



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **112753** (13) **C2**
(51) МПК**A61K 39/395** (2006.01)**A61P 3/10** (2006.01)**A61P 9/04** (2006.01)**A61P 9/12** (2006.01)**A61P 13/08** (2006.01)**A61P 25/28** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21)	Номер заявки:	а 2013 00112	(33)	Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	RU, RU, RU, RU, RU, RU
(22)	Дата подання заявки:	15.07.2011	(41)	Публікація відомостей про заявку:	10.04.2013, Бюл.№ 7
(24)	Дата, з якої є чинними права на винахід:	25.10.2016	(46)	Публікація відомостей про видачу патенту:	25.10.2016, Бюл.№ 20
(31)	Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	2010129294, 2010129292, 2010129298, 2010129291, 2010129290, 2010129295, 2010130348, 2010130355, 2010130358, 2010130356, 2010130353, 2011110106, 2011127053, 2011127058, 2011127055, 2011127051, 2011127052, 2011127059	(86)	Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/IB2011/002350, 15.07.2011
(32)	Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	15.07.2010, 15.07.2010, 15.07.2010, 15.07.2010, 15.07.2010, 21.07.2010, 21.07.2010, 21.07.2010, 21.07.2010, 17.03.2011, 01.07.2011, 01.07.2011, 01.07.2011, 01.07.2011, 01.07.2011	(72)	Винахідник(и):	Епштейн Олег Ільїч (RU)
			(73)	Власник(и):	Епштейн Олег Ільїч, 4-й Самотечный пер., д. 3, кв. 72, г. Москва, 127473, Российская Федерация (RU)
			(74)	Представник:	Брагарник Олександр Миколайович, реєстр. №326
(33)	Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	RU, RU, RU, RU, RU, RU, RU, RU, RU, RU, RU	(56)	Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	Shang A et al: "Are the clinical effects of homeopathy placebo effects? Comparative study of placebo-controlled trials of homeopathy and allopathy", The Lancet, Lancet Limited. London, GB, vol. 366, no. 9487, 27 August 2005, Pages 726-732 W. JONAS ET AL: "A critical overview of homeopathy", ANNALS OF INTERNAL MEDICINE, vol. 138, no. 5, 4 March 2003, Pages 393-399 VICKERS A J "Clinical trials of homeopathy and placebo: Analysis of a scientific debate", THE JOURNAL OF ALTERNATIVE AND COMPLEMENTARY MEDICINE, vol. 6, no. 1, 1 February 2000, Pages 49-56 EP 1547611 A1, 29.06.2005 EP 1547612 A1, 29.06.2005 EP 2036574 A1, 18.03.2009 E. S. ZHAVERBET ET AL, "Evaluation of the Efficiency and Safety of Combined Treatment with Impaza and Nitrates in CHD Patients with Erectile Dysfunction", BULLETIN OF EXPERIMENTAL BIOLOGY AND MEDICINE, (20090801), vol. 148, no. 2, pages 325 - 327

UA 112753 C2

(54) МЕТОД ПІДВИЩЕННЯ ВПЛИВУ АКТИВОВАНОЇ ПОТЕНЦІЙОВАНОЇ ФОРМИ АНТИТІЛА

(57) Реферат:

Винахід стосується підвищення ефективності активованої потенційованої форми антитіла до ендогенної біологічної молекули, вибраної з групи, що включає мозкоспецифічний білок S-100, простатоспецифічний антиген, фрагмент С-терміналу інсулінового рецептора β -ланцюга, фрагмент С-терміналу AT1 рецептора ангіотензину 2, що включає комбінування антитіла до вказаної ендогенної біологічної молекули в активованій потенційованій формі з активованою потенційованою формою антитіла до ендотеліальної NO-синтази, причому вказані активовані потенційовані форми комбінують у формі суміші гомеопатичних розведень C12, C30 та C200.

Галузь техніки

Даний винахід відноситься до методу підвищення впливу активованого потенційованого антитіла та фармацевтичної технології виготовлення лікарського засобу, що містить активовану потенційовану форму антитіла до ендогенної біологічної молекули та активовану потенційовану форму антитіла до ендотеліальної синтази оксиду азоту.

Рівень техніки

Оксид азоту (NO) це газова молекула, що бере участь в передачі сигналів різних біологічних процесів. Вилучений з ендотелію NO є головною молекулою в регулюванні судинного тону, а також давно вже визнано її відношення до хвороб судинної системи. NO пригнічує багато процесів, які призводять до появи атеросклеротичних бляшок, включаючи моноцитарну спайку, агрегацію тромбоцитів та проліферацію клітин судинного гладкого м'язу. Іншою важливою роллю ендотеліального оксиду азоту є захист стінок судин від окисного стресу, викликаного продуктами власного метаболізму та продуктами окислення ліпідів та ліпопротеїнів. Випадки ендотеліальної дисфункції трапляються на дуже ранніх стадіях атеросклерозу. Тому цілком можливо, що саме місцева нестача NO є остаточною загальною причиною прискорення розвитку атеросклерозу в людини. Окрім свого впливу на судинний ендотелій, було доведено, що наявність NO регулює метаболізм ліпопротеїнів. Повідо мляється про те, що існує негативний взаємозв'язок між плазмовими концентраціями продуктів метаболізму NO і всією плазмою та рівнями холестерину ліпопротеїнів низької щільності в той час, коли ліпопротеїни високої щільності покращують роботу судинної системи у осіб із гіперхолестеринемією. Втрата NO має значний вплив на розвиток хвороби. Цукровий діабет пов'язаний з підвищеними рівнями захворювання та смертності, причиною яких є головним чином прискорений розвиток атеросклерозу. Більше того, результати дослідження показали, що діабет також негативно впливає на функціонування легень. Було висунуто припущення, що інсулінорезистентність призводить до запалення дихальних шляхів.

Habib et al.. Nitric Oxide Measurement From Blood To Lungs. Is There A Link? Pak J Physiol 2007; 3(1).

