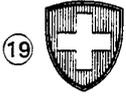




CH 680070 A5



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

11 CH 680070 A5

51 Int. Cl.⁵: C 07 K 13/00
A 61 K 37/02

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

12 **PATENTSCHRIFT** A5

| | |
|---|---|
| 21 Gesuchsnummer: 756/89 | 73 Inhaber: Sandoz AG, Basel |
| 22 Anmeldungsdatum: 01.03.1989 | |
| 30 Priorität(en): 04.03.1988 GB 8805231 09.05.1988 GB 8810899 | |
| 24 Patent erteilt: 15.06.1992 | |
| 45 Patentschrift veröffentlicht: 15.06.1992 | 72 Erfinder: Feyen, Jean Honore M., Dr., Oberwil BL Treichsel, Ulrich, Prof. Dr., Binningen |

54 **Mittel zur Verstärkung der Knochenbildung und Unterdrückung der Knochenresorption.**

57 Beschrieben wird die Anwendung von IL-6 Verbindungen zur Verstärkung der Knochenbildung und Unterdrückung der Knochenresorption.



CH 680070 A5

Beschreibung

Es wurde gezeigt, dass das Interleukin 6 ein Zytokin ist, das von Fibroblasten und mehreren anderen Zelltypen hergestellt wird. Die Produktion von Interleukin 6 und seine Aktivität auf beispielsweise das Knochenmark ist in der PCT Patentanmeldung PCT/US 87/01 611 (WO 88/00 206) beschrieben. Interleukin 6 scheint mit verschiedenen Zielzellen zu interagieren. Es hat sich erwiesen, dass Interleukin 6 identisch mit Interferon β -2, BSF-2 (B-cell stimulatory factor 2), Interleukin HP-1 und Faktor 26K ist. Es ist nun fraglich, ob überhaupt Interleukin 6 als ein Interferon im Hinblick auf seine niedrige anti-virale Aktivität betrachtet werden kann. Es wurde berichtet, dass die Produktion von Interleukin 6 durch Interleukin 1 (IL-1) und Tumor Nekrose Faktor (TNF- α) in gewissen Zellen stimuliert werden kann. Es ist auch bekannt, dass die Prostaglandin E_2 -Bildung, die zur Markierung der Knochenresorption dient, durch IL-1 und TNF- α stimuliert werden kann.

Trotz intensiver Forschung mit Interleukin 6, besonders im immunologischen und hematologischen Gebiet, wurde noch nichts über seine Wirkung auf Knochenresorption oder -bildung berichtet.

Es wurde nun gefunden, dass IL-6 Verbindungen (wie nachfolgend definiert) zur Hemmung der Knochenresorption und zur Erhöhung der Knochenbildung verwendet werden können. Sie können deshalb zur Behandlung von Osteoporose, beispielsweise die akuten und/oder chronischen Phasen der postmenopausalen Osteoporose, einschliesslich primäre und /oder sekundäre Osteoporose und localisierte Osteoporose, posttraumatische Osteoporose, Morbus Paget (osteitis deformans), von durch maligne Knochentumoren bedingter Osteolyse, beispielsweise Osteosarkom, Osteodystrophie, beispielsweise renale Osteodystrophie, Osteomalazie, multipler Knochenmyelom, Osteogenesis imperfecta, Hyperkalzämie, Osteomyelitis, beispielsweise zusammen mit Antibiotika, und ektopischer Verkalkung eingesetzt werden.

Die unten angegebenen Ergebnisse zeigen, dass IL-6 Verbindungen

- i) die PGE_2 -Ausscheidung von Knochenzellkulturen (Versuch 1) hemmen
- ii) die PGE_2 -Ausscheidung in Knochenkulturen hemmen, deren Stimulierung durch beispielsweise zwei Lymphokinen, IL-1 und TNF, induziert wird (Versuch 2)
- iii) die Knochenbildung verstärken (Versuch 3), und
- iv) die Knochenresorption unterdrücken (Versuche 4 und 5).

Das Verstärken der Knochenbildung ist besonders von Interesse.

