



62.733/ZE

K I V O N A T

75128

Szkrínelési eljárás az RZR receptorcsalád alkalmazásával

Ciba-Geigy AG, BÁZEL, Svájc

A bejelentés napja: 1995. március 18.

Elsőbbsége: 1994. március 30. (94810196.9) EP

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP95/01017

A nemzetközi közzététel száma: WO 95/27202

A találmány tárgya RZR/ROR receptorcsalád valamely receptórának vagy annak funkcionális fragmensének alkalmazása olyan tesztekben, amelyekben anti-autoimmun, arthritisellenes, tumorellenes, melatoninszerű és/vagy melatonin-antagonista hatású vegyületeket azonosítanak.

A találmány további tárgya eljárás a vegyületek tesztelésére egy alkalmas gazdaszervezetbeni riporter gén expressziójával, továbbá receptorligandum komplexek előállítására és az azonosított ligandumok alkalmazása a receptorok aktivitásának módosítására, ezáltal gyógyászati célokra.

.. . PIGOLG40

S.B. **KÖZZÉTÉTELI**
Nemzetközi
Szabadalmi Hivatal
PÉLDÁNY
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 34-24-950, Fax: 34-24-323



/96

62.733/ZE

9 11

Szkrínelési eljárás az RZR receptorcsalád alkalmazásával

Ciba-Geigy AG, BÁZEL, Svájc

Feltalálók: WIESENBERG Irmgard, Weil am Rhein, Németország,
MISSBACH Martin, Rheinfelden, Svájc

A bejelentés napja: 1995. március 18.

Elsőbbsége: 1994. március 30. (94810196.9) EP

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/EP95/01017

A nemzetközi közzététel száma: WO 95/27202

A találmány az RZR/ROR receptorcsaládba tartozó receptor vagy annak funkcionális fragmensének olyan vizsgálatokban való felhasználására vonatkozik, amely vizsgálatokban vegyületeket anti-autoimmun, arthritisellenes, tumorellenes, melatoninszerű és/vagy melatonin-antagonista hatás szempontjából tesztelünk. A találmány további tárgya olyan receptor-ligandum komplexek előállítás, amelyek a receptort vagy annak funkcionális fragmensét és a receptor ligandumát tartalmazzák. A találmány tárgya továbbá

eljárás vegyületek tesztelésére az említett agonisták vagy antagonisták kiszűrésére (ligandumok szkrínelésére). Ismertetjük továbbá az eljárással azonosított aktív vegyületeket.

Kis lipofil molekulák mint a retinsav (retinoic acid, RA), 1,25-dihidroxi-D₃ vitamin (VD), pajzsmirigy hormon (T3) és szteroid hormonok számos fejlődési és fiziológiai folyamatot szabályoznak gerincesekben és gerinctelenekben azáltal, hogy olyan specifikus receptorokhoz kötődnek, amelyek közvetlenül funkcionálnak transzkripciós faktorokként. Ezek a ligandumfüggő transzkripciós faktorok a sejtmagi receptor (nuclear receptor) szupercsalád tagjai.

A sejtmagi receptor szupercsaládba olyan szerkezetileg rokon fehérjék is tartoznak, amelyekre nézve még nem azonosítottak ligandumot, ezért ezeket árva receptoroknak (orphan receptors) nevezik [O'Malley et al., Mol. Endocrinol. 6, 1259-1361 (1992)]. Az ilyen árva receptorokra példák a peroxisoma-proliferátor aktiválta receptorok (PPAR-ek) és a csirke ovalbumin upstream promoter (a promoter előtt kapcsolódó) transzkripciós faktor (COUP-TF). A funkciókbeli nagy eltérés ellenére két konzervált "zink-finger" egység - amelyek a DNS-hez való kötődésben játszanak szerepet - jelenik meg e szupercsalád mind tagjában.

Az utóbbi időkben egy új árva receptorcsaládot azonosítottak reverz transzkripciós polimeráz láncreakciós (RT-PCR) stratégiával [Becker-Andre et al., Biochem. Biophys. Res. Com. 194, 1371-1379 (1993); Becker-Andre et al., Keystone Symposium, Feb. 7-13, 1994, Taos, New Mexico, p 376]. Az RZR/ROR-ek monomerekként képesek specifikus válaszelemeikhez (response elements) kötődni, de úgy tűnik, hogy a kötőhelyek bizonyos helyzeteiben kölcsönhatnak

homodimerekként. Az RZR/ROR-ek konstitutív transzaktivációt mutatnak, és különböző megközelítések ellenére nem izoláltak eddig az RZR/ROR receptorcsaládnak megfelelő ligandumot, és ezért feltételezik, hogy az RZR/ROR-ek inkább konstitutív mint ligandum-indukálható transzaktivációt hoznak létre.

Meglepő módon azt találtuk, hogy a melatonin az RZR/ROR receptorcsalád természetes liganduma. Korábban csak az volt ismert, hogy a melatonin egy olyan membránreceptor liganduma, amelyet a közelmúltban klónoztak békabőrből [Ebiswawa et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 21, 6133-6137 (1994)] és emlős szövetekből [Reppert et al., Neuron, 13, 1177-1185 (1994)]. A melatonin a tobozmirigy fő hormona, de a tobozmirigyen kívüli szövetekben is termelődik. Világosabbá teszi a kétéltűek bőrszínét azáltal, hogy visszafordítja az MSH (melanotropin) sötétítő hatását. A melatonin a fotoperiodikus információ transzmittere és az évszakonkénti reprodukzív ciklusok szabályozója a fotoperiodikus állatokban. Azt is kimutatták, hogy a melatonin részt vesz a termoregulációban és a neuroimmunregulációban (Fraschini és Reiter, szerk., Plenum Press, N.Y., London 1991).

A melatoninnak rövid a felezési ideje állatokban és emberben, ezért meglepő a melatoninra nézve, hogy egy sejtmagi receptor liganduma.

Meglepő továbbá, hogy azonosítottak olyan szintetikus kémiai anyagokat, amelyek az RZR/ROR receptorcsalád mesterséges ligandumainak bizonyultak. Ezek a vegyületek ismertek, és anti-autoimmun, arthritisellenes és/vagy tumorellenes hatással rendelkeznek (EP-A-494047, EP-A-508955, EP-A-548017, EP-A-548018 számú európai szabadalmi bejelentések, valamint a CH-511877 számú

svájci és a BE-753532 számú belga szabadalmi bejelentések).

Ezeket a tulajdonságokat be lehet mutatni in vivo kísérletben, például az adjuváns arthritis modellel patkányokban Wiesenberg et al., Clin. Exp. Immunol, 78, 245 (1989) közleménye szerint és a DMBA-tumor modellel patkányokban [Schmidt-Ruppin et al., Experimentia, 29, 823-825 (1973)].

Ismeretes, hogy ezek a vegyületek és gyógyszerészetileg elfogadható sóik értékes farmakológiai tulajdonságokkal rendelkeznek reumaszerű típusba sorolható betegségek kezelésében. Ezek közé a betegségek közé tartozik különösen a rheumatoid arthritis, fiatalkori arthritis, ankylosis spondylitis és más szeronegatív csigolyaizületi gyulladások, a fekélyes vastagbélgyulladás és a Crohn-féle betegség, továbbá a reaktív arthritisek, a kollagén betegségek, úgymint a bőrfarkas (lupus erythematosus) és a scleroderma, a degeneratív reumás betegségek, izületen kívüli reumatikus és parareumatikus betegségek, például a köszvény, az osteoarthritis és az osteoporosis. Az ilyen típusú vegyületeknek továbbá immunmoduláló és tumorellenes hatása van, és ennél fogva általánosan adagolhatóak a tumor terápiában és az autoimmun alapú vagy rokon betegségek, úgymint sclerosis multiplex, Hashimoto thyroiditis, fiatalkori diabetes és a psoriasis esetében.

Nem volt várható vagy megjósolható, hogy ezek a vegyületek a RZR/ROR receptorcsalád ligandumaiként is funkcionálhatnak. A megfigyelt anti-autoimmun, arthritisellenes és/vagy tumorellenes hatás azt jelenti, hogy a ligandumnak a receptorhoz való kötődése megnöveli a receptor affinitását a génekben lévő azon specifikus DNS-régiókkal (az ún. hormonválasz elemekkel) szemben, amelyek részt vesznek a sejtek proliferációjának és/vagy differenciálódá-

sának a szabályozásában. Ezen válaszgenek transzkripciója vagy serkentődik vagy csillapítódik (up or down regulated) a ligandum-receptor komplex kötődése után. Ezen új felismerések alapján lehetővé válik, hogy ezt a receptorcsaládot további olyan vegyületek (ligandumok) szkrínelésére használjuk fel, amelyeknek anti-autoimmun, arthritisellenes, tumorellenes, melatoninszerű és/vagy melatonin-antagonista hatásuk van.