Оксид азоту синтезується ендотелієм з L-аргініну за допомогою синтази оксиду азоту (NO-синтази). NO-синтаза зустрічається у вигляді різних лізоформ, включаючи конститутивну форму (сNOS) та індукцибельну (iNOS). Конститутивна форма присутня в звичайних ендотеліальних клітинах, нейронах та інших тканинах.

Терапевтичні властивості дуже розрідженої форми (або ультра-низької форми) антитіл потенційованих за допомогою гомеопатичної технології (активована потенційована форма) були відкриті доктором Олегом І. Епштейном. Патент США № 7700096 розкриває гомеопатично потенційовану форму антитіл до ендотеліальної NO-синтази. Гомеопатично потенційована форма антитіл до ендотеліальної NO-синтази реалізується у Російській Федерації та інших країнах під маркою Імпаза®.

Існує невичерпна потреба в методі підвищення ефекту активованої потенційованої форми антитіла.

Стисле викладення винаходу

Відповідно до одного аспекту, цей винахід лежить в основі методу підвищення впливу активованої потенційованої форми антитіла до ендогенної біологічної молекули. Даний метод передбачає поєднання даної ендогенної біологічної молекули з активованою потенційованою формою антитіла до ендотеліальної NO-синтази, бажано, щоб введення даного поєднання пацієнту, що потребує лікування, відбувалося разом з вищевказаною активованою потенційованою формою антитіла.

В одному варіанті, ця активована потенційована форма антитіла до ендогенної біологічної молекули є антитілом до протеїну S-100. В іншому варіанті, ця активована потенційована форма антитіла до ендогенної біологічної молекули є антитілом до простатичного специфічного антигену. В іншому варіанті, ця активована потенційована форма антитіла до ендогенної біологічної молекули є антитілом до інсулінового рецептору. В іншому варіанті, ця активована потенційована форма антитіла до ендогенної біологічної молекули є антитілом до антигіпотензивного рецептору II.

Відповідно до іншого аспекту, цей винахід лежить в основі лікарського засобу, що містить а) активовану потенційовану форму антитіла до ендогенної біологічної молекули та б) активовану потенційовану форму антитіла до NO-синтази, бажано, щоб цей лікарський засіб містився в прийнятному твердому носії, бажано, щоб активована потенційована форма антитіла до ендотеліальної NO-синтази містила суміш гомеопатичних розведень C12, C30 та C200, якими насичений даний носій. Активована потенційована форма антитіла до ендогенної біологічної молекули може бути моноклональним, поліклональним або природнім антитілом, бажано, щоб

антитіло до інсулінового рецептору людини було поліклональним антитілом.

Вважається, що цей лікарський засіб містить активовану потенційовану форму антитіла до ендогенної біологічної молекули, що виготовляється шляхом струшування кожного з послідовних сотенних розведень. Також вважається, що активована потенційована форма антитіла до NO-синтази є моноклональним, поліклональним або природнім антитілом, бажано, щоб головним чином антитіло до ендотеліальної NO-синтази було поліклональним антитілом. Вважається, що активована потенційована форма антитіла до ендотеліальної NO-синтази виготовляється шляхом трясіння кожного з послідовних сотенних розведень.

Опис фігур

Фіг. 1 - показує ефект тестових препаратів на рівні глюкози плазми крові щурів з цукровим діабетом, викликаним стрептозотоцином.

Фіг. 2 - показує ефект тестових препаратів 14-й день введення під кривою «концентрація-час» в аналізі на толерантність до глюкози в щурів із цукровим діабетом, викликаним стрептозотоцином.

Фіг. 3 - показує ефект тестових препаратів на рівні глюкози плазми крові щурів зі спонтанним інсулінонезалежним цукровим діабетом.

Фіг. 4 - показує ефект тестових препаратів на 28-й день введення під кривою «концентрація-час» в аналізі на толерантність до глюкози в щурів зі спонтанним інсулінонезалежним цукровим діабетом.

Детальний опис винаходу

Дане відкриття визначається формулою винаходу, що додається. Згідно з нею, у глосарії подаються відповідні визначення.

Термін «антитіло», що використовується в цьому документі, слід тлумачити як імуноглобулін, що приєднується до, а тому визначається як і доповнення до особливої просторової та полярної організації іншої молекули. Антитіла, як то відображається в формулі, можуть містити цілий імуноглобулін або його фрагмент, вони можуть бути природними, поліклональними або моноклональними, а також можуть містити різні класи та ізотипи, наприклад такі як IgA, IgD, IgE, IgG1, IgG2a, IgG2b і IgG3, IgM та інші. Фрагменти можуть містити Fab, Fv F(ab')₂, Fab' та інші. Під формою однини «антитіло» мається також на увазі множина «антитіла».

Термін «активована потенційована форма» або «потенційована форма» по відношенню до антитіл в цьому документі використовується, щоб позначити продукт гомеопатичного потенціювання будь-якого вихідного розчину антитіл. «Гомеопатичне потенціювання» розуміє під собою використання методів гомеопатії для надання гомеопатичної ефективності вихідному розчину відповідної речовини. Під поняттям «гомеопатичне потенціювання» може критися, наприклад, повторне послідовне, наприклад, разом із зовнішнім впливом - головними чином вертикальним (механічним) струшуванням. Іншими словами, вихідний розчин антитіла послідовно і повторно розчиняється та постійно вертикально струшується після кожного отримання нового розчину згідно з гомеопатичною технологією. Бажана концентрація початкового розчину антитіла в розчиннику, головним чином в воді або в водно-етиловій суміші, коливається від приблизно 0,5 до приблизно 5,0 мг/мл. Бажана процедура для виготовлення кожного компоненту, тобто розчину антитіла, полягає в використанні суміші трьох водних або водно-спиртових розчинів початкового матричного розчину (початкової тинктури) антитіл розбавлених відповідно 100¹², 100³⁰ та 100²⁰⁰ разів, що співвідноситься з сотенними гомеопатичними розведеннями (C12, C30 та C200) або в використанні суміші трьох водних або водно-спиртових розчинів початкового матричного розчину антитіл розбавлених відповідно 100¹², 100³⁰ та 100⁵⁰ разів, що співвідноситься з сотенними гомеопатичними розведеннями (C12, C30 та C50). Приклади гомеопатичного потенціювання наводяться в Патенті США №7.572.441 та №7.582.294, що включені в даних документ повністю для визначеної мети. В той час, коли термін «активована потенційована форма» використовується в формулах, термін «ультра низькі дози» використовується у прикладах. Термін «ультра низькі дози» став технічно-юридичним терміном в сфері дослідження та використання гомеопатично розчинених та потенційованих форм речовин. Термін «ультра низька доза» або «ультра низькі дози» розглядається як той, що цілком відповідає і є синонімом до терміну «активована потенційована» форма, що використовується в формулі винаходу.