Weiterhin wurde gezeigt, dass die Osteoblasten, die auch Osteoklasten steuern, eine IL-6 Wirkung erzeugen (Versuche 6 und 7).

Wie nachfolgend verwendet, entspricht 1 Einheit (U) IL-6 Aktivität einer Menge von IL-6 Verbindungen, die die Hälfte der maximalen Stimulierung in dem B-Zellenproliferationstest verursachen, beispielsweise unter Verwendung von B13.29 Klonen (frei von dem Central Laboratory Netherlands Red Cross, Blood Transfusion Service, P.O. Box 9406, 1006 AK Amsterdam erhältlich) wie in dem spezifischen Versuch von Landsdorp et al. in Curr. Top. Microbiol. Immunol. (1986) 132, 105 und Aarden et al. in Eur. J. Immunol. (1987) 17, 1411 beschrieben. 1×10^8 Einheiten entsprechen etwa 1 mg Polypeptid.

Zusammengefasst werden die Zellen in ein Kulturmedium suspendiert (Iscoe abgewandelter Dulbecco-Medium, das mit 5% (V/V) fetalem Kalbserum, Penicillin und Streptomycin ergänzt ist), und auf Mikrotiterplatten ($5 \cdot 10^3$ Zellen/200 μ l medium) angelegt. Die Zellen werden während 48 Stunden in einer feuchten 5% CO_2 -haltigen Luftatmosphäre bei 37°C gezüchtet, wobei während der letzten 6 Stunden die Züchtung in Gegenwart von 1 μ Ci [3H]Thymidin stattfindet. Die in den Nuklei inkorporierte Radioaktivität wird gemessen. Das zu prüfende konditionierte Medium wird in B13.29 Zellenmedium serienverdünnt.

Die nachfolgend angegebenen Versuchsergebnisse werden mit einer IL-6 Verbindung bestimmt, die ein glykosiliertes, durch CHO-Zellen hergestelltes, gegebenenfalls zur Entfernung von LPS (Lipopolysacchariden) gereinigtes IL-6 ist.

In dieser Beschreibung steht IL-1 für Interleukin-1 α .

Versuch 1

Die Grundbildung von Prostaglandin E_2 in der Rattenosteosarcomenzelllinie ROS 17/2.8 wird durch IL-6 Verbindungen bei einer Konzentration von ca. 0.01 bis ca. 100 U/ml gehemmt. In diesem Versuch werden Zellen von der Rattenosteosarcomenzelllinie ROS 17/2.8 in DMEM (Dulbecco's minimal essential medium) und Medium F12 (1:1), das 10% fetales Kalbserum und 2mM L-Glutamin enthält, in einer feuchten 5% CO_2 -haltigen Luftatmosphäre bei 37°C gezüchtet. Im konfluenten Stadium werden dann die Zellen mit der oben angegebenen IL-6 Verbindungenkonzentration behandelt. Nach 24stündiger Zucht wird ein Aliquot des Mediums für Prostaglandin E_2 unter Verwendung eines Standardradioimmunversuchs geprüft.

Die Ergebnisse sind wie folgt:

| IL-6 Verbindungskonzentration in U/ml | PGE ₂ (Picog/ml) |
|--|--------------------------------|
| 0 (Kontrolle) | 184 |
| 0.1 | 151 |
| 1.0 | 128 |
| 10 | 118 |

Versuch 2

Die PGE₂-Produktion, die durch Stimulierung von Calvarienzellen der Maus mit IL-1 und TNF- α erhalten ist, wird durch eine Konzentration von ca. 10 bis ca. 100 U/ml IL-6 Verbindungen unterdrückt.

Die Calvarienzellen der Maus werden wie folgt vorbereitet:

Frontale und parietale Knochen werden von 4 bis 5 Tage alten Mäusen (CD-1 Stamm) seziiert, der Pfeilnaht entlang gespaltet und in 2 ml BGJ-Medium enthaltend 1 mg/ml Rindserumeiweiss, Penicillin und Streptomycin auf 35 mm Kunststoffschalen für Gewebekulturen gezüchtet.

