



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101994900350968
Data Deposito	28/02/1994
Data Pubblicazione	28/08/1995

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		
Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	08	F		

Titolo

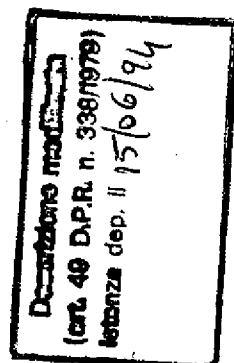
DERIVATI POLIMERICI DEL BENZOPIRAN-2-ONE AD ATTIVITA' IMMUNOTROPA, LORO USO
E COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE CHE LI CONTENGONO

4254 M Descrizione dell'invenzione industriale avente per titolo:

MS/cp "DERIVATI POLIMERICI DEL BENZOPIRAN-2-ONE AD ATTIVITA'
IMMUNOTROPA, LORO USO E COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE CHE LI
CONTENGONO"

a nome: OSIRIDE S.r.l.

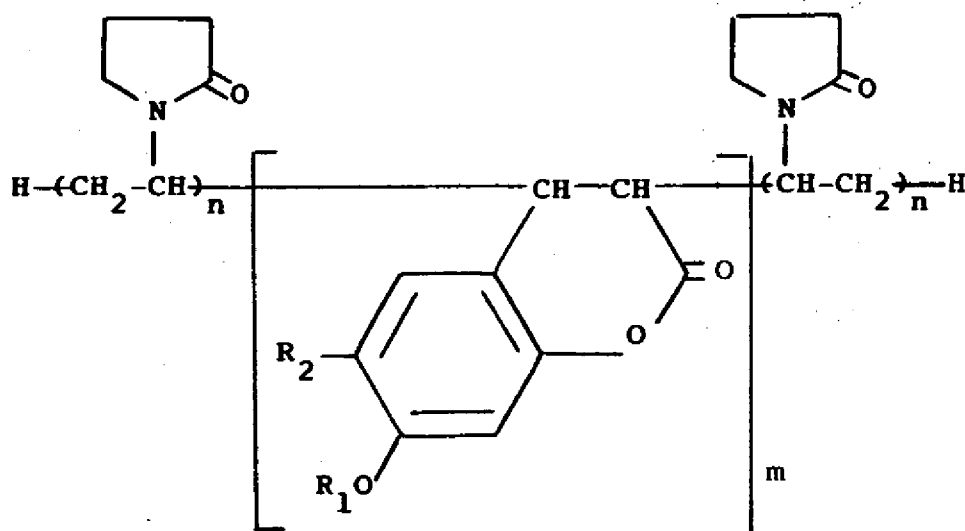
MIV1315



* * *

La presente invenzione si riferisce a derivati polimerici del benzopirano-2-one, in particolare, a copolimeri di benzopirano-2-one con N-vinil pirrolidone. Tali derivati sono dotati di attività immunotropa. La presente invenzione si riferisce anche a un procedimento per la preparazione di detti derivati, al loro uso nella fabbricazione di medicinali e a composizioni farmaceutiche che li contengono.

I composti secondo la presente invenzione sono descritti dalla seguente formula generale (I)



(I)

dove:

R_1 è un atomo di idrogeno, oppure un gruppo $-Y-A$, nel quale Y è una catena C_1-C_{10} alchilene lineare o ramificato,

A è un atomo di alogeno, oppure un gruppo $-NR_3R_4$, dove

R_3 e R_4 , presi assieme all'atomo di azoto cui sono legati, formano un gruppo eterociclico azotato contenente eventualmente nell'anello eterociclico uno o più eteroatomi scelti tra N, O, S;

R_2 è un atomo di idrogeno, oppure un monosaccaride;

n è un numero compreso tra 1 e 1000;

m è un numero compreso tra 1 e 1000.

Esempi di catena C_1-C_{10} alchilene lineare o ramificato sono metilene, dimetilene, trimetilene, tetrametilene, pentametilene, esametilene, decilene, 1-metiletilene, preferibilmente dimetilene, trimetilene, tetrametilene, pentametilene; più preferibilmente dimetilene.

Esempi di gruppi eterociclici sono eterocicli a 6 atomi nell'anello, ad esempio piridile, pirimidile, pirazile, 1,3,5-triazinile, piperidinile, piperazinile, morfolinile, tiamorfolinile; eterocicli a 5 atomi nell'anello ad esempio pirrolile, tiazolile, ossazolile, imidazolile, 2,5-dioxo-pirrolinile, 2,5-dioxo-pirrolinile (maleimmido), pirrolidinile, tiazolidinile, ossazolidinile, imidazolidinile, benzimidazolile. Gruppi preferiti sono imidazolile, benzimidazolile, 2,5-dioxo-pirrolinile (maleimmido).

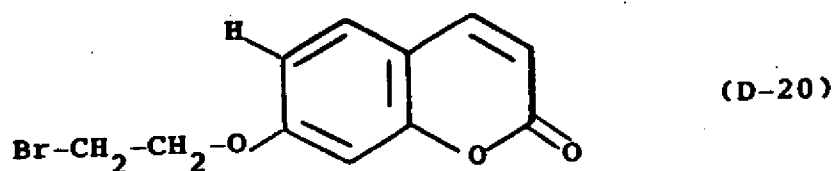
Esempi di monosaccaridi sono glucosio, ribosio, fruttosio, xilosio, arabinosio nelle loro diverse forme animeriche; preferibilmente β -D-glucosio.

Sono particolarmente preferiti i composti di formula (I) dove R_2 è idrogeno e R_1 è rispettivamente un gruppo 2-bromoetile (composto IM-5), un gruppo 2-(1-benzimidazolil)etile (composto IM-39), un gruppo 2-(1-imidazolil)etile (composto IM-38), un gruppo 2-N-maleimmidoetile (composto IM-50); un gruppo 2-benzilbenzimidazol-1-il (composto IM-118); il composto dove R_1 è idrogeno e R_2 è il gruppo 1- β -D-glucosile.

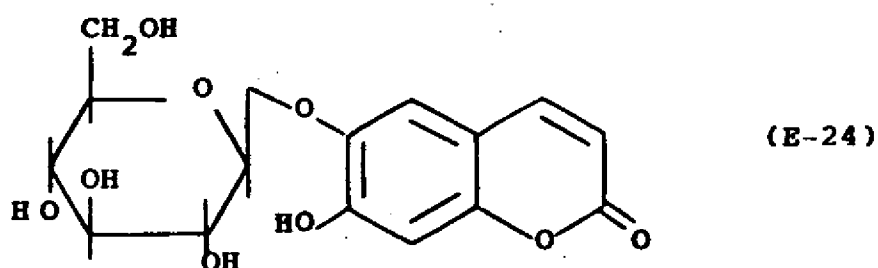
Studi condotti dall'autore della presente invenzione su derivati del benzopirano-2-one come potenziali agenti immunomodulatori hanno portato allo sviluppo di nuovi immunomodulatori sintetici.

L'attività immunotropa era stata osservata sia in derivati monomeri del benzopirano-2-one, sia in loro copolimeri con N-vinilpirrolidone, (Abyshev, e al. 17° Congresso Internazionale di Chemioterapia, Berlino 1991).

In particolare erano stati studiati il composto denominato D-20, di formula



e il composto denominato E-24

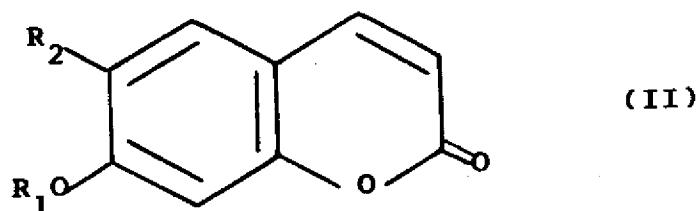


E' stato ora trovato, e costituisce oggetto della presente invenzione, che i composti di formula generale (I) sono dotati di attività immunotropa.

Vantaggiosamente, i composti della presente invenzione possono essere coniugati con molti antigeni virali e loro determinanti antigenici: tali coniugati possono essere impiegati per la fabbricazione di vaccini sintetici, i quali, assieme a questi coniugati, costituiscono un ulteriore oggetto della presente invenzione.

Composti di formula (I) sono preparati con metodi noti in letteratura, ovvero secondo la tecnica generale di polimerizzazione radicalica, nota all'esperto del settore.

Brevemente, una soluzione di un derivato di benzopiran-2-one di formula (II)



dove R_1 e R_2 sono come sopra definiti, viene trattata con N-vinilpirrolidone (opportunamente in presenza di un solvente, ad esempio etanolo) in presenza di un generatore di radicali, quale azobisisobutirronitrile.

I composti secondo la presente invenzione sono stati testati per la loro attività immunomodulante.

1700 ratti bianchi Mongrel maschi, di peso compreso tra 180 e 200 g

furono trattati con eritrociti di montone, come agente antigene, alla dose di 10^7 , assieme ai composti dell'invenzione. Il 4° e 5° giorno dopo l'introduzione, come pure durante i 100 giorni successivi, le reazioni immunologiche furono determinate secondo il metodo descritto in "A Methodical Guide to Experimental and Clinical Study of New Therapeutic Preparations" Ministry of Health of The USSR. Inoltre, furono valutate le attività dei recettori dei linfociti T, l'indice di affinità morfologica (MIA) (Shabolin, V.N. e al. Immunology, 1990, n 6, 30-32) e il numero di linfociti T con recettori dell'istamina (Tr) (Golovastikov, I.N. e al; Immunology, 1981, n 3, 22-24). L'attività T-repressoria dei linfociti fu studiata nel sistema di trasferimento adottivo delle cellule spleniche mediante l'inibizione specifica della risposta immunitaria (Pisarev, V.M., The Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 1977, n 5, 571). Per valutare il cambiamento di macrofagi peritoneali e splenici, fu usato il metodo della formazione autoimmune di rosette (ARF), (Mg. Zhizhard, e al.; J.Kangzhau. Univ. Natur. Sci. Ed. 1988, vol 15, n.3, 33-338).