Іншими словами, антитіло знаходиться в «активованій потенційованій» або «потенційованій» формі за трьох факторів. По-перше, «активована потенційована» форма антитіла є продуктом підготовчого процесу прийнятого в гомеопатії. По-друге, «активована потенційована» форма антитіла повинна мати біологічну активність визначену методами прийнятими в сучасній фармакології. І по-третє, біологічна активність, яку проявляє

«активована потенційована» форма антитіла, не може бути приписана наявності молекулярної форми антитіла в кінцевому продукті гомеопатичного процесу.

Наприклад, активовану потенційовану форму антитіл можна отримати шляхом проведення початкового ізольованого антитіла в молекулярній формі через послідовні багатократні розведення у поєднанні з зовнішнім впливом, таким як механічним струшуванням. Зовнішній вплив у процесі зменшення концентрації також може виконуватися шляхом використання ультразвукових, електромагнітних та других фізичних факторів. В. Швабе у своїй роботі «Гомеопатичні лікарські засоби» (1967). Патенти США №7.229.648 та №4.311.897, що включені в даних документ повністю для визначеної мети, описують такі процеси, які є цілком прийнятими методами гомеопатичного потенціювання у гомеопатії. Ця процедура сприяє постійному зменшенню молекулярної концентрації початкової молекулярної форми антитіла. Ця процедура повторюється поки не отримується бажане гомеопатичне потенціювання. Для окремого антитіла потрібне гомеопатичне потенціювання може визначатися після проведення біологічного аналізу проміжного розведення у відповідній фармакологічній моделі. Під поняттям «гомеопатичне потенціювання» може критися, наприклад, повторне послідовне розведення разом із зовнішнім впливом - головними чином вертикальним (механічним) струшуванням. Іншими словами, вихідний розчин антитіла послідовно і повторно розчиняється та постійно вертикально струшується після кожного отримання нового розчину згідно з гомеопатичною технологією. Бажана концентрація початкового розчину антитіла в розчиннику, головним чином в воді або в водно-етилівій суміші, коливається від приблизно 0,5 до приблизно 5,0 мг/мл. Бажана процедура для виготовлення кожного компоненту, тобто розчину антитіла, полягає в використанні суміші трьох водних або водно-спиртових розчинів початкового матричного розчину (початкової тінктури) антитіл розбавлених відповідно 100^{12} , 100^{30} та 100^{200} разів, що співвідноситься з сотенними гомеопатичними розведеннями (C12, C30 та C200) або в використанні суміші трьох водних або водно-спиртових розчинів початкового матричного розчину антитіл розбавлених відповідно 100^{12} , 100^{30} та 100^{50} разів, що співвідноситься з сотенними гомеопатичними розведеннями (C12, C30 та C50). Приклади гомеопатичного потенціювання наводяться в Патенті США №7.229.648 та №4.311.897, що включені в даних документ повністю для визначеної мети. Описана тут процедура з активованою потенційованою формою антитіл описується більш детально нижче.

Виникло багато спірних питань з приводу гомеопатичного лікування людей. В той час, коли цей винахід базується на прийнятих гомеопатичних процесах отримання активованої потенційованої форми антитіл, він не базується тільки на гомеопатії в людей для очевидності результату. Випадково винахідником було з'ясовано та продемонстровано в відповідних фармакологічних моделях, що кінцевий розчинник, отриманий від послідовного багатократного розведення початкової молекулярної форми антитіла, має відмінну активність, що не стосується наявності домішок молекулярної форми антитіла в кінцевому розведенні. Активована потенційована форма антитіла, про яку йде мова в цьому документі, пройшли тестування на біологічну активність у відповідних фармакологічних моделях активності: в належних експериментах *in vitro* та в організмах придатних тварин. Експерименти, що наводяться далі, свідчать про біологічну активність в таких моделях. Клінічні дослідження з людьми також свідчать, що активність, яка спостерігалася при експериментах з тваринами, успішно реалізується в лікуванні людей. Дослідження з людьми також свідчать про здатність активованих потенційованих форм, описаних в цьому документі, лікувати певні людські хвороби або розлади, які в медичній науці вважаються патологічними станами.