Nach 24 Stunden Vorzüchtung wird das Medium durch ein BGJ-Medium ersetzt, das mit IL-1 in einer Konzentration von 10 U oder TNF- α in einer Konzentration von 10 ng/ml zusammen mit IL-6 Verbindungen in einer Konzentration wie oben angegeben, ergänzt ist. Das so erhaltene Medium wird während 48 Stunden weitergezüchtet. Während der ganzen Züchtung werden die Schalen auf einer Schüttelplattform (15 Schwingungen/Min.) in einer feuchten 5% CO₂-haltigen Luftatmosphäre bei 37°C geschüttelt. Das konditionierte Calvarienmedium wird dann geerntet und bei 4°C aufbewahrt.

Ein Aliquot des Mediums wird entnommen, und der PGE₂-Gehalt wird durch einen Radioimmunversuch bestimmt. Folgende Ergebnisse werden erhalten:

Stimulierung durch 10 U/ml IL-1

| IL-6 Konzentration (U/ml) | PGE ₂ pg/ml |
|------------------------------|---------------------------|
| 0 | 4800 |
| 10 | 4400 |
| 100 | 500* |

(* entspricht dem Kontrollwert ohne IL-6 Stimulierung)

Stimulierung durch 10 ng/ml TNF- α

| IL-6 Konzentration (U/ml) | PGE ₂ pg/ml |
|------------------------------|---------------------------|
| 0 | 3300 |
| 10 | 1200 |
| 100 | 800* |

(* Kontrollwert ohne Stimulierung = 500 pg/ml)

Falls die Stimulierung der PGE₂ Ausscheidung durch das nichtlymphokine Parathyroidhormon (10⁻⁸ molar) induziert ist, wird jedoch eine kleine Hemmung der Prostaglandinsynthese beobachtet.

| IL-6 Konzentration (U/ml) | PGE ₂ pg/ml |
|------------------------------|---------------------------|
| 0 | 3700 |
| 10 | 3450 |
| 100 | 3300 |

In dem oben aufgeführten Versuch hat IL-6 keine Wirkung auf die Prostaglandinsynthese von unstimulierten Knochengewebekulturen.

Versuch 3

IL-6 Verbindungen verstärken die Knochenbildung wie es beispielsweise durch erhöhte Inkorporierung von $[3H]$ Prolin in kollagenen und nicht-kollagenen Proteine von fetalen Rattencalvarien gezeigt werden kann.

Frontale und parietale Knochen werden von 21 Tage alten fetalen Ratten sezert und der Pfeilnaht entlang gespalten und nach der Methode von Kream et al. [Endocrinology 116, 296 (1985)] gezüchtet. Die IL-6 Verbindung wird in Dosis von 1 bis 100 U zu jeweils 2 ml den Kulturen zugegeben. Die Züchtung wird während 24 bis 48 Stunden durchgeführt.

Um die Inkorporierung von $[3H]$ Prolin in durch Kollagenase verdautem Protein und in nicht-kollagenem Protein zu bestimmen, werden Knochenhomogenate mit bakterieller Kollagenase gemäss der Methode von Diegelmann R. und Peterkofsky (Dev. Biol. (1972) 28, 443), modifiziert gemäss Kream et al. (Endocrinology (1985) 116, 296) verdaut.

Versuch 4

IL-6 Verbindungen unterdrücken die Knochenresorption, wie es durch eine erniedrigte ^{45}Ca -Freisetzung von den Knochen gezeigt werden kann. Der Versuch wird nach der Methode von Raisz (J. Clin. Invest. (1965) 44, 103) durchgeführt.

Am 18. Tag Schwangerschaft werden schwangeren Ratten ^{45}Ca und Placebo oder eine IL-6 Verbindung (1 bis 100 U/Tier) s.c. verabreicht. Am nächsten Tag werden die Tiere geopfert und die Föten entnommen. Die mineralisierten Stämme der Radii und Ellen werden sezert und gezüchtet. Die Resorption wird durch die ^{45}Ca -Freisetzung in den Knochengewebeulturen bestimmt.

Versuch 5

IL-6 Verbindungen unterdrücken die Knochenresorption, wie es durch die reduzierte Osteoklastenzahl und erhöhte Knochenmenge im folgenden Versuch gezeigt werden kann.