I dati furono trattati con il metodo statistico del t di Student.

I risultati dimostrano che i composti secondo la presente invenzione influenzano la risposta immunitaria dell'organismo e questa influenza è dipendente dalla dose somministrata. Ad esempio, nello studio dei monomeri, dosi comprese tra 0.01 e 10 mg/kg del composto denominato D-20 sono efficaci nel determinare un sostanziale aumento della formazione di rosette (E-RFC), con il massimo aumento per la dose di 0.1 mg/kg. Dosi più elevate provocano un sostanziale aumento di

cellule generatrici di anticorpi (APC), mentre l'attività dei linfociti T diminuisce. Tenendo conto che il composto IM-5 consiste del 29% di D-20 e 71% di N-vinilpirrolidone (N-VP), detto composto fu esaminato a dosi comprese tra 1 e 150 mg/kg. Il composto IM-5 ha un effetto di innesco del sistema immunitario a dosi maggiori o uguali a 2 mg/kg. Dosi basse (1-6 mg/kg) e dosi elevate (1-15 mg/kg) inducono una diminuzione del numero di E-RFC nell'organismo, come illustrato in figura 1. Studi simili su E-24 e IM-22 hanno mostrato che E-24 è il composto monomero che influenza il processo di formazione degli anticorpi in misura minore. Conseguentemente, l'intervallo di dosi applicate poteva variare da 1 a 150 mg/kg. La macromolecola IM-22 contiene il 55% di E-24 e 45% di N-VP. I risultati dimostrano che IM-22 ha attività analoga a quella di IM-5, come si può vedere dalla figura 2, dove la sola differenza tra i due composti risiede nel livello di deaccumulazione di APC. Sulla base dei dati ottenuti, e tenendo conto che la attività immunostimolante dovrebbe aumentare selettivamente alcuni processi del sistema immunitario senza inibire altre strutture immunitarie, si può concludere che le dosi ottimali sono attorno ai 10 mg/kg.

Gli studi a 100 giorni della dinamica di tali indici, quali il livello di APC, numero di E-ERC e linfociti T con recettori per l'istamina, mostrarono che l'effetto di questi preparati su reazioni immuni duravano per un certo periodo di tempo. Per E-24, gli indici mantenevano i loro valori per 21 giorni. Nel caso di D-20, IM-5, IM-22, dopo una iniziale diminuzione e alcune fluttuazioni, il livello di E-RFC nella milza ritornava al suo valore originale il 35° giorno nel caso di

D-20 e l'80° giorno nel caso dei composti secondo la presente invenzione. Il livello di APC e il numero di linfociti T con recettori per l'istamina (Tr) ritornavano ai loro valori originali solo dopo 80 giorni dalla somministrazione. Gli animali di controllo, trattati con solo veicolo, non mostrarono la presenza di tali linfociti nei nodi linfatici. I dati ottenuti sono coerenti con l'ipotesi della comparsa di recettori per l'istamina a un definito stadio della proliferazione indotta da antigene o mitogeno della differenziazione di linfociti T (Fassakhov, R.S. e al, Immunology, 1984, n.2 46-49). Il meccanismo di azione potrebbe essere ipotizzato come segue: l'interazione dell'istamina con i recettori per quest'ultima sulla superficie cellulare attiva la adenilato ciclasi con conseguente aumento di adenosina ciclica monofosfato, il che dà luogo, in particolare, alla inibizione della capacità dei linfociti T di produrre rosette con gli eritrociti di capra e questa potrebbe essere la ragione del loro iniziale calo nei primi giorni dopo la somministrazione. Sembra che questo meccanismo regoli anche livello di produzione degli anticorpi. Questo può essere confermato dal confronto fra le curve di accumulo di APC e linfociti T, dove si osserva la comparsa di un picco speculare dei livelli. Quest'ultimo permette anche di ipotizzare una risposta immunitaria totale, il cui valore è costante (vedi figure 3 e 4).

I composti secondo la presente invenzione sono dotati di effetto immunostimolante più duraturo rispetto ai monomeri esaminati.

La caratterizzazione dettagliata dei composti dell'invenzione ha rivelato diverse loro peculiarità. Come si può vedere dalla tabella, i

composti della presente invenzione aumentano in maniera indipendente e selettiva stadi differenti della risposta immunitaria. Sulla base dell'analisi dei dati ottenuti si può concludere che il carattere generale di tali composti, quali IM-5 e IM-22 è la loro dipendenza dal timo. Ciò è confermato dall'assenza del cambiamento del numero di E-RFC nell'indice di MIA e nella reazione ospite contro trapianto, essendo gli indici dell'ospite molto bassi. La somministrazione di IM-5 o di IM-22 determina un livello di APC, rispettivamente 10-15 e 5-7 volte maggiore di quello provocato dalla immunizzazione con eritrociti di montone. Probabilmente le interazioni idrofile-idrofobe di queste macromolecole sono responsabili delle diverse proprietà. Pare che la presenza di un saccaride e di un gruppo idrossifenolico nella molecola di IM-22 la renda più idrofila e questo influisce sul suo effetto sulle membrane dei linfociti B e sull'accumulo di APC. L'inserimento di gruppi eterociclici, quali ad esempio imidazolo, benzimidazolo e maleimide, nella catena polimerica dà luogo ad un aumento di APC da 2 a 5 volte. Probabilmente la presenza di eterocicli impartisce ai polimeri dell'invenzione carattere di dipendenza dal timo. E' interessante notare che i composti dell'invenzione determinano una diminuzione dei livelli di APC quando sono provati sulla attività di linfociti T soppressori di cellule spleniche trattate con 5×10^9 eritrociti di montone e trasferite addottivamente su animali della stessa linea. La valutazione percentuale della inibizione della produzione di anticorpi mostra che i composti della presente invenzione stimolano questo effetto. Si nota che alla dose di 50-100 mg/kg, l'attività dei composti di cui sopra diminuisce, i

composti contenenti gruppi eterociclici, stimolano i linfociti T soppressori in misura inferiore. La comparsa di linfociti di questo tipo nell'organismo sembra nella regolazione immunitaria il principio inverso.

I composti della presente invenzione influenzano i macrofagi in modo diverso e questo effetto dipende dal tipo di questi ultimi. Così, IM-5 e IM-22 promuovono l'aumento delle forme immature di macrofagi nell'essudato peritoneale che è sostanzialmente dall'aumento del numero di rosette autologhe con i macrofagi (ARM). Nello stesso tempo, l'uso di IM-38, IM-39 e IM-50 dà luogo a un sostanziale accumulo del livello di ARM nei macrofagi peritoneali (PM) e al loro sufficiente aumento di macrofagi della milza (SM). I dati ottenuti confermano i dati della letteratura (Besvereshenko I.A., Immunology, 1988, n.6 26-29) che indicano che i composti macromolecolari stimolano la proliferazione delle cellule troncali emopoietiche, il che è confermato dall'aumento di forme immature di macrofagi il cui livello nell'essudato peritoneale e nella milza di animali intatti è basso (tabella).

I composti secondo la presente invenzione trovano applicazione nel trattamento di malattie del sistema immunitario, in particolare le malattie autoimmuni.

Un adeguato modello sperimentale è rappresentato dalla artrite da adiuvante, nella cui patogenesi i linfociti T hanno un ruolo importante. I composti della presente invenzione sono stati messi a confronto con α -tocoferolo acetato, che è dotato di azione stabilizzante di membrana e antiossidante. I risultati sono mostrati nella figura 5. Da questa

figura si vede che il quadro clinico della artrite e l'edema alle gambe peggiorano se si usa α -tocoferolo acetato come agente terapeutico-profilattico nelle due settimane di trattamento. Tuttavia, negli stadi successivi a cominciare dalla terza settimana, la somministrazione di adiuvante di Freund completo (FCA) provoca una diminuzione dell'edema. La somministrazione di IM-22 durante gli stadi iniziali della malattia dà luogo a un diminuzione dell'edema delle gambe e solo all'inizio della terza settimana, dopo somministrazione di FCA, la malattia si aggravava. Al contrario, D-20 era sostanzialmente privo di effetti durante le prime due settimane, mentre a partire dalla terza settimana promuoveva la diminuzione dell'edema.

Il confronto dei livelli di E-RFC e APC durante i 21 giorni dopo la somministrazione di FCA e dei composti in esame mostra che questi processi nella milza hanno andamenti diversi (vedi figura 6) Allo stesso tempo, come si può vedere in figura 6, i cambiamenti nella reazione immunitaria durante lo sviluppo della artrite da adiuvante in ratti sono di carattere fasico. I risultati dimostrano che la somministrazione di α -tocoferolo acetato nelle prime fasi della malattia è inefficace. Secondo la letteratura (Pletsyty, K.D. e al. The Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 1987, n 1, 43-45), a questi stadi si osserva la attivazione di virus FCA latenti che hanno un effetto alterante sulle cellule e in questo caso né α -tocoferolo acetato né D-20 sono in grado di stimolare la produzione anticorpale. A sua volta questo fatto provoca probabilmente l'aggravamento della malattia. Al contrario, l'attività stimolante degli anticorpi da parte di IM-22 allevia i

sintomi della malattia. Come noto (Davydova T.V. The Journal of Microbiology Epidemiology and Immunobiology, 1979, n.1, 83-85), alla fine della seconda settimana e all'inizio della terza il processo autoimmune inizia a prevalere nella patogenesi dell'artrite da adiuvante e in questo processo gli effettori T generatori di forme attive di ossigeno giocano un ruolo importante. Sembra che da questo momento sia α -tocoferolo acetato, sia D-20 inizino a mostrare proprietà antiossidanti e stabilizzanti di membrana (D-20 in misura maggiore di α -tocoferolo acetato) stimolando la attività dei linfociti T. Da ciò si osserva l'attenuarsi del quadro clinico della malattia. Anche IM-22 è in grado di agire come antiossidante. Tuttavia, la stimolazione della genesi di anticorpi e la diminuzione della attività funzionale dei linfociti T in questo stadio della malattia non influisce sullo sviluppo di questi ultimi e la somministrazione a dosi più alte addirittura peggiora la malattia. Di conseguenza, IM-22 deve essere utilizzato come agente terapeutico-profilattico nei primi stadi della malattia, mentre negli stadi tardivi, secondo il quadro clinico, si può utilizzare D-20.

