimális dózisa alkalmazhatók ugyanis, amelyek potenciózzák a COP-1 hatását.

Az MS kezelésére a COP-1-et általában 0,01 -1000 mg/nap dózisban alkalmazzuk. Egyik megvalósítási mód szerint 0,5-50 mg dózistartományt alkalmazunk. Feltehető, hogy alacsonyabb vagy magasabb dózisok megengedhetők, és hogy nem szükséges, hogy a COP-1 dózis önmagában hatékony legyen.

A szakember köteles tudásához tartozik, hogy az itt közölt tájékoztatás alapján megállapítsa a hatásos dózistartományt, ill. az optimális mennyiséget. Ember és emlősök esetében az adagolást úgy optimalizáljuk, hogy viszonylag alacsony citokin és COP-1 dózissal kezdünk (pl.: 1 mg/nap COP.1 és 500 NE IL-4), majd fokozatosan (pl. logaritmus szerint) növeljük a dózist és mérjük a kezeléssel járó biológiai reakciót, pl.:

(i) mérjük a regulátorsejtek ($CD4^+$ és/vagy $CD8^+$) indukcióját (Y. Chen et al., Science 255, p. 1237, 1994);

(ii) mérjük a keringő T sejteken jelenlevő II. osztályú felületi markerek számának csökkenését;

- (iii) mérjük a TGF- β (és/vagy IL-4-et vagy IL-10-et) kiválasztó sejtek számának csökkenését,
- (iv) meghatározzuk az immun támadást végrehajtó T sejtek számát és aktiválódását a vérben (pl. hígításos elemzéssel és a szaporodóképesség korlátozásával) vagy
- (v) jól ismert értékelési módszerek szerint osztályozzuk a betegség súlyosságát (pl. oly módon, hogy mérjük a rohamok számát, az ízületek duzzadtságát, a szorítás erősségét, merevséget, a látás élességét, a gyógyszer szedés csökkentése vagy abbahagyása képességét).

Hatásos dózist tekintünk minden olyan dózist, amely legalább statisztikusan vagy klinikailag szignifikáns gyengülést (csökkenést) okoz valamelyik ilyen markerben és előnyösen azt, amely az MS-re jellemző tünetek legalább egyikét enyhíti az adagolási vizsgálat alatt.

A COP-1 IL-4-gyel vagy IL-10-zel együtt naponta egyszer vihető be 30 naptól több hónapig (pl. 3-6) vagy évekig (pl. 2-6) terjedő időtartamon át. Kívánt esetben egyes napokon egyedül vagy a COP-1 vagy az IL-4 (vagy IL-10) vihető be és más napokon a másik komponenssel együtt adagolható. A terápia ad infinitum folytatható (amíg az elért előny tartóssá nem válik), mivel az orális beviteli mód alacsony kockázatot jelent a mellékhatások tekintetében.

Az IL-4-et vagy IL-10-et a COP-1-gyel együtt tartalmazó orális adagolási alakokhoz proteáz inhibitorok (amilyen pl. a szójabab tripszin inhibitor, aprotinin, antipain) adhatók, az ab-

szorbeált mennyiség növelésére. Ebben az esetben az IL-4 dózis csökkenthető.

Az adagolás és a beviteli gyakoriság optimalizálására kívánatos lehet a beteg megfigyelése. A pontos mennyiség és a betegnek való beadás gyakorisága változhat az állapot, a megjelenési gyakoriság és a betegség súlyosságának függvényében, mint ezt az irodalom híven tükrözi. Ezt az optimalizálást előnyösen esetenként hajtjuk végre. Az immunszuppresszióhoz szükséges dózis optimalizálása csupán rutin kísérletezést igényel, tekintettel arra, hogy az irányvonalakat bemutattuk.

A betegség súlyosságának értékelése a betegség típusától függően jól ismert módszerekkel történhet. Ezek a módszerek, korlátozás nélkül, a következőkre terjednek ki:

MS: a rohamok súlyossága és száma egy adott időtartam alatt, a betegség előrehaladása /ez pl. az EDS (tartós betegségi státusz)/ alapján mérhető; a károsodott helyek száma és kiterjedése az agyban (pl. mágneses rezonancia kép segítségével) és az autoreaktív T sejtek gyakorisága.