Також «активована потенційована» форма антитіла охоплює лише розчини або тверді препарати, біологічну активність яких не можна пояснити наявністю молекулярної форми антитіла, що залишається після вихідного початкового розчину. Іншими словами, в той час, коли «активована потенційована» форма антитіла може містити домішки початкової молекулярної форми антитіла, експерт з даної процедури не може приписати наявну біологічну активність в відповідних фармакологічних моделях залишковій молекулярній формі антитіла через дуже низьку концентрацію молекулярної форми антитіла, що залишалася після послідовного розведення. Хоча дане відкриття не обмежується жодною конкретною теорією, біологічна активність активованої потенційованої форми антитіл наявного винаходу не може належати до початкової молекулярної форми антитіла, бажано, щоб рідка або тверда форма «активованої потенційованої» форми антитіла мала концентрацію молекулярної форми антитіла нижчу за межу виявлення прийнятих аналітичних технік, таких як капілярний електрофорез та ВисокоЕфективна Рідинна Хроматографія. Дуже бажано, щоб рідка або тверда форма «активованої потенційованої» форми антитіла мала концентрацію молекулярної форми антитіла нижчу за число Авогадро. В фармакології молекулярних форм терапевтичних речовин

розповсюдженою практикою є створення кривої «доза-ефект», в якій відображається відповідність між рівнем фармакологічного ефекту та концентрації активного медикаменту, введеного суб'єкту дослідження або *in vitro*. Мінімальна кількість медикаменту, що викликає будь-який ефект, який можна зареєструвати, називається пороговою дозою. Особливим чином спостерігається, щоб активована потенційована форма антитіл мала молекулярне антитіло в концентрації, нижчий за порогову дозу для молекулярної форми антитіла в даній біологічній моделі (або щоб не мала зовсім).

Відповідно до цього аспекту винаходу лікарський засіб може бути в рідкій або твердій формі. Кожна з активованих потенційованих форм антитіл, включених до лікарського засобу, виготовляється з початкової молекулярної форми антитіла процедурою, прийнятою в гомеопатичній практиці. Вихідні антитіла можуть буди моноклональними або поліклональними, отриманими відповідно до прийнятих процедур, наприклад тих, що описані в роботах Г. Фрімеля «Медицина» (1987, ст. 9-33) та Е. Лафлі і Р. Содойєра «Антитіла. Моноклональні та рекомбінантні антитіла, через 30 років» (2005, том 14. №1-2. С. 33-55) - на обидві роботи подані посилання.

Моноклональне антитіло можна здобути, наприклад, шляхом гібридомної технології. Початковий етап процедури полягає в імунізації на принципах, розроблених в процесі виготовлення поліклональної імунної сироватки. Подальші етапи роботи включають отримання гібридних клітин, створюючи клонів антитіл з ідентичними характеристиками. Їхня ізоляція здійснюється шляхом використання тих самих методів, що застосовуються при виготовленні поліклональної імунної сироватки.

Поліклональні антитіла можна здобути шляхом активної імунізації тварин. Для цієї мети придатні тварини (наприклад, кролі) отримують ряд ін'єкцій відповідного антигену, наприклад, NO-синтази. Імунна система тварин продукує відповідні антитіла, які вилучаються з тварин належним шляхом. Завдяки цій процедурі отримується моноспецифічна анти-сироватка.

Бажано, сироватку, що містить антитіла, можна очистити, наприклад, шляхом афінної хроматографії, фракцінації процесу осаду солей або іонообмінної хроматографії. Отримана очищена анти-сироватка може використовуватися як початковий матеріал для виготовлення активованої потенційованої форми антитіл. Бажана концентрація початкового розчину антитіла в розчиннику, головним чином в воді або в водно-етиловій суміші, коливається від приблизно 0,5 до приблизно 5,0 мг/мл.

Бажана процедура для виготовлення кожного компоненту медикаменту відповідно до даного винаходу полягає в використанні суміші трьох водних або водно-спиртових розчинів початкового матричного розчину антитіл розбавлених відповідно 100^{12} , 100^{30} та 100^{50} разів, що співвідноситься з сотенними гомеопатичними розведеннями C12, C30 та C50 або розбавлених відповідно 100^{12} , 100^{30} та 100^{200} разів, що співвідноситься з сотенними гомеопатичними розведеннями C12, C30 та C200. Для виготовлення твердої лікарської форми твердий носій обробляється потрібним розчином, отриманим в результаті гомеопатичного процесу. Для виготовлення одиниці твердої лікарської форми засобу цього винаходу маса носія обробляється кожним розчином. Обидві послідовності обробки є прийнятними для виготовлення потрібної лікарської форми медикаменту.

Бажано, щоб початковий матеріал для виготовлення активованої потенційованої форми, що містить суміш за даним винаходом, був тваринним поліклональним антитілом до відповідного антигену, а саме NO-синтази та ендогенної біологічної молекули. Щоб отримати активовану потенційовану форму поліклональних антитіл до NO-синтази, відповідних антиген може вводитися лабораторним тваринам (бажано, кролям) як імуноген. Поліклональні антитіла до NO-синтази можуть отримуватися шляхом використання цілої молекули бичачої NO-синтази наступної послідовності:

Послідовність SEQ ID №1

Met	Gly	Asn	Leu	Lys	Ser	Val	Gly	Gln	Glu	Pro	Gly	Pro	Pro	Cys
1				5					10					15
Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Cys	Gly	Lys	Gln	Gly
16				20					25					30
Pro	Ala	Ser	Pro	Ala	Pro	Glu	Pro	Ser	Arg	Ala	Pro	Ala	Pro	Ala
31				35					40					45