Da quanto sopra esposto, i composti della presente invenzione sono dotati di attività farmacologica, in particolare immunotropa.

Pertanto, è un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di composti di formula (I) come agenti immunotropi.

Inoltre, costituisce un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di composti di formula (I) in qualità di principi attivi per la preparazione di un medicamento ad attività immunotropa per il trattamento delle malattie del sistema immunitario.

In particolare, i composti della presente invenzione possono essere coniugati con antigeni in modo da dare un complesso polimero-antigene utile per la preparazione di vaccini, quali ad esempio vaccini per le varie forme di influenza, per l'epatite B. A scopo illustrativo, sono stati preparati secondo l'invenzione complessi con i virus dell'influenza e della epatite B. I conigli immunizzati con i complessi dell'invenzione hanno sviluppato rispettivamente un titolo di anticorpi pari a 1:262000+/-47,5 e 1:25000. I complessi secondo la presente invenzione sono utilizzabili anche come agenti per immunofluorescenza diagnostica.

La presente invenzione comprende anche composizioni farmaceutiche contenenti un composto di formula (I) in miscela con veicoli ed eccipienti farmaceuticamente accettabili. Le composizioni secondo la presente invenzione sono preparabili con metodi e procedimenti convenzionali noti all'esperto del settore, come ad esempio descritti in "Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook", XVII ed., Mack Pub., N.Y. U.S.A.

Esempi di composizioni farmaceutiche sono le forme iniettabili, come soluzioni o sospensioni sterili o polveri liofilizzate ricostituibili, forme orali, quali compresse, capsule, pastiglie, confetti, polveri, granulati, sciroppi e soluzioni; forme rettali, quali supposte, forme vaginali, quali ovuli, candelette; forme topiche, quali creme, unguenti, lozioni.

I dosaggi e la posologia saranno stabiliti dal medico curante a seconda della gravità della patologia da trattare e dalle condizioni del

paziente (età, sesso, peso). Generalmente i dosaggi saranno compresi tra 0,001 e 100 mg/kg.

Sono un ulteriore oggetto della presente invenzione vaccini sintetici contenenti un complesso copolimero di formula (I)/antigene.

Sono un ulteriore oggetto della presente invenzione composizioni diagnostiche contenenti un complesso copolimero di formula (I)/antigene come agente immunofluorescente.

Il seguente esempio illustra ulteriormente l'invenzione.

ESEMPIO

Alle soluzioni dei derivati corrispondenti di benzopiran-2-one e di N-vinil pirrolidone in etanolo vengono aggiunti 0,02 g di azobisisobutirronitrile, quindi si effettua la polimerizzazione in fiala saldata con corrente di argon alla temperatura di 75-80°C. Dopo di che la fiala viene aperta e il polimero viene precipitato da etanolo e etere etilico. Il polimero viene seccato sotto vuoto a 40°C fino a peso costante. La assenza di monomeri viene determinata mediante cromatografia su strato sottile (TLC) in sistema benzene/acetone (10:3). La massa molecolare dei polimeri viene definita mediante cromatografia su gel su Sephadex G-150, la struttura dei polimeri viene determinate con ¹³C-NMR. Le strutture sono confermate dagli spettri NMR e IR. Negli spettri IR sono evidenti le bande di assorbimento a 1765-1770 (carbonile saccaridico) 1690-1700 (carbonile del pirrolidone), 1590, 1500 (legame carbonio-carbonio aromatico).

Nella seguente tabella sono elencate le principali caratteristiche chimico fisiche dei composti preparati:

TABELLA

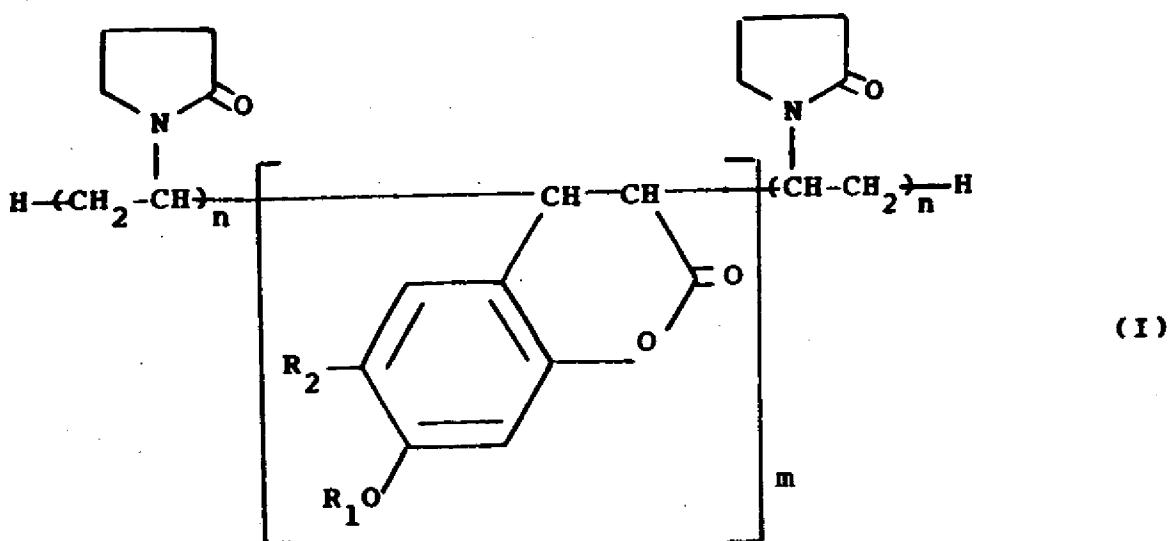
Caratteristiche fisicochimiche dei polimeri
sintetizzati degli immunomodulatori

Immunomodulatori	Contenuto ell.ti []		Massa molecolare in kDl
	in mole, % M1 M2	in p/gr DMFA, 25°C	
IM-22	27,0 73,0	0,82	130-150
IM-39	10,0 90,0	0,92	160-200
IM-118	15,0 85,0	0,95	220-250

* M1 - elementi dei frammenti benzopiranonici

RIVENDICAZIONI

1. Composti di formula generale (I):



dove:

R_1 è un atomo di idrogeno, oppure un gruppo $-Y-A$, nel quale Y è una catena C_1-C_{10} alchilene lineare o ramificato,

A è un atomo di alogeno, oppure un gruppo $-NR_3R_4$, dove

R_3 e R_4 , presi assieme all'atomo di azoto cui sono legati formano un gruppo eterociclico azotato contenente eventualmente nell'anello eterociclico uno o più eteroatomi scelti tra N, O, S;

R_2 è un atomo di idrogeno, oppure un monosaccaride;

n è un numero compreso tra 1 e 1000;

m è un numero compreso tra 1 e 1000.

2. Composti secondo la rivendicazione 1 dove R_2 è idrogeno e R_1 è scelto nel gruppo costituito da un gruppo 2-bromoetile, un gruppo 2-(1-benzimidazolil)etile, un gruppo 2-(1-imidazoli)etile, un gruppo 2-N-

maleimmidoetile, un gruppo 2-benzil-benzimidazol-1-ile.

3. Composto secondo la rivendicazione 1, dove R_1 è idrogeno e R_2 è il gruppo 1- β -D-glucosile.

4. Uso dei composti delle rivendicazioni 1-3 come agenti ad attività immunotropa.

5. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-3 per la fabbricazione di un medicamento ad attività immunostimolante.

6. Uso dei composti secondo le rivendicazioni 1-3 per la fabbricazione di un medicamento utile per il trattamento delle malattie autoimmuni.

7. Composizioni farmaceutiche contenenti uno dei composti delle precedenti rivendicazioni come principio attivo in miscela con veicoli ed eccipienti farmaceuticamente accettabili.

8. Complessi tra un composto delle rivendicazioni 1-3 e un antigene.

9. Uso dei complessi della rivendicazione 8 per la fabbricazione di un vaccino.

10. Vaccino caratterizzato dal fatto che contiene un complesso della rivendicazione 8 in miscela con veicoli ed eccipienti farmaceuticamente accettabili.

11. Agente diagnostico caratterizzato dal fatto che contiene un complesso della rivendicazione 8 come agente immunofluorescente.