EAE: végtag paralízis, amely a következőképpen osztályozható: 0 - betegség nélkül; 1- csökkent aktivitás, lógó farok; 2 - enyhe paralízis, labilis tartás; 3 - mérsékelt parapézis, a végtagok szétvetése; 4 - bénulás és 5 - exitus.

A kezelés hatékonyságának egyik jelzője a tünetek stabilizálódása olyan körülmények mellett, amikor a kontroll betegek vagy állatok rosszabbodó tüneteket mutatnak. Egy másik mértéke a javulásnak más gyógyszerek (pl. szteroidok vagy más gyulladás-gátló gyógyszerek és biológiai válasz módosítók, pl. metotre-

xát, s.c. interferon stb.) szedésének csökkentése vagy abbahagyása. Az optimális COP-1 és IL-4 vagy IL-10 dózis az, amely a maximális gyógyító hatást (l. az előbbieket) fejti ki. Klinikailag szignifikánsnak tekintjük azt a javulást, amelyet a klinikus orvos vagy szakember állapít meg.

A nyálkahártya útján bevitt COP-1 és egy Th2 fokozó citokin aktivitású polipeptid hatásosságának fokozására más citokinek és nem-citokin szinergetikus anyagok is használhatók. A WO 95/27499 más citokin szinergetikus anyagok (1 típusú interferonok) orális alkalmazását írja le. A találmány keretében alkalmazható szinergetikus nem citokinek nem korlátozó jelleggel a következő példákat említjük meg:

- számos gram negatív baktériumból (az E. coli különböző altípusai és Salmonella) származó bakteriális lipopoliszacharidok (LPS, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO; ICN Biochemicals, Cleveland, OH; Polysciences, Inc., Warrington, PA)
- immunregulátor proteinek, így a tripalmitoil-S-glicarilciszteinil-szeril-szerinhez (P₃C55) kovalensen kötött peptidek, amelyek a Deres et al. (Nature 342, p. 561, 1989) által leírt módon állíthatók elő vagy
- az E. coli „Brown-féle” lipoproteinje, amely a Brown által ismertett módon (Biochim. Biophys. Acta 435, p. 335, 1976) állítható elő.

Kitűntetett az LPS és különösen kitűntetett a lipid A, mivel kevésbé toxikus, mint a teljes LPS molekula. A találmány szerinti felhasználásra az LPS gram-negatív baktériumokból vonható ki

és tisztítható Galanes et al. (Eur. J. Biochem. 9, p. 245, 1969) és Skelly et al. (Infect.Immun. 23, p. 287, 1979) módszerével.

Nem-citokin szinergisták esetében az emlősökre vonatkozó dózis-tartomány kb. 15 µg - kb. 15 mg/kg testtömeg és előnyösen 300 µg - 12 mg /kg testtömeg. Az orális 1 típusú interferon esetében a hatásos dózistartomány emlősök esetében 1000 - 150 000 egység; maximális hatásos dózist nem állapítottak meg.

Anyagok és módszerek

A következőkben leírt kísérletek során a következő anyagokat és módszereket alkalmaztuk:

Állatok

A 8 hetes SJL/J egereket a Jackson Laboratories-től (Bar Harbor, ME) szereztük be. Az állatokat standard laboratóriumi étrenden tartottuk, vizet ad libitum fogyaszthattak. Az állatok tartása a Committee on Care of Laboratory Animals of the Laboratory Research Council (Pub. #DHEW:NIH, 85-23, felülvizsgálva 1985-ben) irányelvei szerint történt.

Antigének és reagensek

Az MBP-t agyszövetből tisztítottuk Deibler et al. (Prep. Biochem. 2, p. 139, 1972) módszere szerint. A fehérjetartalmat és tisztaságot gélelektroforézissel és aminosav elemzéssel követtük. A hisztont, tyúktojás lizozimet és ovalbumint a Sigma-tól (St. Louis, MO) szereztük be.