Mäuse im Wachstumsstadium (6 bis 8 Wochen alt; Gewicht ca. 20 g) werden für den Versuch verwendet. IL-6 Verbindungen in Dosis von ca. 0,1 bis ca. 10 μ g, beispielsweise 1 μ g, werden s.c. über die Knochen der Schädeldecke, beispielsweise über die Stirn- und Schläfenknochen des Schädels injiziert. Die Injektionen werden täglich während 3 bis 10 Tagen durchgeführt. 3 Tage, 7 Tage oder 2 Wochen nach Behandlungsschluss werden die Tiere geopfert. Die Calvarienknochen werden histologisch untersucht. Beispielsweise werden die frontalen und temporalen Knochen fixiert, eingebettet und geschnitten. Die reduzierte Knochenresorption wird im Vergleich zu den Kontrolltieren morphologisch festgestellt, beispielsweise wird mehr Knochenmatrix und eine reduzierte Anzahl von Osteoklasten durch das Anfärben z.B. mit Tartrat-beständiger saurer Phosphatase beobachtet.

Dazu wird auch noch morphologisch eine Erhöhung der Knochenbildung in den Calvarienknochen, z.B. frontale und temporale Knochen, im Vergleich zu den Kontrolltieren festgestellt; beispielsweise wird ein verstärktes Knochenwachstum und zusätzlich auch eine erhöhte Osteoblastenzahl beobachtet.

Versuch 6

Die Freisetzung einer IL-6 ähnlichen Aktivität wird in menschlichen osteoblasten-ähnlichen Saos-2 Zellen durch Phorbol-12-Myristat-13-acetat (PMA) bei einer Konzentration von 2 bis 200 ng/ml, das ein bekannter Stimulator von IL-6 in nicht Knochenzellen ist, durch IL-1 (1 bis 20 U/ml) und Parathyroidhormon (PTH) (10^{-7} bis 10^{-10} M) stimuliert.

In diesem Versuch wird die osteoblastische menschliche Osteosarkomzellenlinie Saos-2 in McCoy 5A Medium, das mit 15% (V/V) fetalem Kalbserum (PCS), Penicillin, Streptomycin und 2 mM L-Glutamin ergänzt ist, in einer 5% CO_2 -haltigen Luftatmosphäre bebrütet. Wenn die Zellen konfluieren, werden sie nochmals mit einem Medium ernährt, das 2 oder 10% fetalem Kalbserum enthält und mit den zu prüfenden Mitteln ergänzt ist. Das Medium der Saos-2 Zellen wird dann nach einer Stimulierung von 48 Stunden oder 72 Stunden geerntet und bei 4°C aufbewahrt.

IL-6 ähnliche Aktivität wird in dem konditionierten Medium von Saos-2 Zellen unter Verwendung eines konventionellen Inkorporierungsversuchs von Tritium-Thymidin festgestellt, beispielsweise der B-Zellen (B13.29 Klonen)-Proliferationsversuch wie oben beschrieben. Bedeutende IL-6 Spiegel werden innerhalb von 48 Stunden bestimmt.

Die Ergebnisse lauten wie folgt:

FCS = 2%
1/10 Verdünnung des konditionierten Mediums

| Stimulator | ³ H-Thymidininkorporierung (cpm)* |
|-------------------------|--|
| keiner | 874 |
| PMA (20 mg/ml) | 61 015 |
| Il-1 (10 U/ml) | 23 189 |
| PTH (10 ⁻⁸) | 1287 |

* (Referenzbasis = 400 cpm; höchste Inkorporierung 66 000 cpm)

Es wird keine nachweisbare IL-6 ähnliche Aktivität unter kontrollierten, nicht stimulierten Bedingungen beobachtet.

Versuch 7

Die Züchtung der Calvarienzellen der Maus wie oben im Versuch 2 beschrieben, führt zu erheblicher IL-6 Aktivität nach 48stündiger Kultur unter kontrollierten Bedingungen (20 000 cpm). Diese Aktivität wird in Gegenwart von Phorbol-12-myristat-13-acetat (PMA) (1 bis 100 ng/ml) und von Parathyroidhormon, hPTH₁₋₃₄, (PTH) (10⁻⁷ bis 10⁻¹⁰ M) stimuliert.