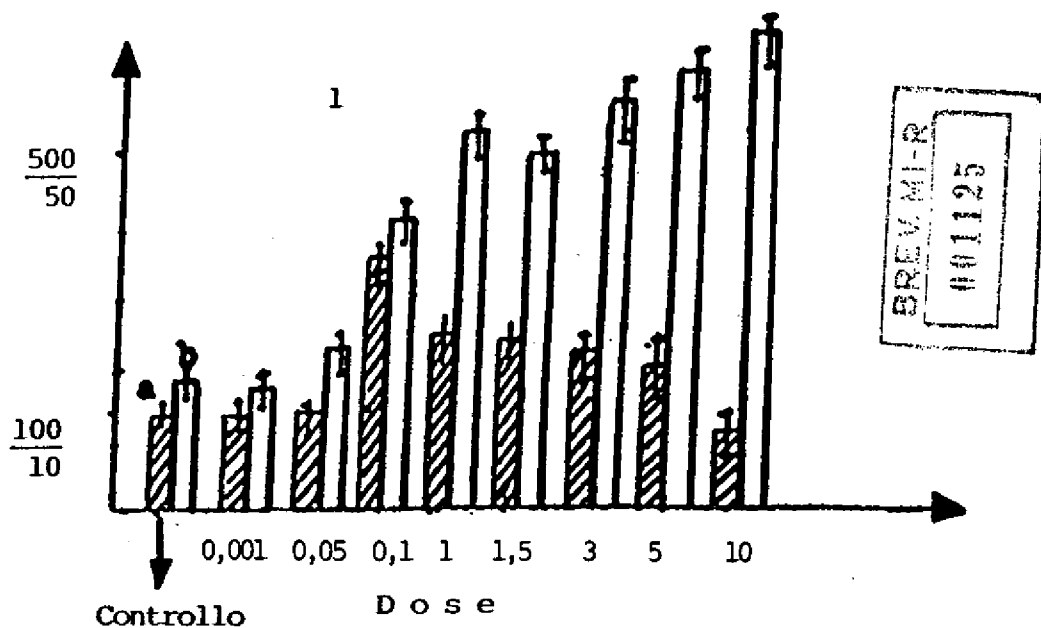
Milano, 28 febbraio 1994

Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
dello Studio Consulenza Brevettuale

G. Bianchetti



$\frac{APC}{E-RFC}$



$\frac{APC}{E-RFC}$

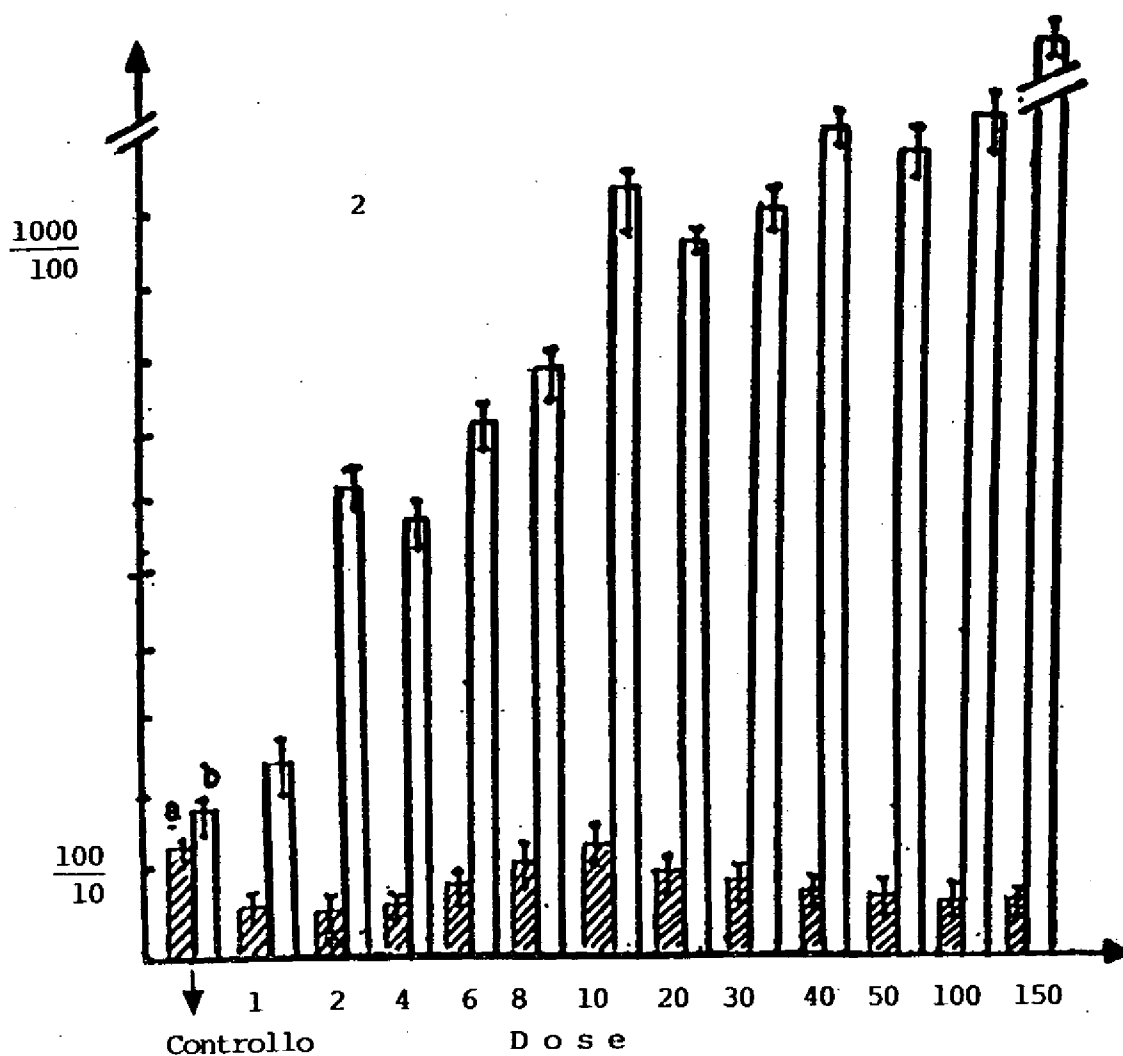
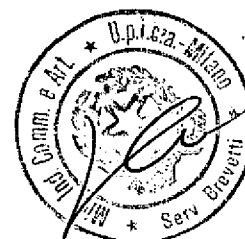


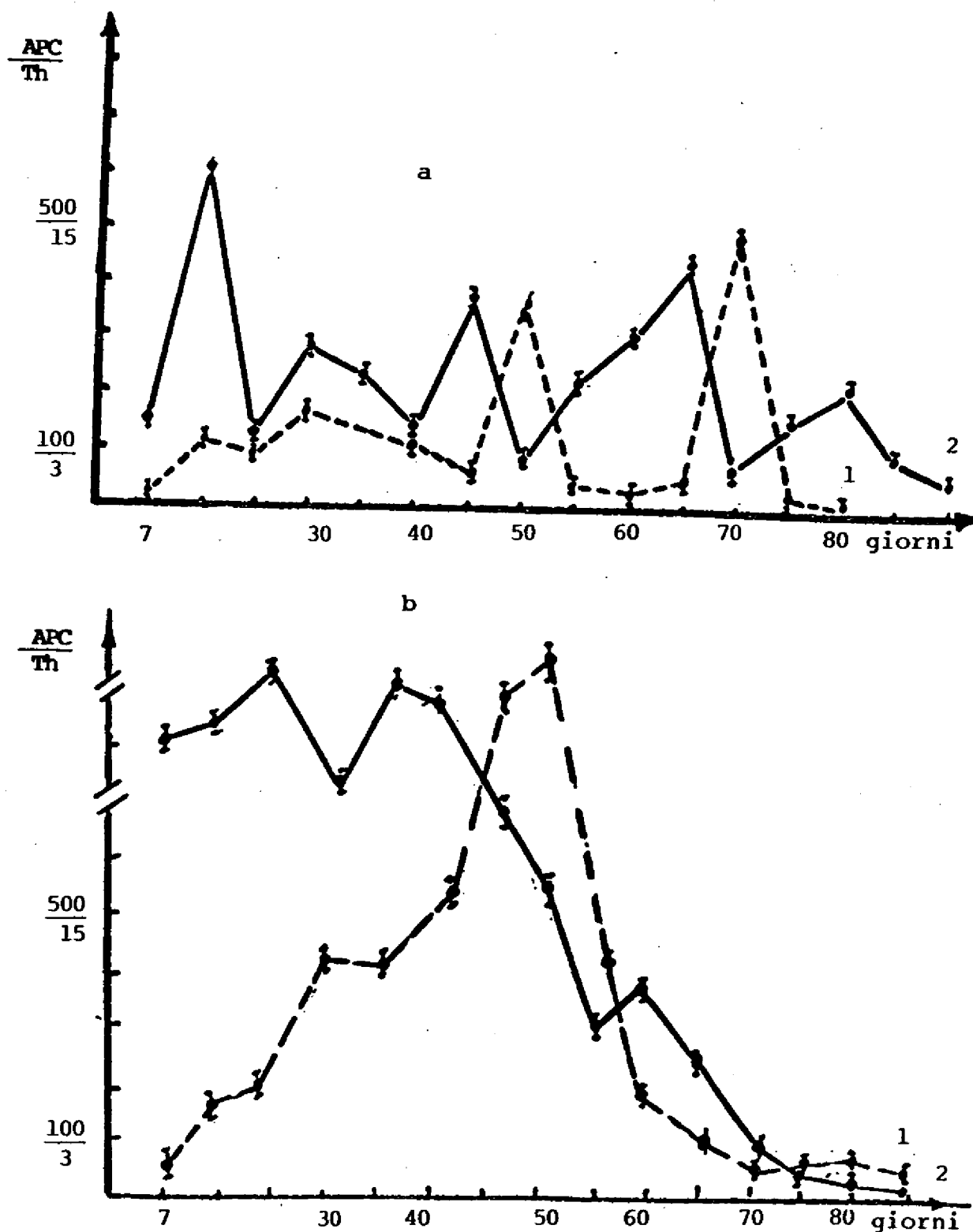
FIG. 1

Il Mandatario
(Bracco Mauro)
dello Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.