A találmány tehát előnyösen az RZR/ROR receptorcsaládba tartozó receptor vagy annak funkcionális fragmensének olyan tesztekben való alkalmazására vonatkozik, amely tesztekben anti-autoimmun, arthritisellenes, tumorellenes, melatoninszerű és/vagy melatonin-antagonista hatású vegyületeket azonosítunk.

Ezeket a vegyületeket (ligandumokat) általában agonista vagy antagonisták aktivitásuk megállapítására tesztelhetjük az RZR/ROR receptorcsalád tekintetében.

Az RZR/ROR receptorcsalád olyan sejtmagbéli receptorokat foglal magában, amelyek számos doménből állnak, és mindegyik doménnek specifikus funkciója van. A sejtmagi receptorok általában a transzkripció szuppressziója vagy aktiválása útján hatnak azután, hogy a ligandum a receptorhoz kötődik. Az RZR/ROR receptorcsalád tagjai affinitást mutatnak bizonyos fajtájú ligandumok iránt. Az RZR/ROR család egyes tagjai például képződhetnek az adott receptort kódoló közös DNS-ről kódolt termék alternatív splicingjával (darabolódásával).

Ezen receptorok funkcionális fragmensei például olyan szerkezetek, amelyek a ligandum szelektivitás tekintetében azonos tulajdonságokkal rendelkeznek, például olyan szerkezetek, amelyek tartalmazzák az RZR/ROR receptorcsalád valamely receptorának a

ligandumkötő doménjét és a DNS-kötő doménjét, de nem tartalmazznak más domént, vagy amelyekbe más, az RZR/ROR-nek speciális tulajdonságot kölcsönző proteínfragmensek épültek be. Lehetnek ezek között olyan fragmensek is, amelyek a ligandumkötő doménnek más olyan fragmensekkel való kombinációjával vannak felépítve, amelyek lehetővé teszik annak eldöntését, hogy a ligandum kötve van vagy nem, ilyen például egy másik DNS-kötő domén; vagy olyan szerkezetek, amelyekben a ligandumkötő domén egy spacer csoporton keresztül szilárd hordozóhoz van kötve a ligandumok szelektív megkötésére (fishing).

Az RZR/ROR-ek fragmenseit, beleértve a funkcionális ligandumkötő domént, jelezhetjük továbbá egy vagy több olyan csoporttal, amelyek könnyen azonosíthatóak, például fluoreszcens, kemilumineszcens vagy radioaktív csoporttal, vagy kapcsolhatjuk avidinhoz, biotinhoz, riporter enzimhez (jelzőenzimhez) vagy bármely olyan csoporthoz, amely könnyen detektálható spektroszkópiás vagy immunogén módszerekkel, így NMR, IR, UV, MS és ELISA mérésekkel. Az ilyen típusú konstrukciókat felhasználhatjuk vegyületkönyvtárak szkrínelésére, amint azt például a Walter et al., TIBTECH, 11, 247-254 (1993) közlemény ismerteti.

Az RZR/ROR receptorcsalád legelőnyösebb tagjai az RZR/ROR α , RZR/ROR β az RZR/ROR γ [Hirose et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 205, 1976-1983 (1994)]. Az RZR/ROR-eket felhasználhatjuk monomerekként vagy dimerekként, ez utóbbiakba beleértendő a homodimerek és a heterodimerek. Ugyancsak alkalmazhatók lehetnek a splicing variánsok, mint az ROR α 1 (Giguere et al., Genes and Development 8, 538-553 (1994) és hasonlóok.

Az eddig felismert és az előbbiekben említett szintetikus ligandumok értékes farmakológiai tulajdonságokkal rendelkeznek az autoimmun, reumatoid és/vagy tumor típusú betegségek kezelésében.

A találmány további tárgya eljárás vegyületek anti-autoimmun, arthritissellenes, tumorellenes, melatoninszerű és/vagy melatonin-antagonista aktivitásának tesztelésére, azzal jellemezve, hogy

a) transzfektálunk egy alkalmas gazdaszervezetet olyan expressziós kazettával, amely az RZR/ROR receptorcsalád valamely receptorát vagy annak funkcionális fragmensét kódolja;

b) az említett receptornak megfelelő egy vagy több válasz-elemet (response element) és egy riporter gént (reporter gene) egyesítünk és a gazdaszervezetet ezzel a szerkezettel kotranszfektáljuk;

c) hozzáadjuk a tesztelni kívánt vegyületet;

d) mérjük a riporter gén expresszióját.

Az RZR/ROR receptorcsalád receptorait vagy azok funkcionális fragmenseit az előbbiekben definiáltuk.

A gazdaszervezet előnyösen endogén RZR/ROR-tól mentes, vagy genetikailag módosítva van, hogy RZR/ROR-tól mentes legyen mielőtt transzfektáljuk az RZR/ROR receptorcsalád egy receptorát vagy annak egy funkcionális fragmensét kódoló expressziós kazettával. Előnyös gazdaszervezet például egy baktériumsejt, gomba-, mint például élesztősejt, rovar- vagy emlőssejt. Különösen előnyösek az *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* és a *Drosophila* sejtek.

Az RZR/ROR receptorcsalád valamely receptora vagy annak funkcionális fragmensének az expressziós kazettái általában tartalmaznak egy promotert, amely operábilisan vagy kapcsolva egy

olyan DNS szekvenciához, amely az RZR/ROR receptorcsalád egy receptorát vagy annak funkcionális fragmensét kódolja és egy olyan DNS szekvenciához, amely transzkripció terminációs szig-nálokat tartalmaz.

Alkalmas promoter és terminátor szekvenciákat előnyösen úgy választunk, hogy aktívak legyenek az említett gazdaszervezetben; ezek a szakember számára ismertek. Ezeket egyesíthetjük a struk-túrgénnel és adott esetben egy marker csoporttal és más kedvező elemekkel, standard géntechnológiai eljárások alkalmazásával.

Nem korlátozó jellegű példák az előbbiekre a TRP1 gén promotere, az ADHI vagy ADHII gén, savas foszfatáz (PH 05) gén, CUP1 gén, izocitokróm c gén promoterei vagy glikolitikus enzi-meket kódoló gének promoterei úgymint TDH3, gliceraldehid-3--foszfát dehidrogenáz (GAPDH), a GAPDH rövidített változata (GAPFL), 3-foszfoglicerát kináz (PGK), hexokináz, piruvát de-karboxiláz, foszfofruktokináz, glükóz-6-foszfát izomeráz, 3--foszfoglicerát mutáz, piruvát kináz, triózfoszfát izomeráz, foszfo-glükóz izomeráz, invertáz és glükokináz gének promoterei vagy az élesztő egy ivari feromonját (a- vagy α -faktort) kódoló gének promotere.

Az expressziós kazetta beépítésére szolgáló transzfekciós eljárások, például plazmid útján vagy a genomba való integrálás útján, általánosan ismertek és könnyen adaptálhatók arra a ka-zettára, amely az RZR/ROR receptorcsalád valamely receptorát vagy annak funkcionális fragmensét tartalmazza.

A válaszelemek ismertek, és rendszerint a tesztben alkalma-zott RZR/ROR DNS-kötő doménjének specificitásával összhangban választjuk meg azokat. Az RZR/ROR receptorcsalád számára alkalmas

válaszelemek tartalmazzák például a központi DNS-mag felét (core half site), amelynek szekvenciája T(A/G)GGTCA.

Például a RZR/ROR α számáa előnyös válaszelem az NANNT(A/G)GGTCA.

A válaszelem(ek)et rendszerint egy olyan rövid fragmens útján inszertáljuk, amelynek alkalmas restrikciós helyei vannak, vagyis például DNS-szintetizátorral szintetizáljuk úgy, hogy megfelelő végekkel legyen(ek) ellátva arra, hogy szokásos módon integrálhassuk a riporter génbe vagy annak közelébe. Így például a riporter gént alkalmas restrikciós enzimekkel hasítjuk, és inszertáljuk a válaszelemet. A "riporter génbe vagy annak közelébe" kifejezés olyan helyet jelent, amely képes arra, hogy befolyásolja a riporter gén transzkripcióját a receptorhoz való kötődéskor. Az RZR/ROR-ek transzkripciós aktivációs tulajdonságai folytán a válaszelemet előnyösen a riporter gén transz vagy cisz transzkripciós aktivációs helyein inszertáljuk, hogy szabályozza a transzkripciót ha egy alkalmas ligandum kötődött a ligandumkötő doménra.