Thr	Pro	His	Ala	Pro	Asp	His	Ser	Pro	Ala	Pro	Asn	Ser	Pro	Thr	46	50	55	60
Leu	Thr	Arg	Pro	Pro	Glu	Gly	Pro	Lys	Phe	Pro	Arg	Val	Lys	Asn	61	65	70	75
Trp	Glu	Leu	GLys	er	Ile	Thr	Tyr	Asp	Thr	Leu	Cys	Ala	Gln	Ser	76	80	85	90
Gln	Gln	Asp	Gly	Pro	Cys	Thr	Pro	Arg	Cys	Cys	Leu	GLys	er	Leu	91	95	100	105
Val	Leu	Pro	Arg	Lys	Leu	Gln	Thr	Arg	Pro	Ser	Pro	Gly	Pro	Pro	106	110	115	120
Pro	Ala	Glu	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Ala	Arg	Asp	Phe	Ile	Asn	Gln	121	125	130	135
Tyr	Tyr	Ser	Ser	Ile	Lys	Arg	Ser	GLys	er	Gln	Ala	His	Glu	Glu	136	140	145	150
Arg	Leu	Gln	Glu	Val	Glu	Ala	Glu	Val	Ala	Ser	Thr	Gly	Thr	Tyr	151	155	160	165
His	Leu	Arg	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Phe	Gly	Ala	Lys	Gln	Ala	Trp	166	170	175	180
Arg	Asn	Ala	Pro	Arg	Cys	Val	Gly	Arg	Ile	Gln	Trp	Gly	Lys	Leu	181	185	190	195
Gln	Val	Phe	Asp	Ala	Arg	Asp	Cys	Ser	Ser	Ala	Gln	Glu	Met	Phe	196	200	205	210
Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	His	Ile	Lys	Tyr	Ala	Thr	Asn	Arg	Gly	Asn	211	215	220	225
Leu	Arg	Ser	Ala	Ile	Thr	Val	Phe	Pro	Gln	Arg	Ala	Pro	Gly	Arg	226	230	235	240
Gly	Asp	Phe	Arg	Ile	Trp	Asn	Ser	Gln	Leu	Val	Arg	Tyr	Ala	Gly	241	245	250	255
Tyr	Arg	Gln	Gln	Asp	GLys	er	Val	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Asn	Val	256	260	265	270
Glu	Ile	Thr	Glu	Leu	Cys	Ile	Gln	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Gly	Asn	271	275	280	285
Gly	Arg	Phe	Asp	Val	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Asp	Glu	286	290	295	300
Ala	Pro	Glu	Leu	Phe	Val	Leu	Pro	Pro	Glu	Leu	Val	Leu	Glu	Val	301	305	310	315
Pro	Leu	Glu	His	Pro	Thr	Leu	Glu	Trp	Phe	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu	316	320	325	330
Arg	Trp	Tyr	Ala	Leu	Pro	Ala	Val	Ser	Asn	Met	Leu	Leu	Glu	Ile	331	335	340	345
Gly	Gly	Leu	Glu	Phe	Ser	Ala	Ala	Pro	Phe	Ser	Gly	Trp	Tyr	Met	346	350	355	360
Ser	Thr	Glu	Ile	Gly	Thr	Arg	Asn	Leu	Cys	Asp	Pro	His	Arg	Tyr	361	365	370	375
Asn	Ile	Leu	Glu	Asp	Val	Ala	Val	Cys	Met	Asp	Leu	Asp	Thr	Arg	376	380	385	390
Thr	Thr	Ser	Ser	Leu	Trp	Lys	Asp	Lys	Ala	Ala	Val	Glu	Ile	Asn	391	395	400	405
Leu	Ala	Val	Leu	His	Ser	Phe	Gln	Leu	Ala	Lys	Val	Thr	Ile	Val	406	410	415	420

Asp	His	His	Ala	Ala	Thr	Val	Ser	Phe	Met	Lys	His	Leu	Asp	Asn
421				425					430					435
Glu	Gln	Lys	Ala	Arg	Gly	Gly	Cys	Pro	Ala	Asp	Trp	Ala	Trp	Ile
436				440					445					450
Val	Pro	Pro	Ile	Ser	GLys	er	Leu	Thr	Pro	Val	Phe	His	Gln	Glu
451				455					460					465
Met	Val	Asn	Tyr	Ile	Leu	Ser	Pro	Ala	Phe	Arg	Tyr	Gln	Pro	Asp
466				470					475					480
Pro	Trp	Lys	GLy	Ser	Ala	Thr	Lys	Gly	Ala	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys
481				485					490					495
Lys	Thr	Phe	Lys	Glu	Val	Ala	Asn	Ala	Val	Lys	Ile	Ser	Ala	Ser
496				500					505					510
Leu	Met	Gly	Thr	Leu	Met	Ala	Lys	Arg	Val	Lys	Ala	Thr	Ile	Leu
511				515					510					525
Tyr	Ala	Ser	Glu	Thr	Gly	Arg	Ala	Gln	Ser	Tyr	Ala	Gln	Gln	Leu
526				530					535					540
Gly	Arg	Leu	Phe	Arg	Lys	Ala	Phe	Asp	Pro	Arg	Val	Leu	Cys	Met
541				545					550					555
Asp	Glu	Tyr	Asp	Val	Val	Ser	Leu	Glu	His	Glu	Ala	Leu	Val	Leu
556				560					565					570
Val	Val	Thr	Ser	Thr	Phe	Gly	Asn	Gly	Asp	Pro	Pro	Glu	Asn	Gly
571				575					580					585
Glu	Ser	Phe	Ala	Ala	Ala	Leu	Met	Glu	Met	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn
586				590					595					600
Ser	Ser	Pro	Arg	Pro	Glu	Gln	His	Lys	Ser	Tyr	Lys	Ile	Arg	Phe
601				605					610					615
Asn	Ser	Val	Ser	Cys	Ser	Asp	Pro	Leu	Val	Ser	Ser	Trp	Arg	Arg
616				620					625					630
Lys	Arg	Lys	Glu	Ser	Ser	Asn	Thr	Asp	Ser	Ala	Gly	Ala	Leu	Gly
631				635					640					645
Thr	Leu	Arg	Phe	Cys	Val	Phe	Gly	Leu	GLy	Ser	Arg	Ala	Tyr	Pro
646				650					655					660
His	Phe	Cys	Ala	Phe	Ala	Arg	Ala	Val	Asp	Thr	Arg	Leu	Glu	Glu
661				665					670					675
Leu	Gly	Gly	Glu	Arg	Leu	Leu	Gln	Leu	Gly	Gln	Gly	Asp	Glu	Leu
676				680					685					690
Cys	Gly	Gln	Glu	Glu	Ala	Phe	Arg	Gly	Trp	Ala	Lys	Ala	Ala	Phe
691				695					700					705
Gln	Ala	Ser	Cys	Glu	Thr	Phe	Cys	Val	Gly	Glu	Glu	Ala	Lys	Ala
706				710					715					720
Ala	Ala	Gln	Asp	Ile	Phe	Ser	Pro	Lys	Arg	Ser	Trp	Lys	Arg	Gln
721				725					730					735
Arg	Tyr	Arg	Leu	Ser	Thr	Gln	Ala	Glu	Gly	Leu	Gln	Leu	Leu	Pro
736				740					745					750
Gly	Leu	Ile	His	Val	His	Arg	Arg	Lys	Met	Phe	Gln	Ala	Thr	Val
751				755					760					765
Leu	Ser	Val	Glu	Asn	Leu	Gln	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Arg	Ala	Thr
766				770					775					780
Ile	Leu	Val	Arg	Leu	Asp	Thr	Ala	Gly	Gln	Glu	Gly	Leu	Gln	Tyr
781				785					790					795