Bracco Mauro





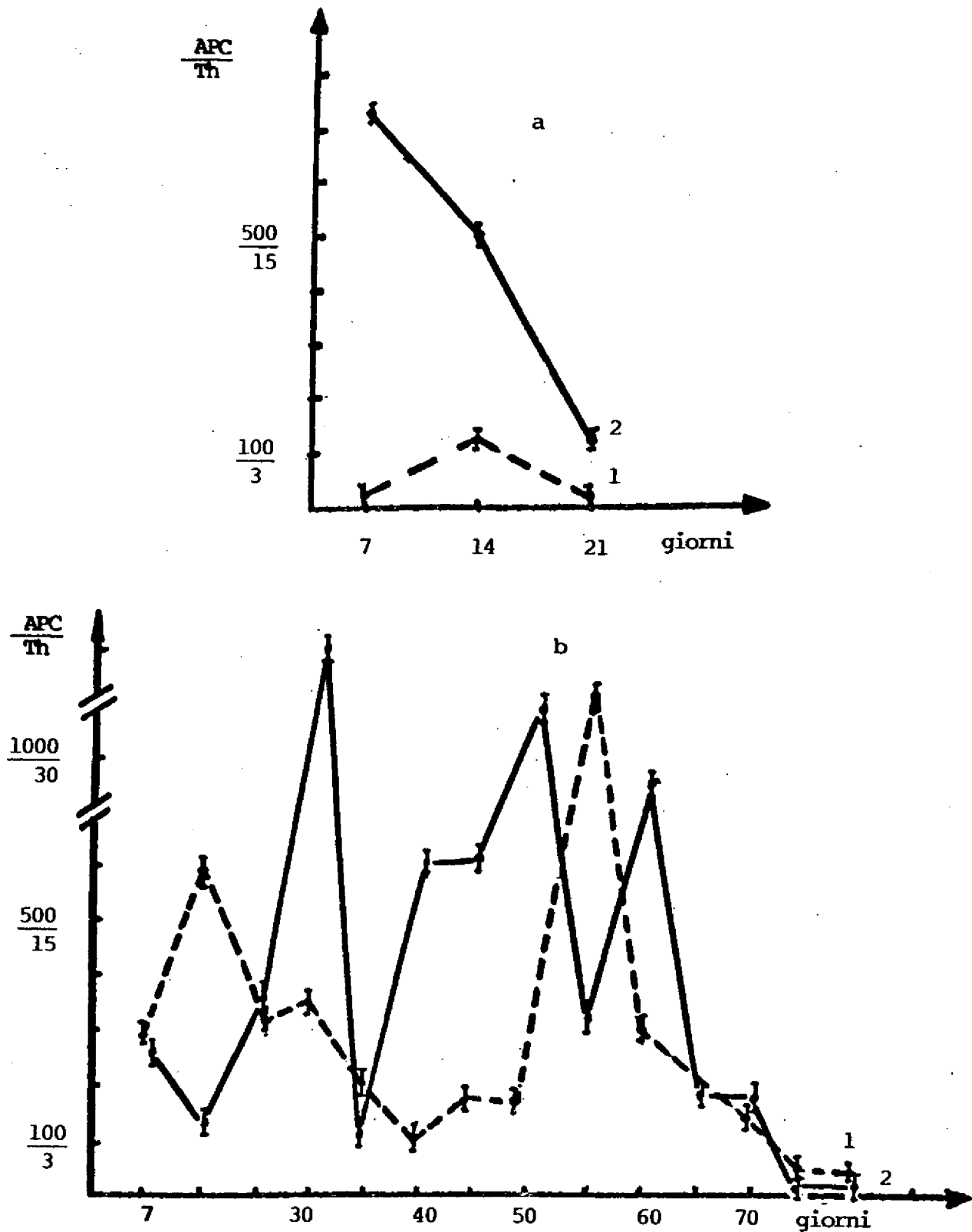


1. Livello di linfociti T contenuti nei recettori dell'istamina (%)
2. Livello di APC (10^6)
- a) D-20 (dose 0,1 mg/kg)
- b) IM-5 (dose 10 mg/kg)

FIG. 3

Il Mandatario
(Bracco Mauro)
dello Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.





1. Livello di linfociti T contenuti nei recettori dell'istamina (%)
2. Livello di APC (10^6)
- a) E-24 (dose 1-150 mg/kg)
- b) IM-22 (dose 1-150 mg/kg)

FIG. 4

Il Mandatario
(Bracco Mauro)
dello Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.



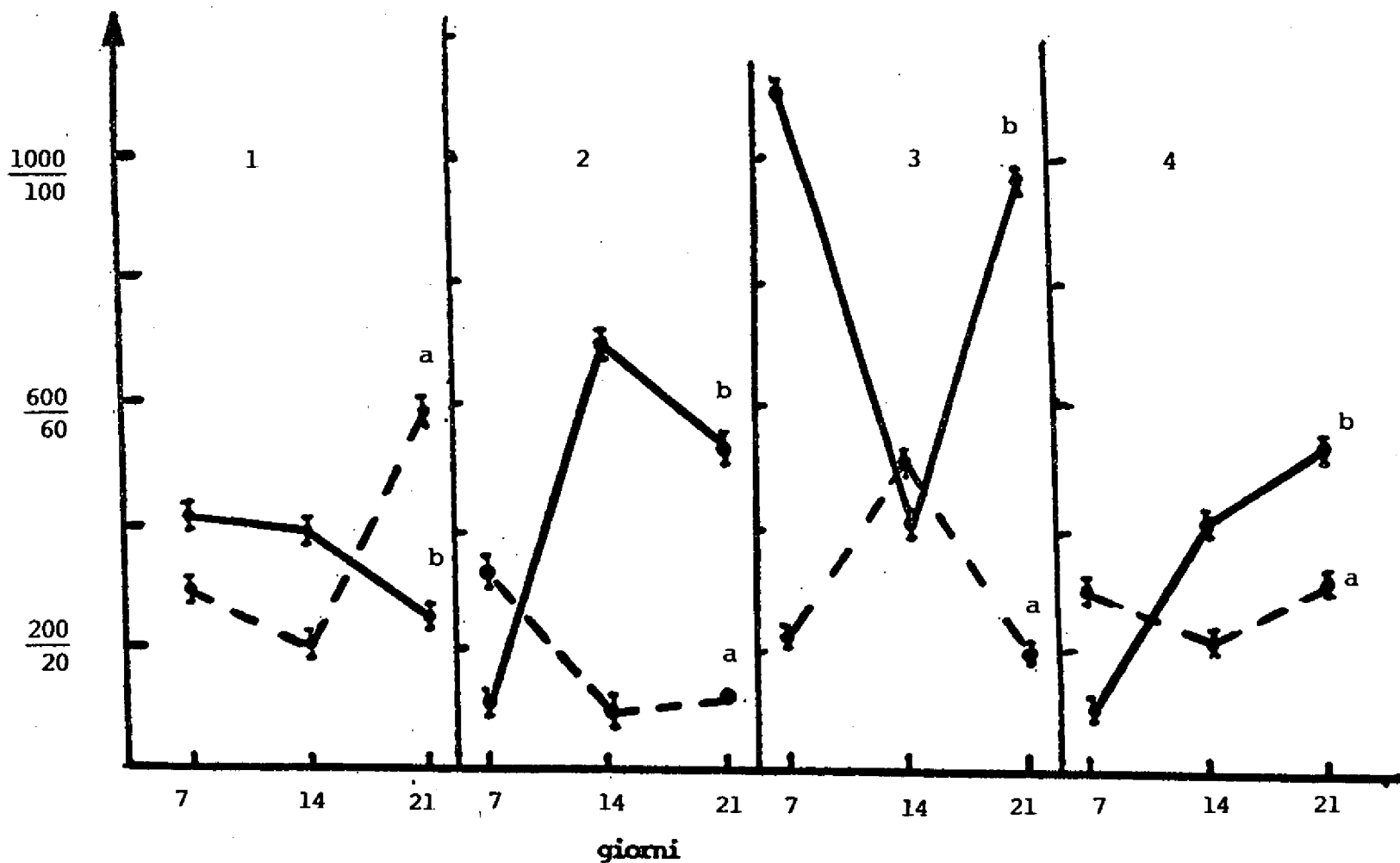
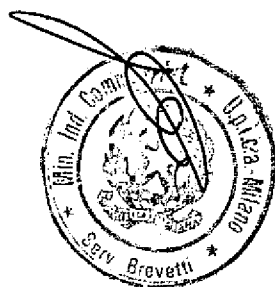


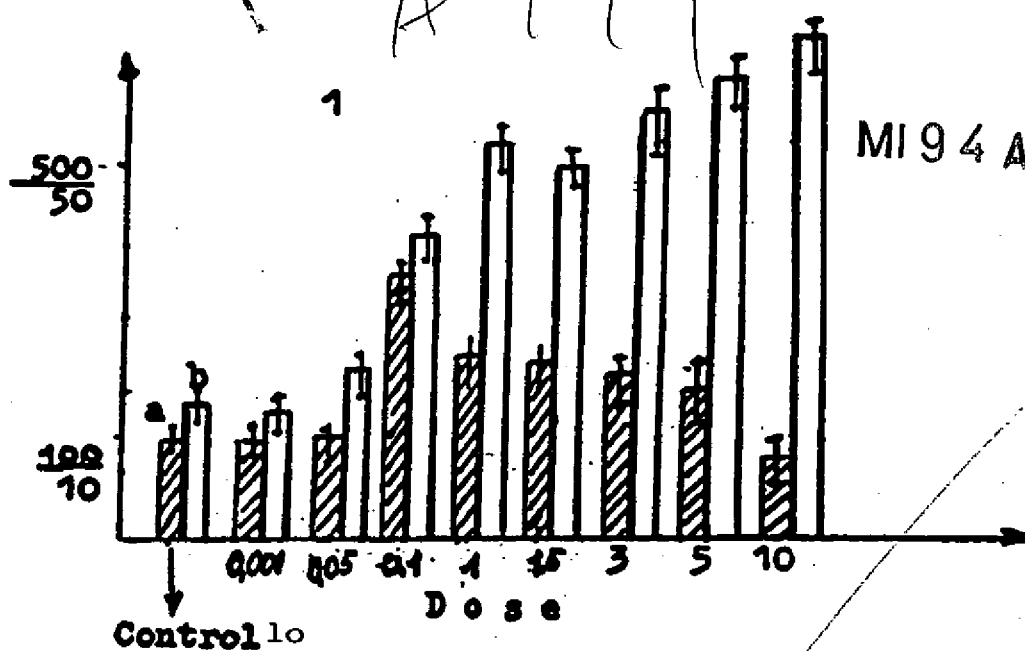
FIG. 6

- 1) Artrite non trattata
- 2) Introduzione di α-tocoferolo acetato (50 mg/kg)
- 3) Introduzione di IM-22 (10 mg/kg)
- 4) Introduzione di D-20 (0,1 mg/kg)
- a) Livello di APC
- b) Livello di RFC

Il Mandatario
(Bracco Mauro)
dello Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.