A riporter gének expresszióját mérhetjük például transzkripciós vagy transzlációs szinten, így mérhetünk termelt fehérje mennyiséget, enzimaktivitást vagy sejtnövekedést. Az alkalmas riporter gének jól ismertek. Ezekre példa a kloramfenikol acetiltranszferáz (CAT), β -D-galaktozidáz (lacZ) vagy a bakteriális hibrid luciferáz (luxAB).

Egy más megközelítés a vegyületek szkrínelésére ligandum aktivitás tekintetében az, hogy létrehozunk egy könyvtárat, amely nagy mennyiségű különböző vegyületből áll (vegyületkönyvtár). A receptorokat, például az RZR/ROR-eket vagy azok fragmenseit,

amelyek könnyen detektálható csoportot tartalmaznak (lásd előbb), inkubáljuk ezzel a könyvtárral, és azonosítjuk azokat a vegyületeket, amelyek kötődtek a receptorokhoz. A vegyületkönyvtárak építését széles körben ismerteti a szakirodalom, így például Jung et al., *Angewandte Chemie*, 104, 375-391 (1992) és az "egy gyöngy-egy szekvencia" könyvtárakat Kerr et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 2529-2531 (1993).

A találmány további tárgya eljárás receptor-ligandum komplex előállítására, azzal jellemezve, hogy az RZR/ROR receptorcsalád valamely receptorát vagy annak funkcionális fragmensét inkubáljuk egy olyan vegyülettel, amelynek anti-autoimmun, arthritissel, tumorelles, melatoninszerű és/vagy melatonin-antagonista aktivitása van.

Az RZR/ROR receptorcsalád receptorait vagy azok funkcionális fragmenseit a fentiekben leírtak szerint állítjuk elő, például expresszióval egy alkalmas gazdaszervezetben vagy a természetes környezetből való izolálással [Becker-André et al., *Biochem., Biophys. Res. Com.* 194, 1371-1379 (1993)].

Az inkubációs eljárás attól az eljárástól függ, amellyel a receptort nyerjük. Ha például alkalmas gazdaszervezetben történő expresszióval állítjuk elő a receptort, amint azt a fentiekben leírtuk, a tesztvegyületet közvetlenül hozzáadhatjuk a sejtszuszpenzióhoz, vagy ha a vegyületek nem képesek áthatolni a sejtmembránon, alkalmas vivőanyagokat (carrier) kell adagolnunk vagy sejtmentes rendszert kell alkalmaznunk.

Abban az esetben, ha vegyületkönyvtárakat tesztelünk, a receptort rendszerint ennek a könyvtárnak az oldatához vagy szuszpenziójához adjuk hozzá. Ha a receptort rögzítjük egy

oldhatatlan hordozóanyaghoz mint egy gyöngyhez (bead), kis rúdhoz, fóliához vagy cellulózpapírhoz, szintén hozzáadhatjuk a vegyületkönyvtárat a receptorhoz, például úgy, hogy a könyvtárat egy oszlopra adagoljuk, amely a rögzített receptort tartalmazza.

A receptorokon megkötődő vegyületek (ligandumok) azonosítása attól függ, hogyan nyertük a vegyületeket és/vagy a receptorokat. Azon receptorok esetén, amelyek sejtben fejeződnek ki, és amelyek egy riporter gén szabályozó szekvenciájához kötődnek, a vegyületet azonosíthatjuk a riporter gén transzkripció vagy transzláció terméke révén; vagy vegyületkönyvtárak szkrínelése esetén, például "egy göngy-egy szekvencia" könyvtár esetén a gyöngyöket, amelyeknek kötött receptoraik vannak, izolálhatjuk, és a gyöngyökhöz kötődött ligandumot azonosíthatjuk.

A találmány további tárgyát képezi az új ligandumok alkalmazása - amelyeket a fentiek szerint azonosítottunk, hogy az RZR/ROR receptorcsalád valamely receptorához vagy annak funkcionális fragmenséhez kötődnek - kezelési eljárásokban, különösen autoimmun betegségek, arthritises betegségek, tumorok kezelési eljárásában vagy olyan betegségek kezelési eljárásában, ahol rendszerint melatonint vagy melatonin agonistát vagy antagonistát alkalmaznak, és előnyösebben autoimmun betegségek, arthritises betegségek és/vagy tumorok kezelési eljárásában.

Minthogy mindeddig nincsenek melatonin-antagonista tulajdonságú ligandumok az RZR/ROR receptoron, farmakológiai profiljuk, és lehetséges terápiás értékük jelenleg nem ismeretes.

Az RZR/ROR receptorok alkalmas ligandumai például a melatonin vagy a melatonin származékok, amint azt például az EP-585206 számú európai szabadalmi leírás ismerteti.

További vegyületek, amelyek az RZR/ROR receptorcsaládhoz kötődnek, például az (1)-(17) általános képletű vegyületek, ahol az (1) és (2) általános képletekben

R_1 és R_5 jelentése 3-5 szénatomos alkilcsoport, 3-5 szénatomos alk-2-én-1-il-csoport vagy 3-5 szénatomos alk-2-in-1-il-csoport; és különösen allilcsoport, metallilcsoport és propinilcsoport;

R_2 és R_6 jelentése hidrogénatom, 1-5 szénatomos alkilcsoport, 3-5 szénatomos alk-2-én-1-il-csoport, 3-5 szénatomos alk-2-in-1-il-csoport, arilcsoport, aril-(rövidszénláncú alkil)-csoport, telített vagy telítetlen heterociklil-(rövidszénláncú alkil)-csoport vagy rövidszénláncú alkoxi-karbonil)-(rövidszénláncú alkil)-csoport;

R_3 és R_4 jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy rövidszénláncú alkilcsoport vagy R_3 és R_4 együttevve rövidszénláncú alkilidéncsoport képez;

X jelentése oxocsoport vagy szulfocsoport; vagy a (3) általános képletű vegyületek, ahol

R_{34} és R_{35} jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, metoxi-csoport vagy fluoratom;

R_{36} jelentése hidrogénatom vagy metoxi-karbonil-csoport;

R_{37} jelentése oxocsoport vagy szulfocsoport;

R_{38} jelentése hidrogénatom, 1-6 szénatomos alkilcsoport, ciklopropilcsoport, ciklobutilcsoport, ciklopentilcsoport, ciklohexilcsoport, brómatommal, klóratommal, fluoratommal vagy jódatommal szubsztituált 1-6 szénatomos alkilcsoport, fenilcsoport, szubsztituálatlan vagy halogénatommal szubsztituált (1-3 szénatomos alkil)-fenil-csoport, indolilcsoport,

morfolinocsoport, metil-morfolino-csoport, aminocsoport, 1-4 szénatomos alkilcsoporttal szubsztituált aminocsoport vagy 1-(2',3',4'-trimetoxi-benzil)-piperazin-metil-csoport, 2-pirrolidinoncssoport;

R₃₉ jelentése hidrogénatom, metilcsoport vagy fluoratom;

R₄₀ jelentése szénatom vagy nitrogénatom;

R₄₁ jelentése szénatom vagy nitrogénatom vagy karbonilcsoport;

R₄₂ jelentése szénatom, nitrogénatom vagy kénatom vagy vinilén-csoport;

az R₄₀ és R₄₁ szubsztituensek közötti kötés egyesítés vagy kettőskötés lehet azzal a megkötéssel, hogy egyesítés akkor, ha R₄₁ jelentése karbonilcsoport vagy R₄₀ jelentése nitrogénatom.

A találmány tárgykörébe tartoznak továbbá azok a pro-drogok, amelyek in vivo metabolizmusa folyamán az előbbieken megadott vegyületek keletkeznek.

E vegyületek előállítási eljárását, továbbá e vegyületek anti-autoimmun, arthritis ellenes és/vagy tumorellenes hatásának példáit ismertetik például a következő közelmények: az EP-447285, EP-A-494047, EP-506539, EP-A-508955, EP-527687, EP-530087, EP-A-548017, EP-A-548018, EP-562956, EP-578620, EP-A-585206, EP-591057 számú európai szabadalmi leírások, illetve bejelentések, az 5283343 és 5206377 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírások, továbbá Depreux et al., J. Med. Chem., 37, 3231-3239 (1994), Garrat és Vonhoff, Bioorganic & Medicinal Lett., 4, 1559-1565 (1994) és Copinga et al., J. Med. Chem., 36, 2819-2898 (1993).