A tolerancia indukciója

Az orális tolerancia (vagy aktív szuppresszió) kiváltására egereknek 0,5 mg MBP-t vagy 0,25 mg COP-1-et adunk 1 ml foszfát-pufferes sóoldatban (PBS) oldva vagy egyedül PBS-t gyomorintubálás

segítségével (18-as méretű rozsdamentes állati takarmány adagoló tű, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ). Az állatokat 2-3 napos időközökben ötször etettük és az utolsó etetésre 2 nappal az immunizálás előtt került sor.

Az EAE indukciója

Az aktívan indukált betegség esetében az egereket úgy immunizáljuk, hogy bal talpukba 100 µg MBP-t (0,1 ml PBS-ben oldva) adunk be. Az oldat teljes Freund-féle adjuvánst (CFA) és 4 mg/ml Mycobacterium tuberculosis-t is tartalmaz.

Klinikai értékelés

Az állatokat naponta szemrevételezzük annak megállapítására, hogy fellépett-e az EAE. Az EAE klinikai súlyosságát a következőképpen osztályoztuk: 0 - nincs megbetegedés; 1 - lógó farok; 2 - hátsó láb paralízis; 3 - hátsó láb paraplégia, inkontinencia; 4 - tetraplégia és 5 - exitus. A betegség időtartamát úgy mértük, hogy mindegyik állatra meghatároztuk a betegség megjelenése óta a teljes gyógyulásig vagy az exitusig eltelt napok számát (ez a kontroll egerek esetében általában 9 nap az aktív immunizálás után).

Szövettan

A patológiás elváltozások szövettani elemzését olyan állatokban végezhetjük, amelyekben EAE-t indukáltunk. A gerincagyat a betegség indukálása (adoptív transzfer) utáni 15. napon eltávolítjuk és 10 %-os semleges, pufferolt formalinnal fixáljuk. Paraffin metszeteket készítünk és ezeket a szokásos eljárással (Sobel et al., J.Immunol. 132, p. 2393, 1984) Luxol gyors kék hematoxilinnel és eozinnal megfestjük. A gerincagy szövetből

mindegyik állat esetében azonos módon mintát veszünk és szemrevételezéssel metszetenként meghatározzuk a gyulladásos gócok (20-nál több aggregált gyulladásos sejtből álló csomók) számát a parenchimában és az agykéregben (Soebl et al., l. az előző idézetet).

Statisztikai elemzés

A klinikai értékeket kétlépcsős Wilcoxon-f. rangösszeg próbával elemeztük a minták osztályzata alapján. A betegség csoportokon belüli gyakorisága összehasonlítására a χ^2 elemzést használtuk. A középértékeket a Student t-teszttel hasonlítottuk össze. Az egyes kísérletekhez általában csoportonként 5 állatot vettünk.

A találmányt a következő példákkal szemléltetjük anélkül, hogy ezzel az oltalmi kört korlátoznánk.

1. példa: A TGF- β indukció vizsgálata

A TGF- β aktivitás mérése a tenyészet szérummentes felülúszójában

Tolerizált egerekből szérummentes tenyészet felülúszót nyertünk ki (Kehri et al., J.Exp.Med. 163, p. 1037, 1986; Wahl et al., J.Immunol. 145, p. 2514, 1990). Röviden összefoglalva: a modulátor sejteket először 8 órán át tenyésztjük az antigénnel (50 μ l/ml) a tenyésztő közegben. Ezután a sejteket háromszor mossuk és szérummentes közegben újra szuszpendáljuk a 72 órás tenyésztési idő fennmaradó hányadán át, majd összegyűjtjük és a vizsgálat elvégzéséig lefagyasztva tartjuk. A TGF- β tartalom és az izoform típus felülúszóban való meghatározását menyét tüdő epiteliális sejtvonallal (ATCC, Bethesda, MD, CCL-64) végeztük,

Danielpour et al. módszerével (J. Cell. Physiol. 138, p. 79, 1989) és ELISA vizsgálattal igazoltuk a korábban leírtak szerint (Danielpour et al., Growth Factors 2, p. 61, 1989). Az aktív TGF- β %-os mennyiségét a minták előzetes savas aktiválása nélkül határoztuk meg.