APC
E-RFC



APC
E-RFC

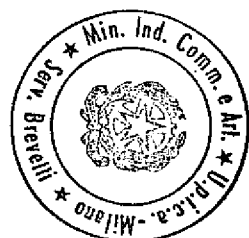
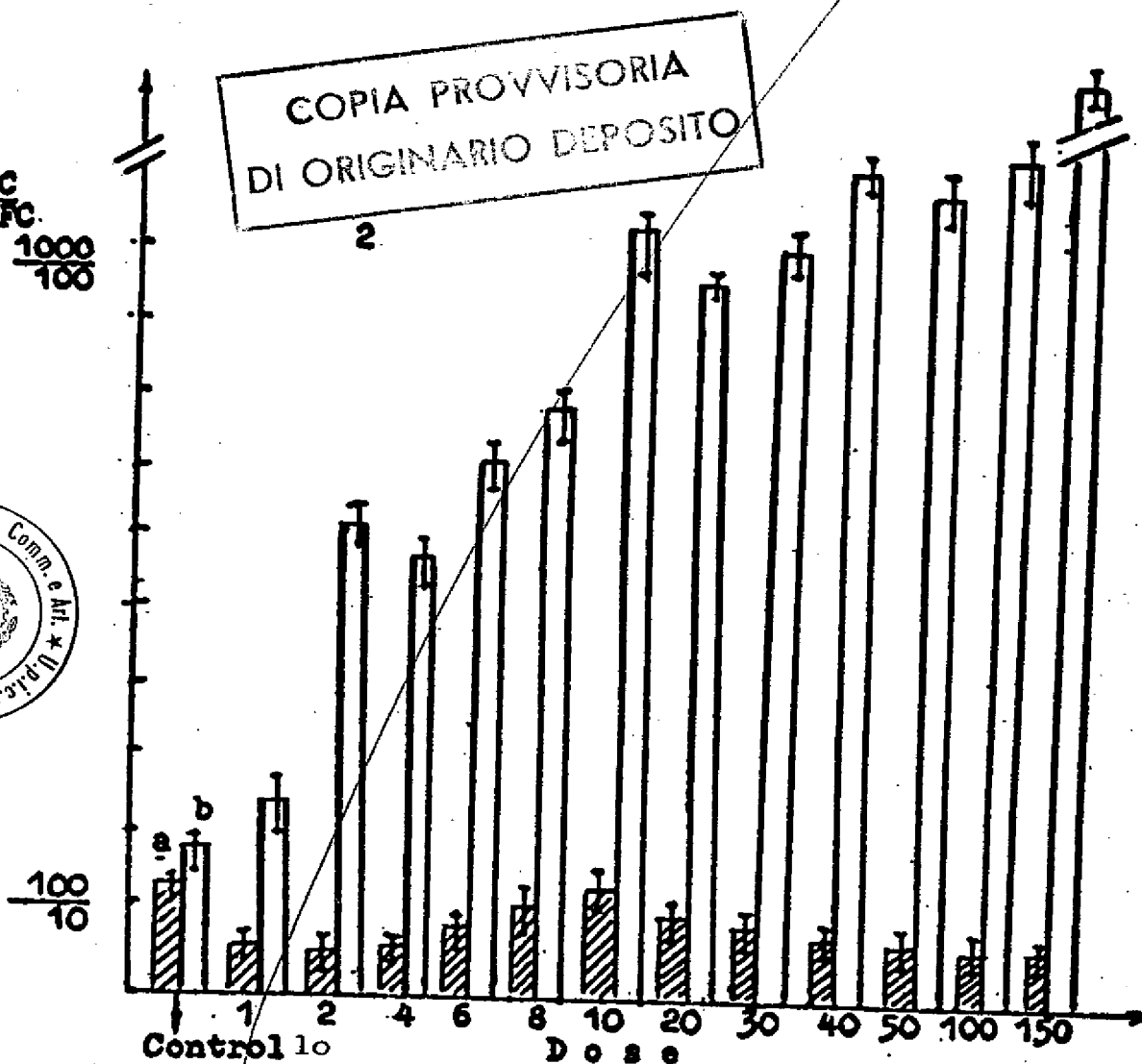


FIG. 1 Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
dello Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.

G. Bianchetti

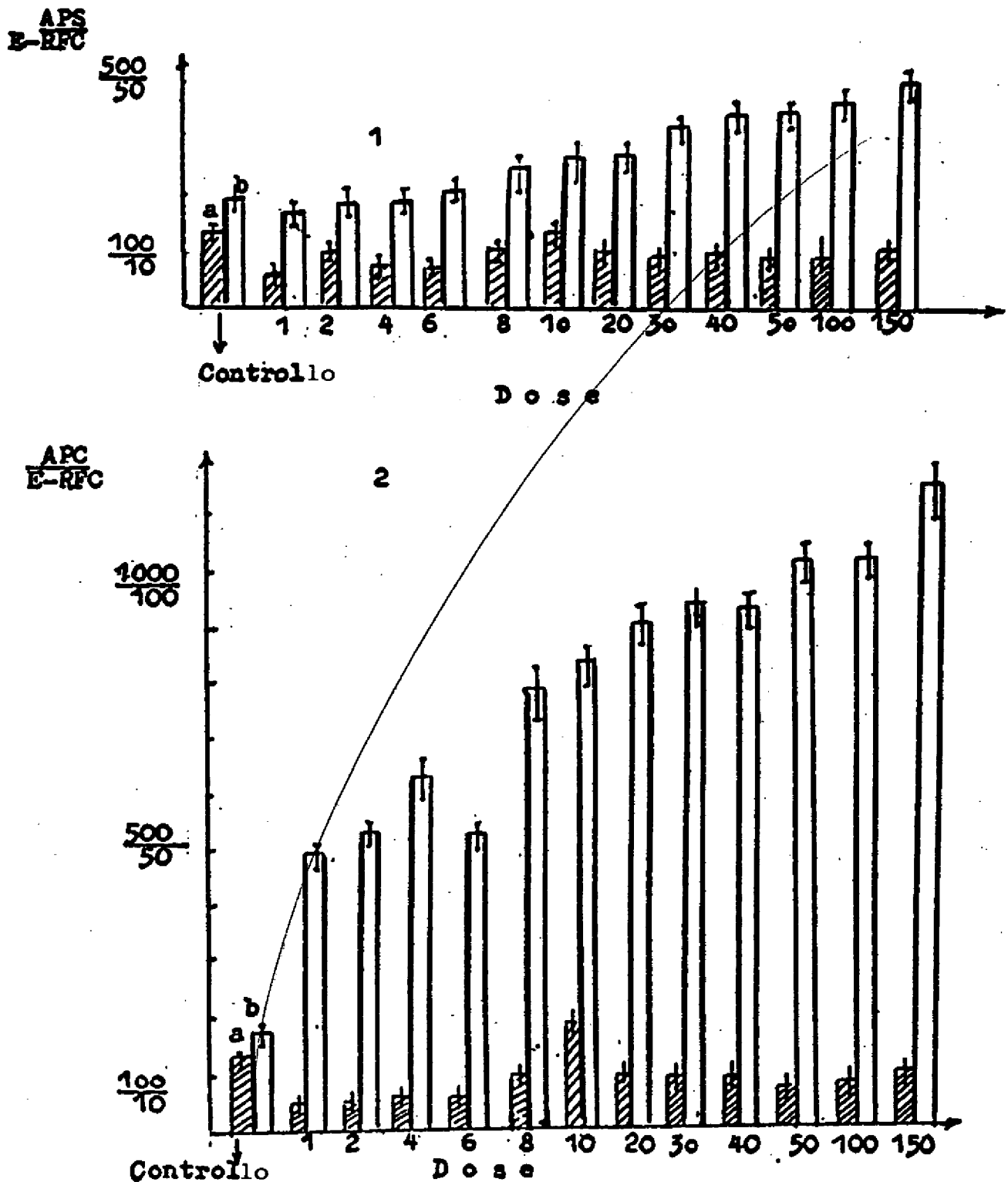


FIG. 2.

Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
dello Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.