A találmány tárgykörén belül továbbá alkalmas vegyületek például:

a (4) általános képletű vegyületek, ahol

R_8 jelentése hidrogénatom; R_9 jelentése brómatom; és R_7 jelentése metilcsoport; vagy

R_8 jelentése hidrogénatom; R_9 jelentése jódatom; és R_7 jelentése metilcsoport; vagy

R_8 jelentése klóratom; R_9 jelentése hidrogénatom; és R_7 jelentése metilcsoport; vagy

R_8 jelentése hidrogénatom, R_9 jelentése metilcsoport; és R_7 jelentése klór-propil-csoport; vagy

az (5) általános képletű vegyületek, ahol

R_{10} jelentése CH csoport; és R_{11} jelentése szulfo- vagy oxocsoport; vagy

R_{10} jelentése oxocsoport vagy NH csoport; és R_{11} jelentése NH csoport; vagy

a (6) általános képletű vegyületek, ahol

R_{12} jelentése oxo- vagy szulfocsoport; és R_{13} jelentése $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ képletű csoport; vagy

R_{12} jelentése oxocsoport és R_{13} jelentése metilcsoport; vagy

a (7) általános képletű vegyületek, ahol

R_{14} jelentése oxo- vagy szulfocsoport; vagy

a (8) általános képletű vegyületek, ahol

R_{15} jelentése oxo- vagy szulfocsoport;

a (9) általános képletű vegyületek, ahol

R_{16} jelentése metilcsoport, etilcsoport vagy klór-metil-csoport; vagy

a (10) általános képletű vegyületek, ahol

R_{17} jelentése metilcsoport, etilcsoport vagy klór-metil-csoport; vagy

vagy

a (11) általános képletű vegyületek, ahol

R₂₀ jelentése NH csoport, CH=CH csoport, oxo- vagy szulfocsoport;

R₁₈ jelentése oxo- vagy szulfocsoport;

R₁₉ jelentése hidrogénatom, metilcsoport, etilcsoport vagy propilcsoport; vagy

a (12) általános képletű vegyületek, ahol

R₂₁ jelentése metoxics csoport vagy hidrogénatom;

R₂₂ jelentése NH csoport, CH=CH csoport, szulfocsoport vagy oxocsoport; és

R₂₃ jelentése metilcsoport, ciklopropilcsoport vagy ciklobutilcsoport; vagy

a (13) általános képletű vegyületek, ahol

R₂₄ jelentése hidrogénatom vagy metoxics csoport;

R₂₅ jelentése metilcsoport, etilcsoport, propilcsoport, CF₃ csoport, CH₂Br csoport, CHBrCH₂CH₃ csoport, ciklopropilcsoport vagy ciklobutilcsoport; vagy

a (14) általános képletű, ahol

R₂₇ jelentése metoxics csoport;

R₂₈ jelentése hidrogénatom vagy COOCH₃ csoport;

R₂₉ jelentése hidrogénatom, metilcsoport vagy fluoratom; és

R₃₀ jelentése hidrogénatom, metilcsoport, etilcsoport, butilcsoport, propilcsoport, pentilcsoport, hexilcsoport, izopropilcsoport, CH=CHCH₃ csoport, ciklohexilcsoport, CH₂Br csoport, CH₂I csoport, CF₃ csoport, C₃H₆Cl csoport, fenilcsoport, 3,5-diklór-fenil-csoport, 2-indolilcsoport, toluolcsoport, CH(C₅H₅)₂ csoport, (CH₂)₂C₆H₅ csoport, (CH₂)₃C₆H₅ csoport, metil-morfolino-csoport, 1-(2',3',4'-trimetoxi-

SO₂CH₃ csoport; vagy

a (15) általános képletű vegyületek, ahol

R₃₁ jelentése NH csoport, oxo- vagy szulfocsoport,

R₃₂ jelentése hidrogénatom vagy fluoratom; és

R₃₃ jelentése propilcsoport, butilcsoport, CH₂I csoport, CF₃ csoport vagy metilcsoport; vagy

a (16) általános képletű vegyületek, ahol

R₇ jelentése hidrogénatom vagy 1-3 szénatomos alkilcsoport;

R₈ jelentése 1-6 szénatomos alkilcsoport, arilcsoport, hidroxil-aril-csoport vagy halogénatom; és

R₉ jelentése 1-5 szénatomos alkilcsoport vagy halogénatom; továbbá

a (17) általános képletű vegyületek, ahol

R₁₀ jelentése hidrogénatom vagy metoxics csoport; és

R₁₁ jelentése 1-3 szénatomos alkilcsoport, arilcsoport, aril-alkil-csoport vagy halogénatommal szubsztituált 1-3 szénatomos alkilcsoport.

Különösen megemlítendő a (18)-(34) képletű vegyületek.

A találmány további tárgyát képezi melatonin antagonistá vagy agonista vegyületek; így előnyösen az (1), (2), (3) általános képletű vegyületek; előnyösen a (4)-(17) általános képletű vegyületek; és legelőnyösebben a (4)-(10) általános képletű, valamint a (18)-(34) képletű vegyületek alkalmazása az RZR/ROR receptorcsalád aktivitásának módosítására, és e vegyületek közül egy vagy több alkalmazása az RZR/ROR receptorcsalád antagonistájaként vagy agonistájaként.

1. Példa: Az expressziós rendszer összeállítása

A ligandum indukálta aktiváció tesztjét lényegében a Carlberg et al., Nature, 361, 657-660 (1993) közlemény szerint végezzük.

Az RZR/ROR válaszelemeit Xbal túlnyúlásokat (ragadós vég) tartalmazó kétfonalas oligonukleotidokként klónozzuk egy CAT riporter plazmidba (pBLCAT2) [Luckow et al., Nucleic Acids Res., 15, 5490 (1987)], amelynek tk promotere előtt Xbal hely van. Ezt az inszertet automatikus DNS-szintetizátorral szintetizáljuk, és a felső szál válaszelemének a szekvenciájára a SEQ ID NO: 1 szekvenciáját adjuk meg:

GTAGGTCATGACCTAC SEQ ID NO: 1

Drosophila SL-3 sejteket [2×10^6 60 mm-es Petri-csészékként; J. Embryol. Expl. Morphol., 27, 353-365 (1972)] tenyésztünk egy éjjelen át Schneider-féle médiumban (Gibco), melyet 15% aktív-szénnel kezelt fetális borjúsérummal egészítettünk ki. Transzfekció céljából liposzómákat hozunk létre úgy, hogy 5 μ g riporter plazmidot (válaszelem inszerttel), 3 μ g referencia plazmidot (pRSV β -gal) és 1 μ g RZR/ROR α expressziós vektort [Carlberg et al., Nature, 361, 657-660 (1993)] 11 μ g N-[1-(2,3-dioleil-oxi)-propil]-N,N,N-trimetil-ammónium-metil-szulfáttal (Boehringer-Mannheim) inkubálunk 15 percen át szobahőmérsékleten 100 μ l ösztérfogatban. Miután 0,9 ml Schneider-féle médiummal felhígítottuk, a liposzómákat hozzáadjuk a sejtekhez.

2. példa: A szelektivitás tesztelése

A vizsgálandó vegyületeket (etanolban oldva, teszt koncentráció 1 μ M, lásd 1. táblázat), amelyekről ismert, hogy aktívak

juk a sejtekhez 8 órával azután, hogy RZR α -val transzfektáltunk. 40 óra múlva összegyűjtjük a sejteket, és meghatározzuk a CAT aktivitást [CAT meghatározás, standard géntechnológiai eljárás, lásd például Gorman et al., *Molec. Cel. Biol*, 2, 1044-1051 (1982)]. Az 1. táblázatban megadott értékek a CAT aktivitások átlagos aktivációját mutatják be három független kísérlet mérései alapján, összehasonlítva a tiszta oldószer (etanol) hozzáadásával kapott eredményekkel. A találmány szerinti vegyületek specifikus hatásának bemutatására a kísérleteket elvégeztük párhuzamosan a D₃ vitamin receptorral (VDR) és a retinsav receptorokkal (RAR és RXR), úgy, hogy válaszelemként a SEQ ID NO: 2 és 3 szekvenciákat [Carlberg et al., *Nature*, 361, 657-660 (1993)] alkalmaztuk.

AGAGGTCAAGGAGGTCACT SEQ ID NO: 2

AGGGTTCACCGAAAGTTCA SEQ ID NO: 3

1. táblázat: A szelektivitás vizsgálatának eredményei

Vegyület	A CAT expresszió fold stimulációja				aktiválás adjuváns arthritisben	válaszelem
	RZR α	VDR	RAR	RXR		
(3)	3,25	1,2	1,1	1,0	+	SEQ 1
(4)	4,5	1,2	1,2	1,0	+	SEQ 1
(5)	5,2	1,0	1,0	0,9	+	SEQ 1
(6)	5,0	1,2	0,9	1,0	+	SEQ 1
melatonin	4,8	1,1	1,1	1,2	?	SEQ 1
D vitamin	0,9	10,3	1,0	1,0	-	SEQ 2
tiszta						
transz RA	1,2	1,0	10,4	1,5	-	SEQ 3
9-cisz RA	1,1	2,1	1,4	5,3	-	SEQ 3

A táblázat világosan mutatja, hogy az RZR/ROR α válasza specifikus a vegyületek egy bizonyos osztályára nézve.