Folgende Ergebnisse (³H Thymidin Inkorporierung in cpm) werden erhalten:

| Verdünnung | Kontrolle | PMA 100 ng/ml | PMA 10 ng/ml | PMA 1 ng/ml | PTH 10 ⁻⁷ M | 7 PTH 10 ⁻⁸ M | 8 PTH 10 ⁻⁹ M | 9 PTH 10 ⁻¹⁰ M | |
|------------|-----------|------------------|-----------------|----------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------|
| 1 | 10 | 39 919 | 47 510 | 37 679 | 48 150 | 12 326 | 14 638 | 16 252 | 35 897 |
| 2 | 100 | 9075 | 48 239 | 36 162 | 18 145 | 23 222 | 26 885 | 30 172 | 13 073 |
| 3 | 1000 | 680 | 27 694 | 17 687 | 1370 | 22 816 | 18 503 | 9059 | 827 |
| 4 | 10 000 | 346 | 5885 | 2545 | 580 | 1935 | 1279 | 1095 | 531 |
| 5 | 100 000 | 305 | 595 | 572 | 411 | 336 | 452 | 682 | 678 |

Die vorliegende Erfindung betrifft

i) die Verwendung einer IL-6 Verbindung wie hier definiert zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung, die zur Hemmung der Knochenresorption, zur Verstärkung der Knochenbildung oder zur Behandlung von Osteoporose, Osteoarthritis oder einem der in Patentansprüche 1 oder 2 angegebenen Zustände eingesetzt wird

ii) eine pharmazeutische Zusammensetzung zur Hemmung der Knochenresorption oder zur Verstärkung der Knochenbildung oder zur Behandlung von Osteoporose, Osteoarthritis oder einem der in Patentansprüche 1 oder 2 angegebenen Zustände, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine IL-6 Verbindung wie hier definiert als Wirkstoff enthält.

Unter IL-6 Verbindungen werden Verbindungen verstanden, die hauptsächlich die gleiche Struktur oder das gleiche Aktivitätsspektrum besitzen, wie das bekannte IL-6, (siehe die o.e. PCT Patentanmeldung oder die o.e. Publikationen von Landsdorp und Aarden in Zusammenhang mit dem spezifischen Proliferationsversuch) oder Faktoren davon, beispielsweise Interferon β-2 wie in beispielsweise EP 220 574A (Yeda), WO 88/00 206 (Genetics Institute) und EP 257 406A (Ajinomoto) beschrieben. Der Inhalt dieser Veröffentlichungen ist hier durch Referenz einbezogen.

Die IL-6 Verbindungen können glykosiliert sein, beispielsweise auf den Argininstellen. Sie können beispielsweise durch E. Coli oder CHO-Zellen hergestellt werden.

Die IL-6 Verbindung wie beschrieben ist ein Polypeptid mit 212 Aminosäuren. Gewünschtenfalls kann die erste oder die letzte Methioninaminosäure oder sogar der ganze nicht-kodierende Bereich fehlen, beispielsweise die ersten 28 Aminosäuren, von Met-Asn bis und mit Phe-Pro-Ala.

Die IL-6 Verbindung kann auch eine oder mehrere fehlende Aminosäuren haben; sie kann auch eine oder mehrere Aminosäuren zusätzlich besitzen oder eine oder mehrere Aminosäuren durch andere ersetzt haben und trotzdem ihre IL-6 ähnliche Aktivität aufweisen und gemäss der Erfindung wirksam sein.

Der Ausdruck IL-6 Verbindung umfasst solche Analogen wie auch Verbindungen, die selektiv die IL-6 Aktivität in Knochenkulturen stimulieren, besonders solche Verbindungen, die selektiv sind, indem sie unwesentlich auf anderen Faktoren oder Knochenresorption auf andere Wege wirken.