G. Bianchetti



MI 94 A / 00357

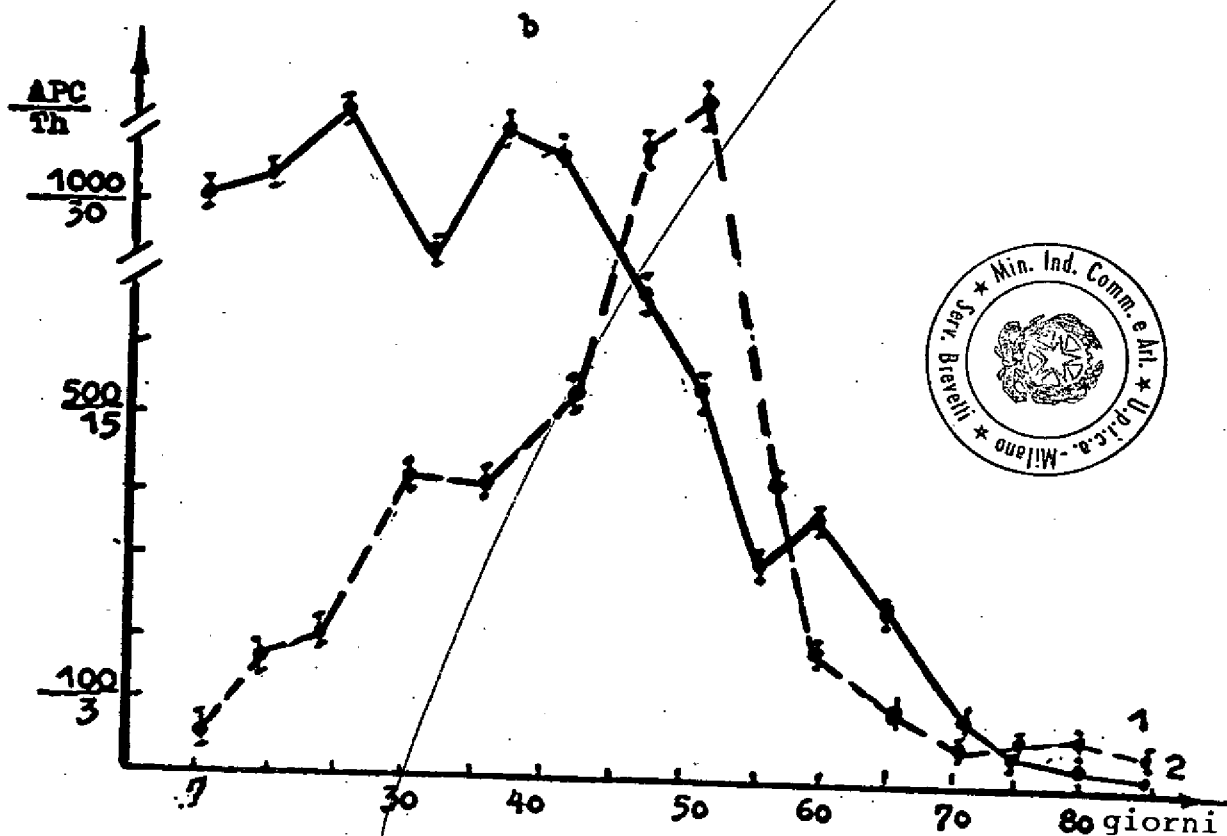
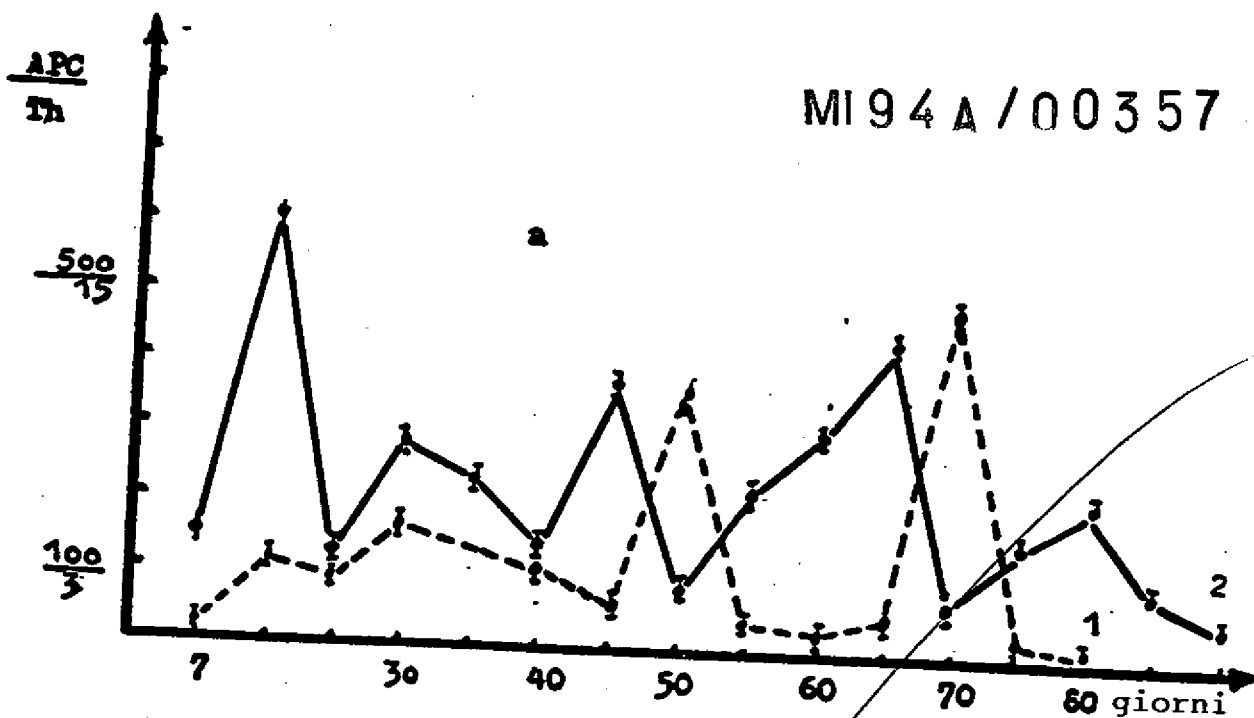


FIG 3.

1. Livello di linfociti T contenuti nei recettori dell'istamina (%)
2. Livello di APC (10^6)
- a) D-20 (dose 0,1 mg/kg)
- b) IM-5 (dose 10 mg/kg)

Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
dello Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.

G. Bianchetti

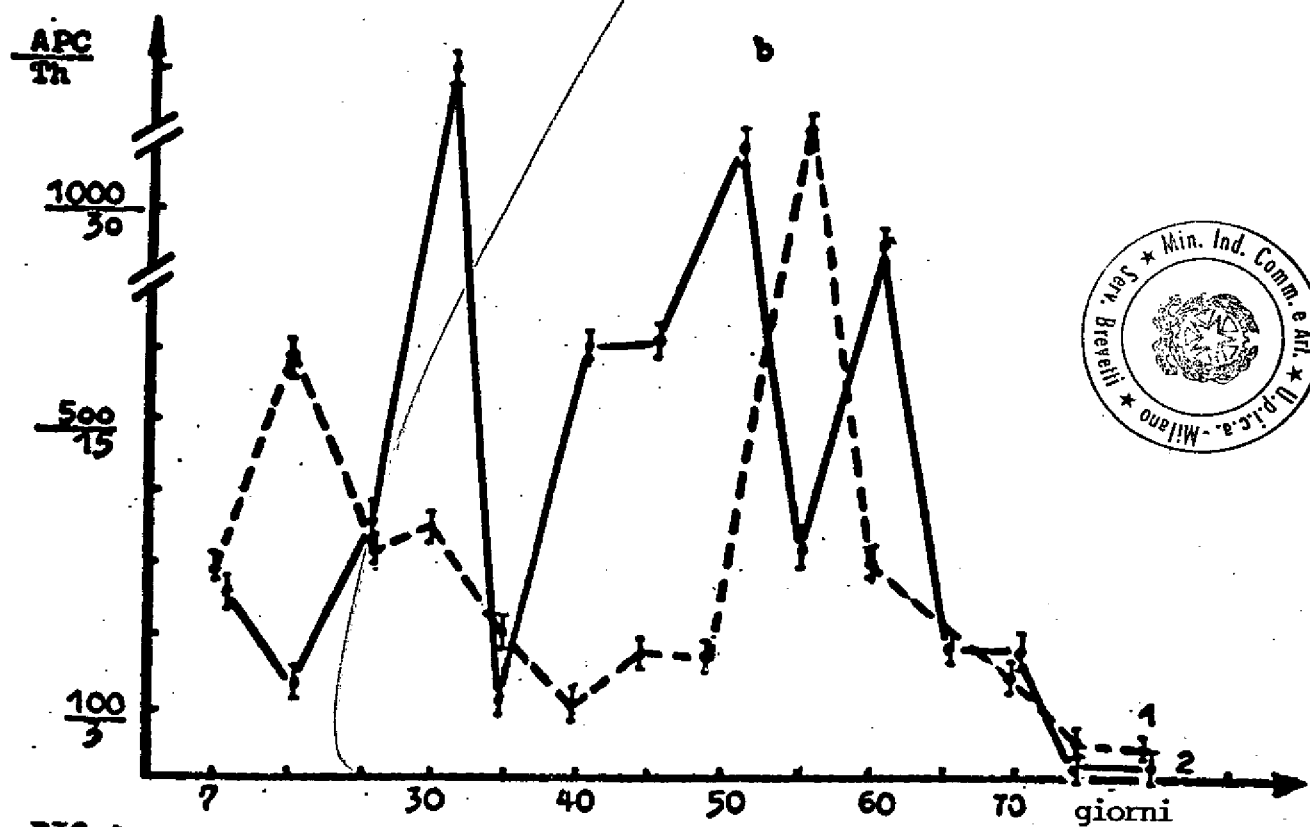
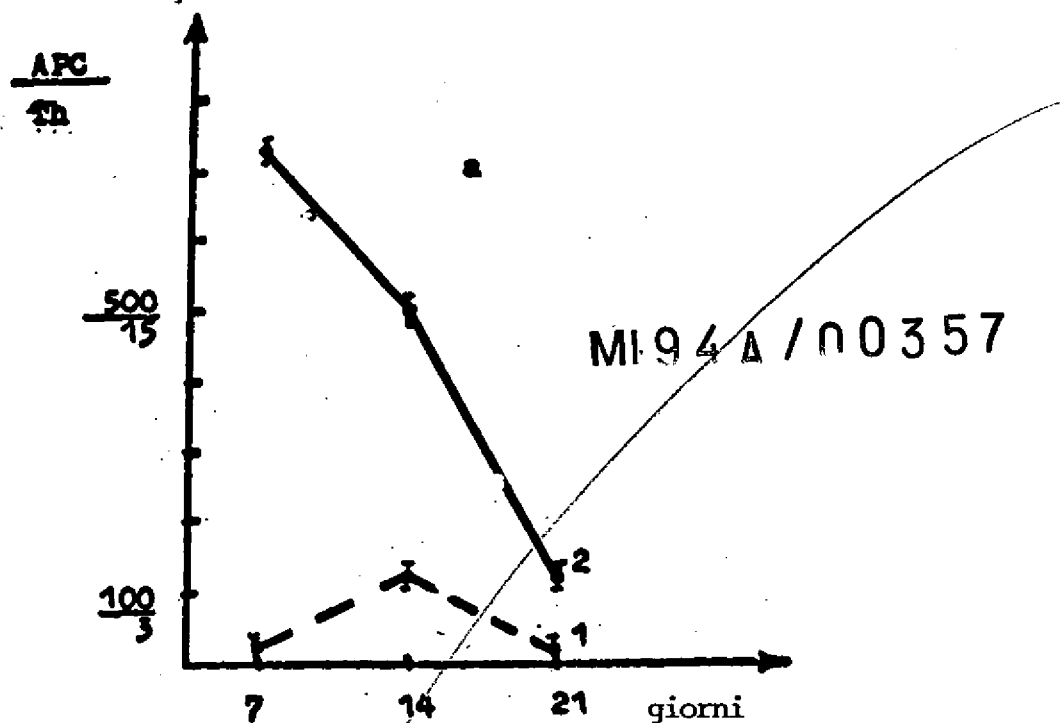