3. példa: A dózis válasz vizsgálata

A vizsgálandó vegyületek különböző mennyiségeit adjuk az olyan tesztrendszerekhez, amelyek a (3), (4), (6) vegyületeket vagy melatonint tartalmaznak a 2. táblázat szerint, továbbá RZR/ROR α -t és SEQ ID NO: 1-et, amint azt a 2. példában ismertettük (lásd 2. táblázat).

2. táblázat: A dózis válasz tesztelése

Koncentráció [nM]	Fold stimuláció, ha a vegyület			
	(3)	(4)	(6)	melatonin
1000	4,2	4,1	5,1	4,8
333	4,4	4,0	5,2	5,0
100	4,3	4,2	5,0	5,0
33	4,15	4,1	4,3	5,0
10	2,9	4,2	2,3	3,0
3,3	1,8	4,0	1,4	2,1
1	1,3	2,5	1,1	1,0
0,33	1,1	1,7	1,0	1,0
0,1	0,9	1,3	1,1	1,0
0	1,0	1,0	1,0	1,0

Ez a példa bemutatja a 3, 4, 6 vegyületek és a melatonin nagy affinitását az RZR/ROR α receptorral szemben, ha nanomolos koncentrációtartományban alkalmazzuk azokat.

Az adott tesztvegyületek specificitása (1. táblázat) és affinitása (2. táblázat) összehasonlítható volt, ha akár az RZR/ROR α -t akár az RZR β -t alkalmaztuk.

4. példa: A felismerő helyek tesztelése

A tesztet a 2. példában leírt módon megismételjük a (3) vegyületet alkalmazva RZR/ROR-en és az alábbi válaszelemeket

AGAGGTCAAAAAGGTCA	SEQ ID NO: 4
TGACCTACTTATAAGTAGGTCA	SEQ ID NO: 5
GTAGGTCACTATAAGTAGGTCA	SEQ ID NO: 6
TCAGGTCATGACCTGA	SEQ ID NO: 7
GTAGGTCATAAGTAGGTCA	SEQ ID NO: 8

A CAT aktivitás növekedését (lásd 1. példa) az oldószerhez viszonyítva a 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat: A CAT aktivitás az oldószerhez viszonyítva

SEQ ID NO	Fold stimuláció az oldószerhez viszonyítva
4	6,8
5	1,75
6	5,8
7	6,2
8	1,8

A példa azt mutatja be, hogy a válasz specifikus a válasz-
elemben lévő bizonyos szekvenciára.

Szekvencia jegyzék

(1) Általános információk:

(i) Bejelentő:

- (A) Név: Ciba-Geigy AG
- (B) Utca: Klybeckstr. 141
- (C) Város: Basel
- (E) Ország: Svájc
- (F) Irányítószám: 4002
- (G) Telefon: +41 61 69 11 11
- (H) Telefax: +41 61 696 79 76
- (I) Telex: 962 991

(ii) A találmány címe: Szkrinelési eljárás az RZR receptor-család alkalmazásával

(iii) Szekvenciák száma: 8

(iv) Számítógépi olvasható forma:

- (A) Közepes típus: Floppy disk
- (B) Számítógép: IBM PC kompatibilis
- (C) Operációs rendszer: PC-DOS/MS-DOS
- (D) Szoftver: PatentIn Release #1.0, Version #1.25 (EPO)

(2) Információk a SEQ ID NO: 1 számú szekvenciáról

(i) Szekvencia jellemzők:

- (A) Hossz: 16 bázispár
- (B) Típus: nukleinsav
- (C) Szál: egyes
- (D) Topológia: lineáris

(ii) Molekulatípus: DNS (genomikus)

(ix) Jellemzők:

- (A) Név/kulcs: fehérje kötés
- (B) Hely: 1..16
- (D) Egyéb információ: /kötött molekularész = "RZR/ROR"
/standard név = "POTT"

(xi) Szekvencia leírás: SEQ ID NO: 1

GTAGGTCATG ACCTAC 16

(2) Információk a SEQ ID NO: 2 számú szekvenciáról

(i) Szekvencia jellemzők:

- (A) Hossz: 19 bázispár
- (B) Típus: nukleinsav
- (C) Szál: egyes
- (D) Topológia: lineáris

(ii) Molekulatípus: DNS (genomikus)

(ix) Jellemzők:

- (A) Név/kulcs: fehérje kötés
- (B) Hely: 1..19
- (D) Egyéb információ: /kötött molekularész = "VDR"

(xi) Szekvencia leírás: SEQ ID NO: 2

AGAGGTCAA GGAGGTCACT 19

(2) Információk a SEQ ID NO: 3 számú szekvenciáról

(i) Szekvencia jellemzők:

- (A) Hossz: 19 bázispár
- (B) Típus: nukleinsav
- (C) Szál: egyes
- (D) Topológia: lineáris

(ii) Molekulatípus: DNS (genomikus)

(ix) Jellemzők:

(A) Név/kulcs: fehérje kötés

(B) Hely: 1..19

(D) Egyéb információ: /kötött molekularész = "RXR és RAR"

(xi) Szekvencia leírás: SEQ ID NO: 3

AGGGTTCACC GAAAGTTCA

19

(2) Információk a SEQ ID NO: 4 számú szekvenciáról

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 16 bázispár

(B) Típus: nukleinsav

(C) Szál: egyes

(D) Topológia: lineáris

(ii) Molekulatípus: DNS (genomikus)

(ix) Jellemzők:

(A) Név/kulcs: fehérje kötés

(B) Hely: 1..16

(D) Egyéb információ: /standard név = "CRUBPI"

(xi) Szekvencia leírás: SEQ ID NO: 4

AGAGGTCAAA AGGTCA

16

(2) Információk a SEQ ID NO: 5 számú szekvenciáról

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 22 bázispár

(B) Típus: nukleinsav

(C) Szál: egyes

(D) Topológia: lineáris

(ii) Molekulatípus: DNS (genomikus)

(ix) Jellemzők:

- (A) Név/kulcs: fehérje kötés
- (B) Hely: 1..22
- (D) Egyéb információ: /standard név = "IP10"

(xi) Szekvencia leírás: SEQ ID NO: 5

TGACCTACTT ATAAGTAGGT CA 22

(2) Információk a SEQ ID NO: 6 számú szekvenciáról

(i) Szekvencia jellemzők:

- (A) Hossz: 22 bázispár
- (B) Típus: nukleinsav
- (C) Szál: egyes
- (D) Topológia: lineáris

(ii) Molekulatípus: DNS (genomikus)

(ix) Jellemzők:

- (A) Név/kulcs: fehérje kötés
- (B) Hely: 1..22
- (D) Egyéb információ: /standard név = "DR8"

(xi) Szekvencia leírás: SEQ ID NO: 6

GTAGGTCACT ATAAGTAGGT CA 22

(2) Információk a SEQ ID NO: 7 számú szekvenciáról

(i) Szekvencia jellemzők:

- (A) Hossz: 16 bázispár
- (B) Típus: nukleinsav
- (C) Szál: egyes
- (D) Topológia: lineáris

(ii) Molekulatípus: DNS (genomikus)

(ix) Jellemzők:

(A) Név/kulcs: fehérje kötés

(B) Hely: 1..16

(D) Egyéb információ: /standard név = "TREpalPO"

(xi) Szekvencia leírás: SEQ ID NO: 7

TCAGGTCATG ACCTGA

16

(2) Információk a SEQ ID NO: 8 számú szekvenciáról

(i) Szekvencia jellemzők:

(A) Hossz: 19 bázispár

(B) Típus: nukleinsav

(C) Szál: egyes

(D) Topológia: lineáris

(ii) Molekultatípus: DNS (genomikus)

(ix) Jellemzők:

(A) Név/kulcs: fehérje kötés

(B) Hely: 1..19

(D) Egyéb információ: /standard név = "DR5GT"

(xi) Szekvencia leírás: SEQ ID NO: 8

GTAGGTCATA AGTAGGTCA

19

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Az RZR/ROR receptorcsalád valamely receptorának vagy annak funkcionális fragmensének alkalmazása olyan tesztekben, amelyekben anti-autoimmun, arthritisellenes, tumorellenes, melatoninszerű és/vagy melatonin-antagonista hatású vegyületeket azonosítunk.