Der Ausdruck umfasst eine Verbindung der Formel I

5 PRO VAL PRO PRO GLY GLU ASP SER LYS ASP VAL
 ALA ALA PRO HIS ARG GLN PRO LEU THR SER SER
 GLU ARG ILE ASP LYS GLN ILE ARG TYR ILE LEU
 ASP GLY ILE SER ALA LEU ARG LYS GLU THR CYS
 ASN LYS SER ASN MET CYS GLU SER SER LYS GLU
 ALA LEU ALA GLU ASN ASN LEU ASN LEU PRO LYS
 MET ALA GLU LYS ASP GLY CYS PHE GLN SER GLY
 10 PHE ASN GLU GLU THR CYS LEU VAL LYS ILE ILE
 THR GLY LEU LEU GLU PHE GLU VAL TYR LEU GLU (I)
 TYR LEU GLN ASN ARG PHE GLU SER SER GLU GLU
 GLN ALA ARG ALA VAL GLN MET SER THR LYS VAL
 LEU ILE GLN PHE LEU GLN LYS LYS ALA LYS ASN
 15 LEU ASP ALA ILE THR THR PRO ASP PRO THR THR
 ASN ALA SER LEU LEU THR LYS LEU GLN ALA GLN
 ASN GLN TRP LEU GLN ASP MET THR THR HIS LEU
 ILE LEU ARG SER PHE LYS GLU PHE LEU GLN SER
 SER LEU ARG ALA LEU ARG GLN MET.

20 Es umfasst auch eine Verbindung der Formel I, die weitere Aminosäuren enthält, z.B. an die N-terminale Gruppe gebunden, beispielsweise Ala oder Met-Ala oder der Formel II

25 ALA PRO THR SER SER SER THR LYS LYS THR GLN
 LEU GLN LEU GLU HIS LEU LEU LEU ASP LEU PHE (II)
 ARG ALA - X

worin X die Formel I bedeutet.

30 Der Ausdruck umfasst weiter auch Verbindungen, worin eine oder mehrere Aminosäuren ersetzt sind oder fehlen, z.B. Verbindungen, die folgende Sequenz enthalten

PRO VAL PRO PRO GLY GLU ASP SER LYS
 ASP VAL ALA ALA

35 beispielsweise als N-terminale Sequenz, und/oder hauptsächlich die gleiche Struktur der übrigen Verbindung bewahren.

Für diese therapeutischen Wirkungen ist die geeignete Dosis unterschiedlich und hängt beispielsweise von der genauen verwendeten IL-6 Verbindung, dem Wirt, der Art der Verabreichung und der Art und der Schwere der zu behandelnden Zustände ab. Im allgemeinen sind jedoch bei Tieren zufriedenstellende Resultate zu erwarten bei täglichen Dosen von ca. 0,5 µ/kg bis ca. 20 µ/kg Tierkörper-Gewicht. Bei grösseren Säugetieren, beispielsweise Menschen, beträgt eine empfohlene tägliche Dosis im Bereich von ca. 25 µ bis ca. 1000 µ einer IL-6 Verbindung, die zweckmässiger, beispielsweise, in Teildosen bis 4mal täglich verabreicht wird.

45 Die IL-6 Verbindungen können auf jedem üblichen Weg verabreicht werden, insbesondere enteral, beispielsweise in Form von Tabletten oder Kapseln, oder vorzugsweise parenteral, beispielsweise in Form von Injektionslösungen oder Suspensionen.

Beispiele von Verabreichungsmethoden und pharmazeutischen Zusammensetzungen für IL-6 Verbindungen sind bekannt und beispielsweise in den o.e. Veröffentlichungen beschrieben.

50 IL-6 ist die bevorzugte Verbindung. Es ist angezeigt, dass diese Verbindung in täglichen Dosen von 25 µ bis 125 µ subkutan an grössere Säugetiere, beispielsweise Menschen, verabreicht werden kann.

Pharmazeutische Präparate der Erfindung können IL-6 Verbindungen zusammen mit zumindest einem pharmazeutischen Träger oder Verdünner enthalten. Solche Zusammensetzungen können auf an sich bekannte Weise hergestellt werden. Einheitsdosisformen enthalten beispielsweise von ca. 4 µ bis ca. 500 µ IL-6 Verbindung.