Egy másik megoldás szerint a képződött TGF- β koncentráció jelzésére transwell tenyésztőrendszer alkalmazható. Ez a tenyésztőrendszer a TGF- β mennyiségét a sejtszaporodás elnyomása függvényében méri.

A találmány szerinti módszerek tényleges immunszuppresszív hatásának meghatározására ez a vizsgálat, vagy hasonló vizsgálatok alkalmazhatók.

2. példa: Az EAE szuppressziója egérben orális COP-1 és orális IL-4 vagy orális IL-10 kombinációjával

Az orális COP-1 orális IL-4-gyel vagy IL-10-zel való kombinálásának hatékonyságát a következő kísérletekkel igazoltuk. A kísérleti elrendezés a következő:

Egér csoportok

Az egereket ötször etettük a következőkkel:

1. csoport: ovalbumin (OVA) mint kontroll (500 μ g)
2. csoport: OVA (1 MG) + IL-4 (1 μ g)
3. csoport: OVA (1 MG) + IL-10 (1 μ g)
4. csoport: MBP (500 μ g)
5. csoport: MBP + IL-4 (1 μ g)
6. csoport: MBP + IL-10 (1 μ g)
7. csoport: COP-1 (250 μ g)
8. csoport: COP-1 (250 μ g) + IL-4 (1 μ g)

9. csoport: COP-1 (250 µg) + IL-10 (1 µg).

2 nappal az utolsó etetés után az egereket CFA-ba bevitt MBP-vel immunizáljuk. EAE-t idézünk elő 8 hetes nőnemű SJL/J egerekben, olyan szuszpenzióval, amely 100 µg egér MBP-t 0,1 ml-ben és 4 mg/ml Mycobacterium tuberculosis-t (MT) tartalmaz. Ezt követi egy pertussis toxin injekció (150 ng/egér) a 0. és 2. napon. Az állatokat 35 napon át figyeljük a betegség fellépésének megállapítására. A 9. naptól kezdve (0-5)-ös skálán mindennap értékeljük a betegség tüneteit az állatokon.

E kísérlet eredményei arra mutatnak, hogy COP-1 + IL-4 vagy COP-1 + IL-10 beadása jelentősen késlelteti a betegség fellépését, csökkenti az exitusok számát és/vagy csökkenti a klinikai értékelésben az átlagos vagy maximális osztályzatot. Ha IL-4-et vagy IL-10-et adunk be az előbbi dózisokban, COP-1-gyel kombinálva, ez jelentősen növeli a szuppresszív hatást a COP-1, MBP vagy citokinek egyedüli adagolásához képest.

3. példa: A sclerosis multiplex elnyomása COP-1 és IL-4 orális bevitelével

60 beteget, akik kiújuló-javuló típusú MS-ben szenvedtek, véletlenszerűen 3 csoportba osztottunk. Az első csoport 20 mg/nap dózisban orálisan COP-1-et kapott. A COP-1-t az előbbieken leírtak szerint foszfát pufferes sóoldatban (PBS) adtuk be. A második csoport orálisan IL-4-et kapott 10,000 egység/nap dózisban. A harmadik csoport naponta 20 mg COP-1-et és 10,000 egy-

ség IL-4-et kapott PBS-ben oldva. 2 éven át naponta folytattuk az előbbiek szerinti adagolást.

A betegek klinikai állapotát a kezelés megkezdése előtt a Kurtzke-féle tartós elégtelenségi státusz skálán. A betegek állapotát mindegyik csoportban 3 havonta értékeltük a kísérleti terv szerint. A COP-1-et IL-4-gyel együtt szedő betegek lényegesen nagyobb javulást mutatnak a Kurtzke-féle tartós elégtelenségi státusz skálán, mint az egyedül COP-1-gyel vagy IL-4-gyel kezelt betegek.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás autoimmun reakció elnyomására emlősökben, sclerosis multiplex diagnózis fennállása esetén, amely autoimmun reakció a sclerosis multiplex-szel függ össze, azzal jellemezve, hogy az emlősöknek nyálkahártyán keresztül

i) COP-1-et és

ii) Th-2 fokozó citokin aktivitású nem-interferon polipeptidet adunk,

mimellett a COP-1 és a polipeptid a kombinációban az autoimmun válasz csökkenését előidéző mennyiségben van jelen.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a COP-t orálisan adjuk be.