2. Az 1. igénypont szerinti receptor alkalmazása, ahol a receptor RZR/ROR α , RZR/ROR β vagy RZR/ROR γ .

3. Az 1. igénypont szerinti receptor alkalmazása, ahol a receptor RZR/ROR α .

4. Az 1. igénypont szerinti receptor alkalmazása, ahol a receptor monomer vagy dimer.

5. Az 1. igénypont szerinti receptor fragmensének alkalmazása, ahol a funkcionális fragmens a funkcionális ligandumkötő domént tartalmazza.

6. Az 5. igénypont szerinti receptor olyan fragmensének alkalmazása, amely egy vagy több könnyen azonosítható csoporttal van jelezve.

7. Eljárás vegyületek anti-autoimmun, arthritisellenes, tumorellenes, melatoninszerű és/vagy melatonin-antagonista aktivitásának tesztelésére, azzal jellemezve, hogy

a) transzfektálunk egy alkalmas gazdaszervezetet olyan expressziós kazettával, amely az 1. igénypont szerinti valamely receptort kódolja;

b) az említett receptornak megfelelő egy vagy több válasz-elemet (response element) és egy riporter gént (reporter gene)

egyesítünk és a gazdaszervezetet ezzel a szerkezettel kotranszfektáljuk;

c) hozzáadjuk a tesztelni kívánt vegyületet;

d) mérjük a riporter gén expresszióját.

8. A 7. igénypont szerinti eljárás, ahol az RZR/ROR receptor RZR/ROR α , RZR/ROR β vagy RZR/ROR γ .

9. A 7. igénypont szerinti eljárás, ahol az RZR/ROR receptor RZR/ROR α .

10. A 7. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy nemtranszfektált gazdaszervezetként endogén RZR/ROR-tól mentes gazdaszervezetet alkalmazunk.

11. A 7. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy gazdaszervezetként baktérium-, gomba-, rovar- vagy emlőssejtet használunk.

12. A 7. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy gazdaszervezetként élesztősejtet vagy Drosophila sejtet használunk.

13. A 7. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az RZR/ROR receptorra specifikus válaszelemet használunk.

14. A 7. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy olyan válaszelemet alkalmazunk, amely a T(A/G)GGTCA DNS-szekvenciát tartalmazza.

15. A 7. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a riporter gén expresszióját transzkripció vagy transzláció szinten mérhetjük.

16. A 7. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy riporter génként kloramfenikol acetiltranszferázt (CAT), lacZ-t és bakteriális hibrid luciferázt (lux AB) használunk.

18. Eljárás receptor-ligandum komplex előállítására, azzal jellemezve, hogy az 1. igénypont szerinti valamely receptort anti-autoimmun, arthritisellenes, tumorellenes, melatoninszerű és/vagy melatonin-antagonista hatású vegyülettel inkubálunk.

20. A 18. igénypont szerinti eljárás, ahol a receptor RZR/ROR α .

22. A 18. igénypont szerinti eljárás, ahol a receptor a funkcionális ligandumkötő domént tartalmazó fragmens.

24. Melatonin-antagonista vagy agonista alkalmazása az RZR/ROR receptorcsalád aktivitásának módosítására.

R₁ és R₅ jelentése 3-5 szénatomos alkilcsoport, 3-5 szénatomos alk-2-én-1-il-csoport vagy 3-5 szénatomos alk-2-in-1-il-csoport; és különösen allilcsoport, metallilcsoport és propinilcsoport;

- R₂ és R₆ jelentése hidrogénatom, 1-5 szénatomos alkilcsoport, 3-5 szénatomos alk-2-én-1-il-csoport, 3-5 szénatomos alk-2-in-1-il-csoport, arilcsoport, aril-(rövidszénláncú alkil)-csoport, telített vagy telítetlen heterociklil-(rövidszénláncú alkil)-csoport vagy (rövidszénláncú alkoxi-karbonil)-(rövidszénláncú alkil)-csoport;
- R₃ és R₄ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy rövidszénláncú alkilcsoport vagy R₃ és R₄ együttesen rövidszénláncú alkilidén-csoportot képez;
- X jelentése oxocsoport vagy szulfocsoport;
- R₃₄ és R₃₅ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, metoxi-csoport vagy fluoratom;
- R₃₆ jelentése hidrogénatom vagy metoxi-karbonil-csoport;
- R₃₇ jelentése oxocsoport vagy szulfocsoport;
- R₃₈ jelentése hidrogénatom, 1-6 szénatomos alkilcsoport, ciklopropilcsoport, ciklobutilcsoport, ciklopentilcsoport, ciklohexilcsoport, brómatommal, klóratommal, fluoratommal vagy jódatommal szubsztituált 1-6 szénatomos alkilcsoport, fenilcsoport; (1-3 szénatomos alkil)-fenil-csoport, amely szubsztituálatlan vagy halogénatommal van szubsztituálva, indolilcsoport, morfolinocsoport, metil-morfolino-csoport, aminocsoport, 1-4 szénatomos alkilcsoporttal szubsztituált aminocsoport vagy 1-(2',3',4'-trimetoxi-benzil)-piperazin-metil-csoport, 2-pirrolidinon-csoport;
- R₃₉ jelentése hidrogénatom, metilcsoport vagy fluoratom;
- R₄₀ jelentése szénatom vagy nitrogénatom;
- R₄₁ jelentése szénatom vagy nitrogénatom vagy karbonilcsoport;

R₄₂ jelentése szénatom, nitrogénatom vagy kénatom vagy vinilén-csoport;

az R₄₀ és R₄₁ közötti kötés egyes- vagy kettőskötés azzal a megkötéssel, hogy egyeskötés, ha R₄₁ jelentése karbonilcsoport vagy R₄₀ jelentése nitrogénatom.

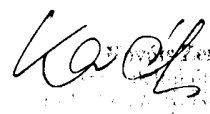
26. A 24. igénypont szerinti vegyületek alkalmazása az RZR/ROR receptorcsalád antagonistájaként vagy agonistájaként.

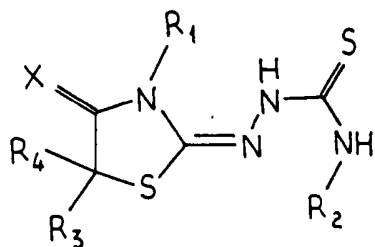
27. Olyan ligandum, amely ligandum alkalmazása kezelési eljárásban, amely ligandum azonosítva van, hogy az RZR/ROR receptorcsalád valamely receptorához vagy annak funkcionális fragmenséhez kötődik.

28. A 26. igénypont szerinti ligandum alkalmazása autoimmun betegségek, arthritises betegségek és/vagy tumorok kezelési eljárásában.

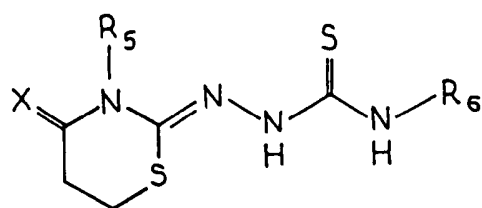
29. A 26. igénypont szerinti alkalmazás, ahol a ligandum melatonin vagy melatoninszármazék.

A meghatalmazott

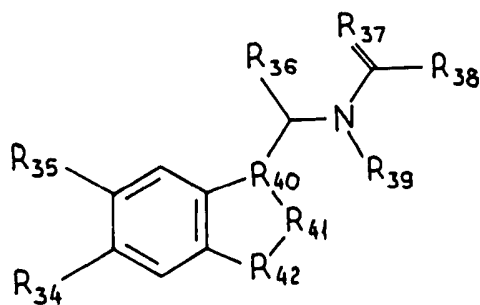

Kovács Zoltán
Magyarországi Országgyűlési Hivatal
Országgyűlési Titkárság
Közlönyosztály
113.
113.113.113.113



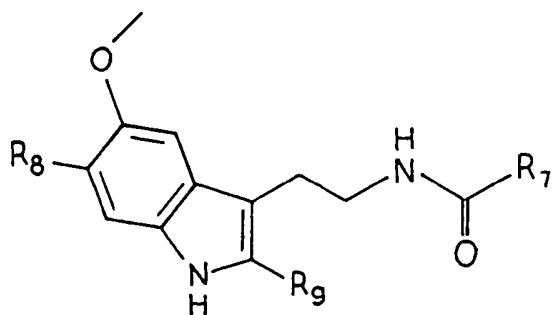
(1)



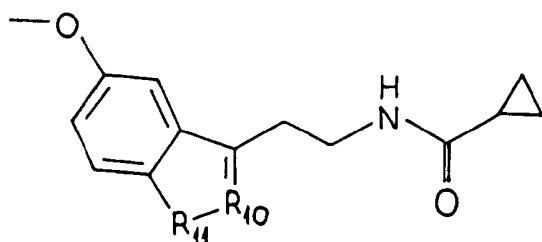
(2)