Gln	Pro	Gly	Asp	His	Ile	Gly	Ile	Cys	Pro	Pro	Asn	Arg	Pro	Gly
796				800					805					810
Leu	Val	Glu	Ala	Leu	Leu	Ser	Arg	Val	Glu	Asp	Pro	Pro	Pro	Pro
811				815					820					825
Thr	Glu	Ser	Val	Ala	Val	Glu	Gln	Leu	Glu	Lys	Glys	er	Pro	Gly
826				830					835					840
Gly	Pro	Pro	Pro	Ser	Trp	Val	Arg	Asp	Pro	Arg	Leu	Pro	Pro	Cys
841				845					850					855
Thr	Leu	Arg	Gln	Ala	Leu	Thr	Phe	Phe	Leu	Asp	Ile	Thr	Ser	Pro
856				860					865					870
Pro	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Arg	Leu	Leu	Ser	Thr	Leu	Ala	Glu	Glu
871				875					880					885
Pro	Ser	Glu	Gln	Gln	Glu	Leu	Glu	Thr	Leu	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg
886				890					895					900
Arg	Tyr	Glu	Glu	Trp	Lys	Trp	Phe	Arg	Cys	Pro	Thr	Leu	Leu	Glu
901				905					910					915
Val	Leu	Glu	Gln	Phe	Pro	Ser	Val	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Leu	Leu
916				920					925					930
Leu	Thr	Gln	Leu	Pro	Leu	Leu	Gln	Pro	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Val	Ser
931				935					940					945
Ser	Ala	Pro	Asn	Ala	His	Pro	Gly	Glu	Val	His	Leu	Thr	Val	Ala
946				950					955					960
Val	Leu	Ala	Tyr	Arg	Thr	Gln	Asp	Gly	Leu	Gly	Pro	Leu	His	Tyr
961				965					970					975
Gly	Val	Cys	Ser	Thr	Trp	Leu	Ser	Gln	Leu	Lys	Thr	Gly	Asp	Pro
976				980					985					990
Val	Pro	Cys	Phe	Ile	Arg	Gly	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Leu	Pro	Pro
991				995					1000					1005
Asp	Pro	Tyr	Val	Pro	Cys	Ile	Leu	Val	Gly	Pro	Gly	Thr	Gly	Ile
1006				1010					1015					1020
Ala	Pro	Phe	Arg	Gly	Phe	Trp	Gln	Glu	Arg	Leu	His	Asp	Ile	Glu
1021				1025					1030					1035
Ser	Lys	Gly	Leu	Gln	Pro	Ala	Pro	Met	Thr	Leu	Val	Phe	Gly	Cys
1036				1040					1045					1050
Arg	Cys	Ser	Gln	Leu	Asp	His	Leu	Tyr	Arg	Asp	Glu	Val	Gln	Asp
1051				1055					1060					1065
Ala	Gln	Glu	Arg	Gly	Val	Phe	Gly	Arg	Val	Leu	Thr	Ala	Phe	Ser
1066				1070					1075					1080
Arg	Glu	Pro	Asp	Ser	Pro	Lys	Thr	Tyr	Val	Gln	Asp	Ile	Leu	Arg
1081				1085					1090					1095
Thr	Glu	Leu	Ala	Ala	Glu	Val	His	Arg	Val	Leu	Cys	Leu	Glu	Arg
1096				1100					1105					1110
Gly	His	Met	Phe	Val	Cys	Gly	Asp	Val	Thr	Met	Ala	Thr	Ser	Val
1111				1115					1120					1125
Leu	Gln	Thr	Val	Gln	Arg	Ile	Leu	Ala	Thr	Glu	Gly	Asp	Met	Glu
1126				1130					1135					1140
Leu	Asp	Glu	Ala	Gly	Asp	Val	Ile	Gly	Val	Leu	Arg	Asp	Gln	Gln
1141				1145					1150					1155
Arg	Tyr	His	Glu	Asp	Ile	Phe	Gly	Leu	Thr	Leu	Arg	Thr	Gln	Glu
1156				1160					1165					1170
Val	Thr	Ser	Arg	Ile	Arg	Thr	Gln	Ser	Phe	Ser	Leu	Gln	Glu	Arg
1171				1175					1180					1185
His	Leu	Arg	Gly	Ala	Val	Pro	Trp	Ala	Phe	Asp	Pro	Pro	Gly	Pro
1186				1190					1195					1200
Asp	Thr	Pro	Gly	Pro										
1201				1205										

5 Поліклональні антитіла до NO-синтази можуть отримуватися шляхом використання цілої молекули людської NO-синтази наступної послідовності:

SEQ ID №2

Met	Gly	Asn	Leu	Lys	Ser	Val	Ala	Gln	Glu	Pro	Gly	Pro	Pro	Cys
1				5					10					15
Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Cys	Gly	Lys	Gln	Gly
16				20					25					30
Pro	Ala	Thr	Pro	Ala	Pro	Glu	Pro	Ser	Arg	Ala	Pro	Ala	Ser	Leu
31				35					40					45
Leu	Pro	Pro	Ala	Pro	Glu	His	Ser	Pro	Pro	Ser	Ser	Pro	Leu	Thr
46				50					55					60
Gln	Pro	Pro	Glu	Gly	Pro	Lys	Phe	Pro	Arg	Val	Lys	Asn	Trp	Glu
61				65					70					75
Val	GLys	er	Ile	Thr	Tyr	Asp	Thr	Leu	Ser	Ala	Gln	Ala	Gln	Gln
76				80					85					90
Asp	Gly	Pro	Cys	Thr	Pro	Arg	Arg	Cys	Leu	GLys	er	Leu	Val	Phe
91				95					100					105
Pro	Arg	Lys	Leu	Gln	Gly	Arg	Pro	Ser	Pro	Gly	Pro	Pro	Ala	Pro
106				110					115					120
Glu	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Ala	Arg	Asp	Phe	Ile	Asn	Gln	Tyr	Tyr
121				125					130					135
Ser	Ser	Ile	Lys	Arg	Ser	GLys	er	Gln	Ala	His	Glu	Gln	Arg	Leu
136				140					145					150
Gln	Glu	Val	Glu	Ala	Glu	Val	Ala	Ala	Thr	Gly	Thr	Tyr	Gln	Leu
151				155					160					165

Arg Glu Ser Glu Leu Val Phe Gly Ala Lys Gln Ala Trp Arg Asn			
166	170	175	180
Ala Pro Arg Cys Val Gly Arg Ile Gln Trp Gly Lys Leu Gln Val			
181	185	190	195
Phe Asp Ala Arg Asp Cys Arg Ser Ala Gln Glu Met Phe Thr Tyr			
196	200	205	210
Ile Cys Asn His Ile Lys Tyr Ala Thr Asn Arg Gly Asn Leu Arg			
211	215	220	225
Ser Ala Ile Thr Val Phe Pro Gln Arg Cys Pro Gly Arg Gly Asp			
226	230	235	240
Phe Arg Ile Trp Asn Ser Gln Leu Val Arg Tyr Ala Gly Tyr Arg			
241	245	250	255
Gln Gln Asp Gly Ser Val Arg Gly Asp Pro Ala Asn Val Glu Ile			
256	260	265	270
Thr Glu Leu Cys Ile Gln His Gly Trp Thr Pro Gly Asn Gly Arg			
271	275	280	285
Phe Asp Val Leu Pro Leu Leu Leu Gln Ala Pro Asp Glu Pro Pro			
286	290	295	300
Glu Leu Phe Leu Leu Pro Pro Glu Leu Val Leu Glu Val Pro Leu			
301	305	310	315
Glu His Pro Thr Leu Glu Trp Phe Ala Ala Leu Gly Leu Arg Trp			
316	320	325	330
Tyr Ala Leu Pro Ala Val Ser Asn Met Leu Leu Glu Ile Gly Gly			
331	335	340	345
Leu Glu Phe Pro Ala Ala Pro Phe Ser Gly Trp Tyr Met Ser Thr			
346	350	355	360

Glu Ile Gly Thr Arg Asn Leu Cys Asp Pro His Arg Tyr Asn Ile			
361	365	370	375
Leu Glu Asp Val Ala Val Cys Met Asp Leu Asp Thr Arg Thr Thr			
376	380	385	390
Ser Ser Leu Trp Lys Asp Lys Ala Ala Val Glu Ile Asn Val Ala			
391	395	400	405
Val Leu His Ser Tyr Gln Leu Ala Lys Val Thr Ile Val Asp His			
406	410	415	420
His Ala Ala Thr Ala Ser Phe Met Lys His Leu Glu Asn Glu Gln			
421	425	430	435
Lys Ala Arg Gly Gly Cys Pro Ala Asp Trp Ala Trp Ile Val Pro			
436	440	445	450
Pro Ile Ser GLys er Leu Thr Pro Val Phe His Gln Glu Met Val			
451	455	460	465
Asn Tyr Phe Leu Ser Pro Ala Phe Arg Tyr Gln Pro Asp Pro Trp			
466	470	475	480
Lys Gly Ser Ala Ala Lys Gly Thr Gly Ile Thr Arg Lys Lys Thr			
481	485	490	495
Phe Lys Glu Val Ala Asn Ala Val Lys Ile Ser Ala Ser Leu Met			
496	500	505	510
Gly Thr Val Met Ala Lys Arg Val Lys Ala Thr Ile Leu Tyr Gly			
511	515	510	525
Ser Glu Thr Gly Arg Ala Gln Ser Tyr Ala Gln Gln Leu Gly Arg			
526	530	535	540
Leu Phe Arg Lys Ala Phe Asp Pro Arg Val Leu Cys Met Asp Glu			
541	545	550	555
Tyr Asp Val Val Ser Leu Glu His Glu Thr Leu Val Leu Val Val			

556	560	565	570
Thr Ser Thr Phe Gly Asn Gly Asp Pro Pro Glu Asn Gly Glu Ser			
571	575	580	585
Phe Ala Ala Ala Leu Met Glu Met Ser Gly Pro Tyr Asn Ser Ser			
586	590	595	600
Pro Arg Pro Glu Gln His Lys Ser Tyr Lys Ile Arg Phe Asn Ser			
601	605	610	615
Ile Ser Cys Ser Asp Pro Leu Val Ser Ser Trp Arg Arg Lys Arg			
616	620	625	630
Lys Glu Ser Ser Asn Thr Asp Ser Ala Gly Ala Leu Gly Thr Leu			
631	635	640	645
Arg Phe Cys Val Phe Gly Leu GLys er Arg Ala Tyr Pro His Phe			
646	650	655	660
Cys Ala Phe Ala Arg Ala Val Asp Thr Arg Leu Glu Glu Leu Gly			
661	665	670	675
Gly Glu Arg Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Asp Glu Leu Cys Gly			
676	680	685	690
Gln Glu Glu Ala Phe Arg Gly Trp Ala Gln Ala Ala Phe Gln Ala			
691	695	700	705
Ala Cys Glu Thr Phe Cys Val Gly Glu Asp Ala Lys Ala Ala Ala			
706	710	715	720
Arg Asp Ile Phe Ser Pro Lys Arg Ser Trp Lys Arg Gln Arg Tyr			
721	725	730	735
Arg Leu Ser Ala Gln Ala Glu Gly Leu Gln Leu Leu Pro Gly Leu			
736	740	745	750
Ile His Val His Arg Arg Lys Met Phe Gln Ala Thr Ile Arg Ser			
751	755	760	765