FIG 4.

1. Livello di linfociti T contenuti nei recettori dell'istamina (%)
2. Livello di APC (10^6)
- a) E-24 (dose 1-150 mg/kg)
- b) IM-22 (dose 1-150 mg/kg)

Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
dello Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.

G. Bianchetti



MI 94 A / 00357

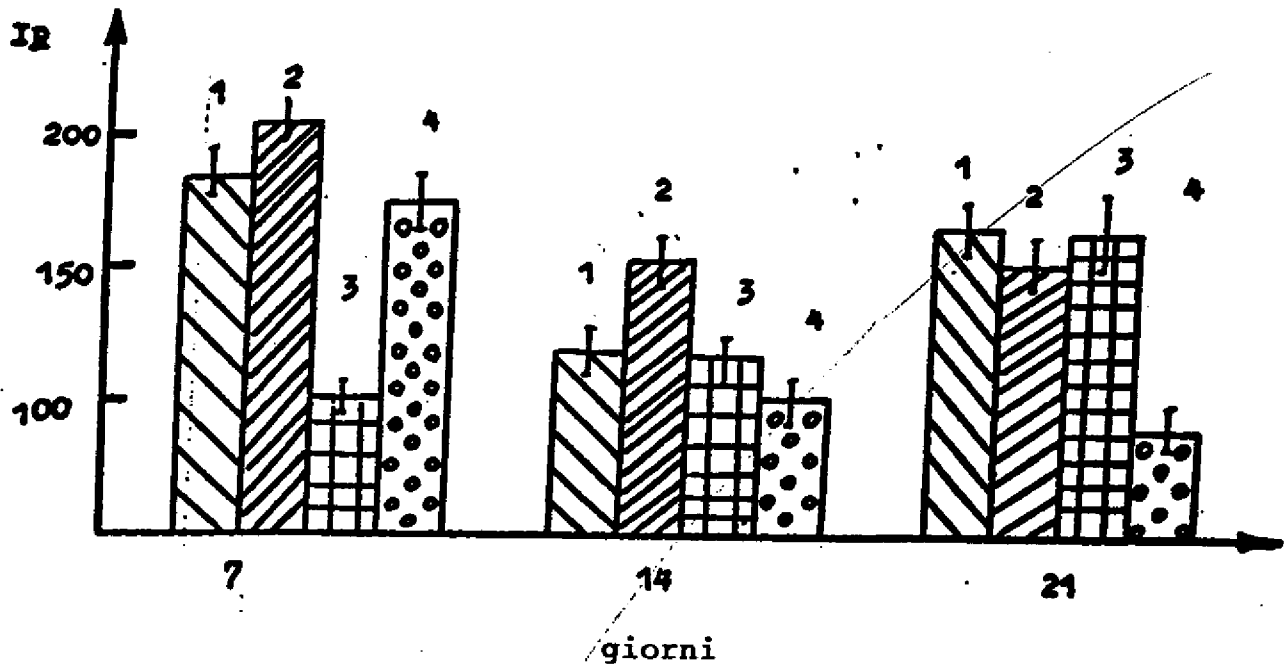
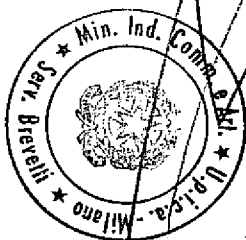


FIG 5.

- 1) Artrite non trattata
- 2) Introduzione di α -tocoferolo acetato (50 mg/kg)
- 3) Introduzione di IM-22 (10 mg/kg)
- 4) Introduzione di D-20 (0,1 mg/kg)



Il Mandatario
(Bianchetti Giuseppe)
dello Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.

G. Bianchetti

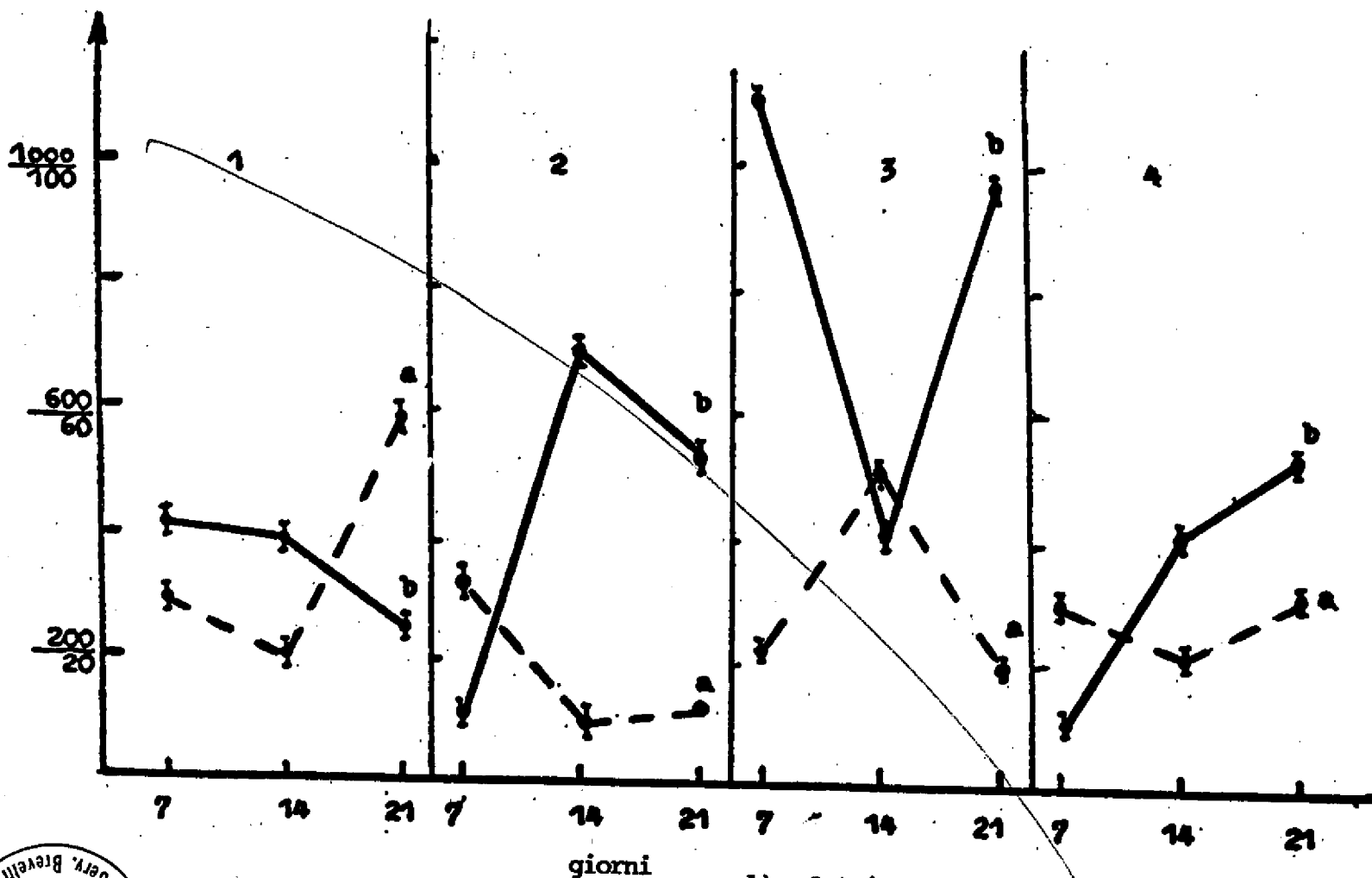


FIG 6.

- 1) Artrite non trattata
- 2) Introduzione di α -tocoferolo acetato (50 mg/kg)
- 3) Introduzione di IM-22 (10 mg/kg)
- 4) Introduzione di D-20 (0,1 mg/kg)
- a) Livello di APC
- b) Livello di RFC



Il Mandatario

(Bianchetti Giuseppe)

dello Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.

G. Bianchetti