55 Die vorliegende Erfindung betrifft ebenfalls eine Packung, die eine pharmazeutische Zusammensetzung enthaltend eine IL-6 Verbindung aufweist.

Patentsprüche

60 1. Verwendung von IL-6 der Formel I

65 PRO VAL PRO PRO GLY GLU ASP SER LYS ASP VAL
 ALA ALA PRO HIS ARG GLN PRO LEU THR SER SER
 GLU ARG ILE ASP LYS GLN ILE ARG TYR ILE LEU
 ASP GLY ILE SER ALA LEU ARG LYS GLU THR CYS

ASN LYS SER ASN MET CYS GLU SER SER LYS GLU
 ALA LEU ALA GLU ASN ASN LEU ASN LEU PRO LYS
 MET ALA GLU LYS ASP GLY CYS PHE GLN SER GLY
 PHE ASN GLU GLU THR CYS LEU VAL LYS ILE ILE
 5 THR GLY LEU LEU GLU PHE GLU VAL TYR LEU GLU (I)
 TYR LEU GLN ASN ARG PHE GLU SER SER GLU GLU
 GLN ALA ARG ALA VAL GLN MET SER THR LYS VAL
 LEU ILE GLN PHE LEU GLN LYS LYS ALA LYS ASN
 10 LEU ASP ALA ILE THR THR PRO ASP PRO THR THR
 ASN ALA SER LEU LEU THR LYS LEU GLN ALA GLN
 ASN GLN TRP LEU GLN ASP MET THR THR HIS LEU
 ILE LEU ARG SER PHE LYS GLU PHE LEU GLN SER
 SER LEU ARG ALA LEU ARG GLN MET

15 oder einem entsprechenden Polypeptid, das zusätzlich eine oder mehrere Aminosäuren besitzt oder bei dem eine oder mehrere Aminosäuren fehlen oder durch andere ersetzt sind oder das gegebenenfalls glykosyliert ist und das das gleiche pharmakologische Aktivitätsspektrum besitzt, zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Hemmung der Knochenresorption, Verstärkung der Knochenbildung, Behandlung von Osteoporose, Osteoarthritis, Morbus Paget, durch maligne Knochentumoren bedingter Osteolyse, Osteodystrophie, Osteomalazie, multiplem Knochenmyelom, Osteogenesis imperfecta, Hyperkalzämie und Osteomyelitis.

20 2. Pharmazeutische Zusammensetzung zur Hemmung der Knochenresorption, Verstärkung der Knochenbildung, Behandlung von Osteoporose, Osteoarthritis, Morbus Paget, durch maligne Knochentumoren bedingter Osteolyse, Osteodystrophie, Osteomalazie, multiplem Knochenmyelom, Osteogenesis imperfecta, Hyperkalzämie und Osteomyelitis, dadurch gekennzeichnet, dass sie IL-6 der Formel I wie im Anspruch 1 definiert oder ein entsprechendes Polypeptid, das zusätzlich eine oder mehrere Aminosäuren besitzt oder bei dem eine oder mehrere Aminosäuren fehlen oder durch andere ersetzt sind oder das gegebenenfalls glykosyliert ist und das das gleiche pharmakologische Aktivitätsspektrum besitzt, als Wirkstoff enthält.

25 3. Zusammensetzung nach dem Patentanspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass IL-6 eine Verbindung Ala-X oder Met-Ala-X ist, worin X die Sequenz der Formel I gemäss Patentanspruch 1 ist.

30 4. Zusammensetzung nach dem Patentanspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass IL-6 die Sequenz

35 PRO VAL PRO PRO GLY GLU ASP SER LYS
 ASP VAL ALA ALA

enthält.

40 5. Zusammensetzung nach dem Patentanspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass IL-6 eine Verbindung der Formel II

45 ALA PRO THR SER SER SER THR LYS LYS THR GLN
 LEU GLN LEU GLU HIS LEU LEU LEU ASP LEU PHE (II)
 ARG ALA - X

50 ist, worin X die Formel I nach Patentanspruch 1 bedeutet.

55 6. Eine Packung, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Patentansprüche 2 bis 5 enthält.

50

55

60

65