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a reakció elnyomására a COP-1-et és a polipeptidet a kombinációban olyan mennyiségekben alkalmazzuk, amelyek lényegesen hatásosabbak, mint a COP-1 és a polipeptid önmagában való bevitele által elért hatás.

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy polipeptidként IL-4-et és TH2-fokozó citokin aktivitású fragmentumait alkalmazzuk.

5. A 4. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy polipeptidként IL-4-et alkalmazunk.

6. Az 5. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az IL-4 aminosav szekvenciája ugyanabból a fajtából származik, mint az emlőse és ezt orálisan adagoljuk be.

7. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy polipeptidként IL-10-et és Th2 fokozó citokin aktivitású fragmentumait alkalmazzuk.

8. A 7. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy polipeptidként IL-10-et alkalmazunk.

9. A 8. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az emlőseivel azonos fajtából származó IL-10-et alkalmazunk.

10. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az emlős egy rágcsáló és a betegség egy rágcsáló sclerosis multiplexe.

11. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az emlős egy ember és a betegség sclerosis multiplex.

12. Nyálkahártya útján bevihető gyógyszerkészítmény sclerosis multiplex ellen, azzal jellemezve, hogy COP-1 és IL-4 kombinációját tartalmazza és a COP-1-et és az IL-4-et olyan mennyiségben alkalmazzuk, amely a kombinációban hatékony a sclerosis multiplex ellen.

13. A 12. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy orális gyógyszerkészítményként készítjük ki.

14. A 12. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy benne a COP-1 és az IL-4 kombinációja hatékonyabb a sclerosis multiplex ellen, mint akár a COP-1, akár az IL-4 egyedül.

15. A 12. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy a COP-1-et és az IL-4-et tablettában kombináljuk.

16. A 12. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy a COP-1-et és az IL-4-et kapszulában kombináljuk.

17. Orális gyógyszerkészítmény sclerosis multiplex kezelésére, azzal jellemezve, hogy COP-1 és IL-10 kombinációját tartalmazza, mimellett a COP-1 és az IL-10 mennyisége kombinálva hatásos a sclerosis multiplex ellen.

18. A 17. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy benne a COP-1 és az IL-10 kombinációja hatékonyabb a sclerosis multiplex ellen, mint akár a COP-1, akár az IL-10 egyedül.

19. A 17. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy a COP-t és az IL-10-et tablettá alakban kombináljuk.

20. A 17. igénypont szerinti készítmény, azzal jellemezve, hogy a COP-t és az IL-10-et kapszula alakban kombináljuk.

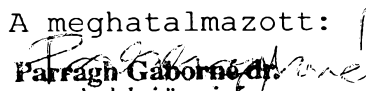
21. Eljárás sclerosis multiplex ellen, azzal jellemezve, hogy orálisan hatásos mennyiségű kombinációt adagolunk, amely

- (1) polipeptid keveréket - amely alanin, glutaminsav, lizin és tirozin polimert t 6:2,5:5:1 molarányban és
- (2) IL-4-et tartalmaz.

22. Eljárás sclerosis multiplex ellen, azzal jellemezve, hogy orálisan hatásos mennyiségű kombinációt adagolunk, amely

- (1) polipeptid keveréket - amely alanin, glutaminsav, lizin és tirozin polimert 6:2,5:5:1 molarányban és
- (2) IL-10-et tartalmaz.

30 oldal
Jelölés

A meghatalmazott: 
Parragh Gábor
szabadalmi ügyvivő
az S.B.G. & K. Nemzetközi
Szabadalmi Iroda tagja
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950, Fax: 34-24-323