(3)



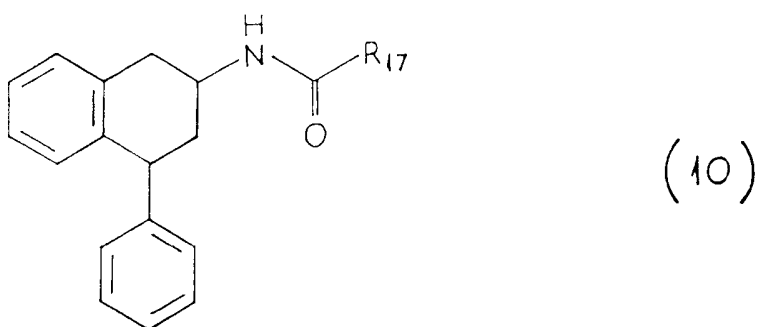
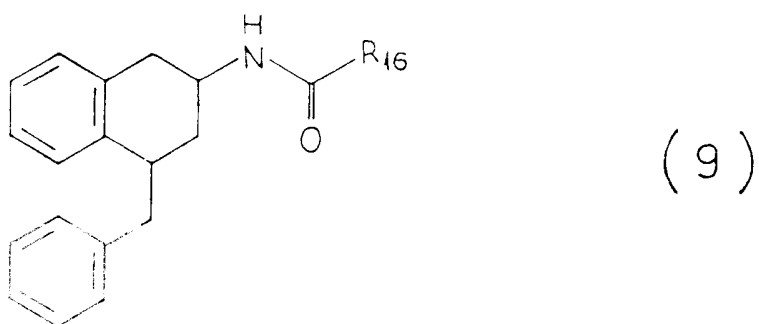
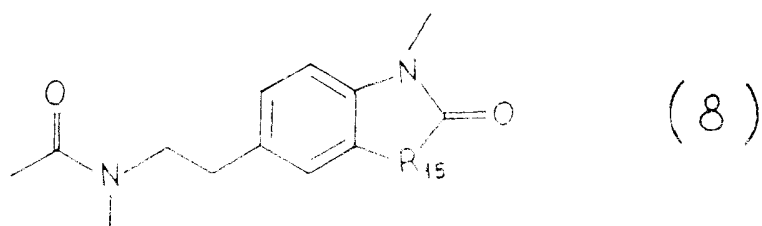
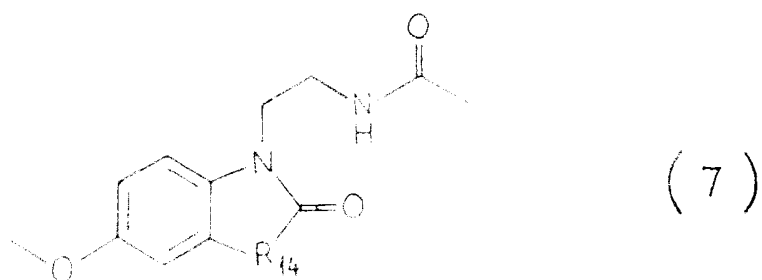
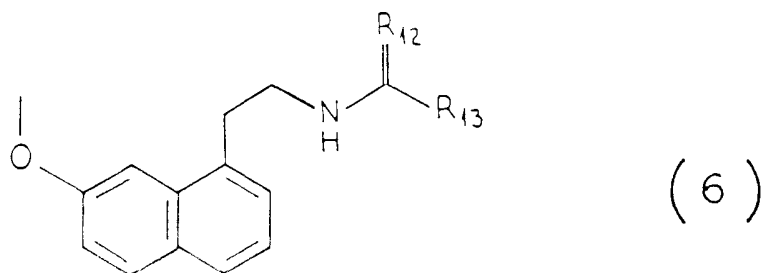
(4)



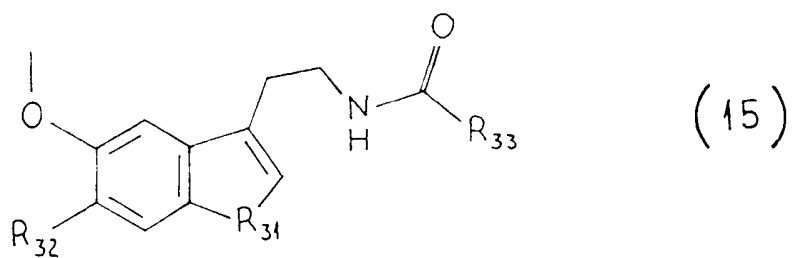
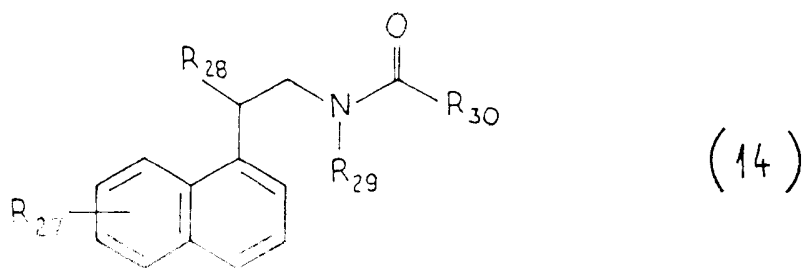
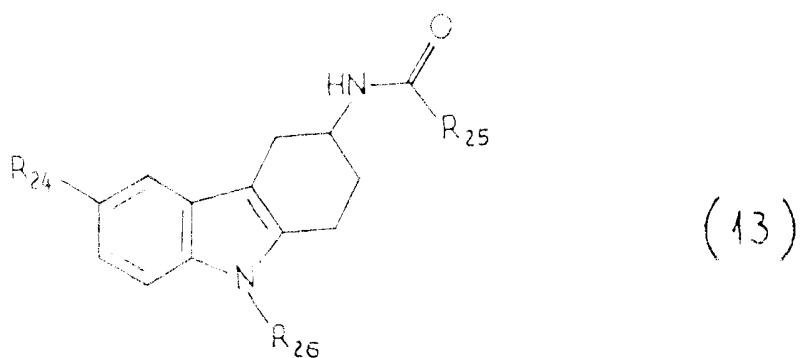
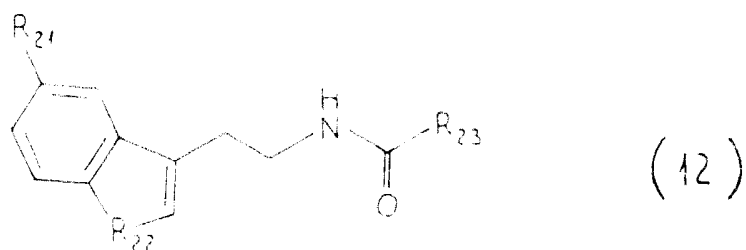
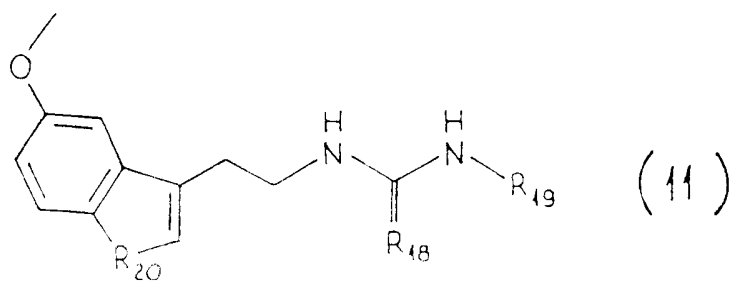
(5)

[Handwritten signature]
Közzétételre előkészítve
2019. 01. 14. 11:13:13

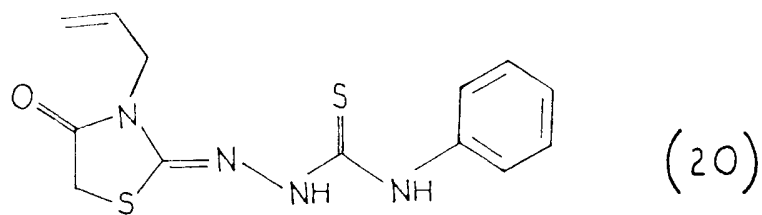
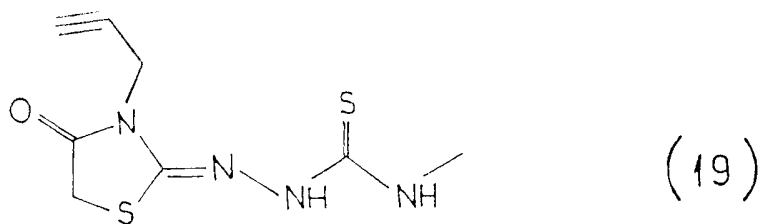
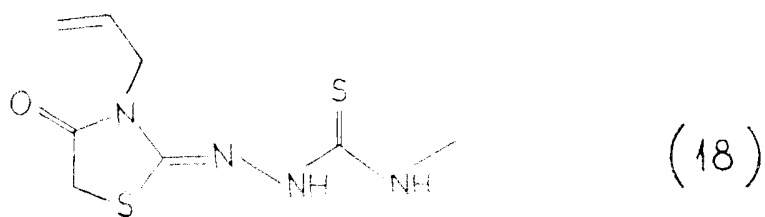
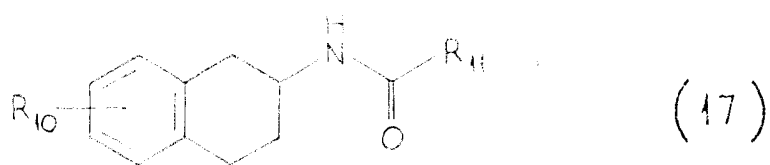
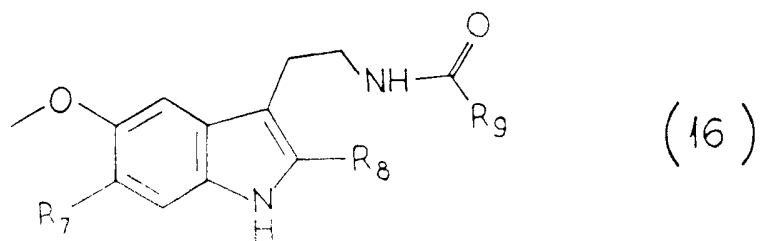
6/2



SECRET

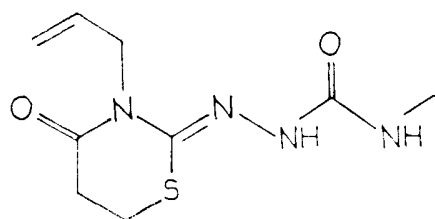


back

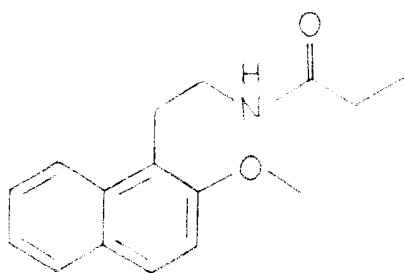


Handwritten signature

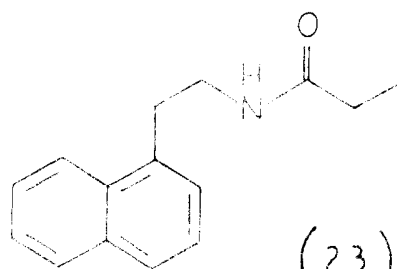
6/5



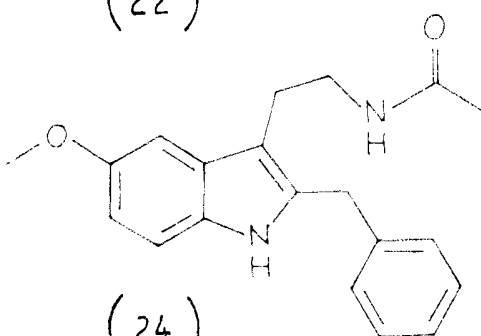
(21)



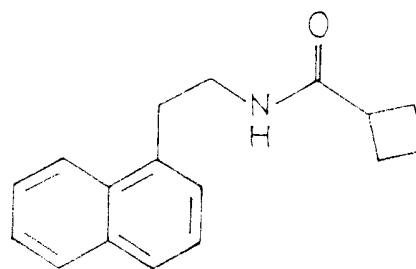
(22)



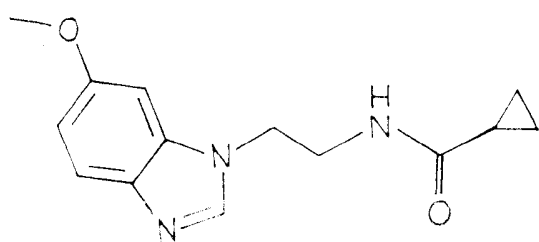
(23)



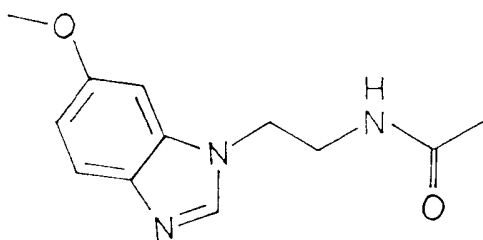
(24)



(25)

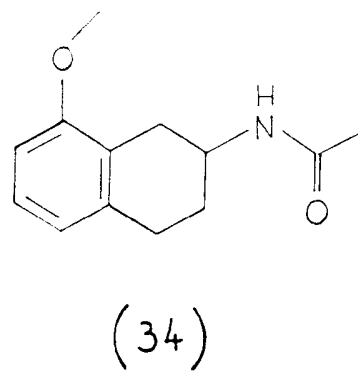
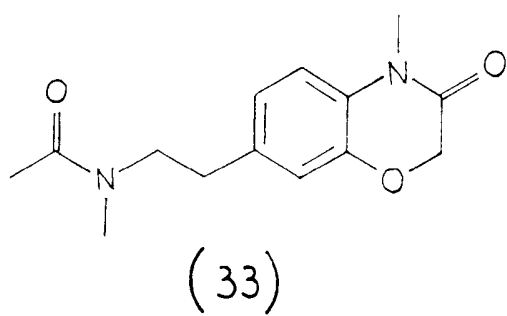
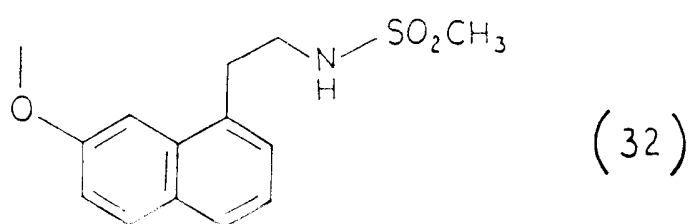
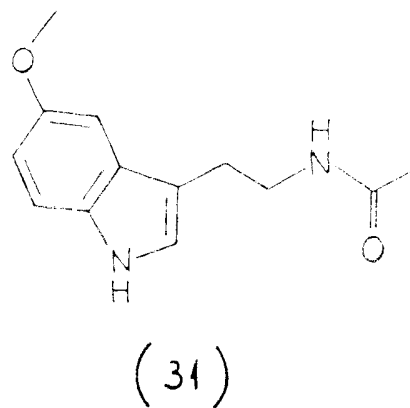
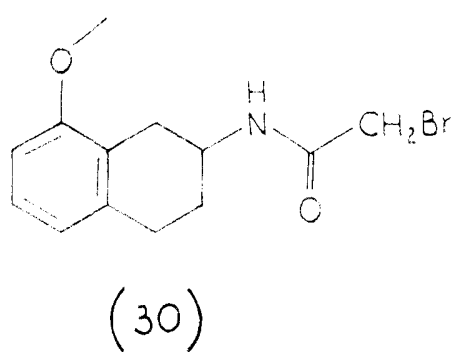
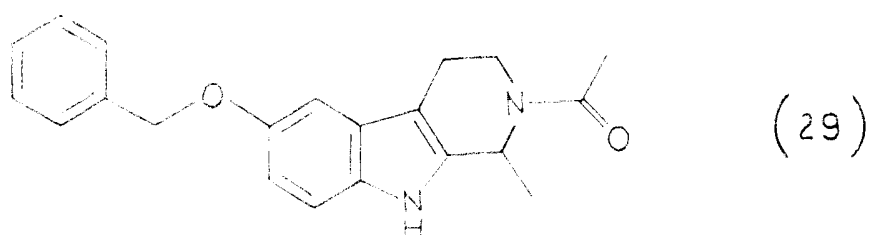
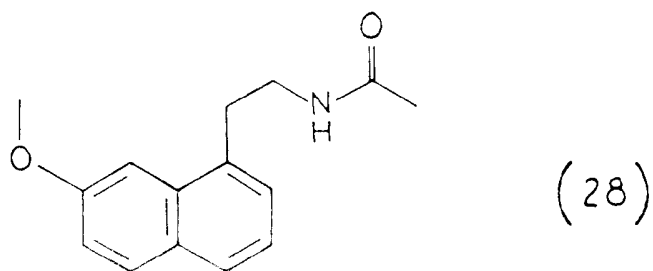


(26)



(27)

Real



igok