Val	Glu	Asn	Leu	Gln	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Arg	Ala	Thr	Ile	Leu
766				770					775					780
Val	Arg	Leu	Asp	Thr	Gly	Gly	Gln	Glu	Gly	Leu	Gln	Tyr	Gln	Pro
781				785					790					795
Gly	Asp	His	Ile	Gly	Val	Cys	Pro	Pro	Asn	Arg	Pro	Gly	Leu	Val
796				800					805					810
Glu	Ala	Leu	Leu	Ser	Arg	Val	Glu	Asp	Pro	Pro	Ala	Pro	Thr	Glu
811				815					820					825
Pro	Val	Ala	Val	Glu	Gln	Leu	Glu	Lys	Gly	Ser	Pro	Gly	Gly	Pro
826				830					835					840
Pro	Pro	Gly	Trp	Val	Arg	Asp	Pro	Arg	Leu	Pro	Pro	Cys	Thr	Leu
841				845					850					855
Arg	Gln	Ala	Leu	Thr	Phe	Phe	Leu	Asp	Ile	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser
856				860					865					870
Pro	Gln	Leu	Leu	Arg	Leu	Leu	Ser	Thr	Leu	Ala	Glu	Glu	Pro	Arg
871				875					880					885
Glu	Gln	Gln	Glu	Leu	Glu	Ala	Leu	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg	Arg	Tyr
886				890					895					900
Glu	Glu	Trp	Lys	Trp	Phe	Arg	Cys	Pro	Thr	Leu	Leu	Glu	Val	Leu
901				905					910					915
Glu	Gln	Phe	Pro	Ser	Val	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Leu	Leu	Leu	Thr
916				920					925					930
Gln	Leu	Pro	Leu	Leu	Gln	Pro	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Val	Ser	Ser	Ala
931				935					940					945
Pro	Ser	Thr	His	Pro	Gly	Glu	Ile	His	Leu	Thr	Val	Ala	Val	Leu
946				950					955					960
Ala	Tyr	Arg	Thr	Gln	Asp	Gly	Leu	Gly	Pro	Leu	His	Tyr	Gly	Val

961	965	970	975
Cys Ser Thr Trp Leu Ser Gln Leu Lys Pro Gly Asp Pro Val Pro			
976	980	985	990
Cys Phe Ile Arg Gly Ala Pro Ser Phe Arg Leu Pro Pro Asp Pro			
991	995	1000	1005
Ser Leu Pro Cys Ile Leu Val Gly Pro Gly Thr Gly Ile Ala Pro			
1006	1010	1015	1020
Phe Arg Gly Phe Trp Gln Glu Arg Leu His Asp Ile Glu Ser Lys			
1021	1025	1030	1035
Gly Leu Gln Pro Thr Pro Met Thr Leu Val Phe Gly Cys Arg Cys			
1036	1040	1045	1050
Ser Gln Leu Asp His Leu Tyr Arg Asp Glu Val Gln Asn Ala Gln			
1051	1055	1060	1065
Gln Arg Gly Val Phe Gly Arg Val Leu Thr Ala Phe Ser Arg Glu			
1066	1070	1075	1080
Pro Asp Asn Pro Lys Thr Tyr Val Gln Asp Ile Leu Arg Thr Glu			
1081	1085	1090	1095
Leu Ala Ala Glu Val His Arg Val Leu Cys Leu Glu Arg Gly His			
1096	1100	1105	1110
Met Phe Val Cys Gly Asp Val Thr Met Ala Thr Asn Val Leu Gln			
1111	1115	1120	1125
Thr Val Gln Arg Ile Leu Ala Thr Glu Gly Asp Met Glu Leu Asp			
1126	1130	1135	1140
Glu Ala Gly Asp Val Ile Gly Val Leu Arg Asp Gln Gln Arg Tyr			
1141	1145	1150	1155
His Glu Asp Ile Phe Gly Leu Thr Leu Arg Thr Gln Glu Val Thr			
1156	1160	1165	1170

Ser Arg Ile Arg Thr Gln Ser Phe Ser Leu Gln Glu Arg Gln Leu
 1171 1175 1180 1185
 Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Ser Asp Thr
 1186 1190 1195 1200
 Asn Ser Pro
 1201 1203

Для того, щоб отримати поліклональні антитіла до NO-синтази, також можна використати фрагмент NO-синтази, вилученої, наприклад, з наступної послідовності:

SEQ ID №3

Pro Trp Ala Phe

1192 1195

5

SEQ ID №4

Gly Ala Val Pro

1189 1192

SEQ ID №5

His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro Arg
 1186 1190 1195 1185 1200
 Asp Thr Pro Gly Pro
 1201 1205

10

SEQ ID №6

Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro
 11941195 1200
 Asp Thr Pro Gly Pro
 1201 1205

SEQ ID №7

His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp
 1186 1190 11951196

SEQ ID №8

His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro
 1186 1190 1195 1200
 Asp Thr Pro Gly Pro
 1201 1205

15

Зразкову процедуру підготовки активації поліклональних антитіл до NO-синтази можна викласти наступними шляхом. За 7-9 днів до взяття зразків крові, кролям робляться 1-3 внутрішньовенних ін'єкції потрібного антигену, щоб підвищити рівень поліклональних антитіл в току крові. Після імунізації зразки крові беруться для аналізу рівня антитіл. Зазвичай 20 максимальний рівень імунної реакції розчинного антигену досягається протягом 40-60 днів після першої ін'єкції антигену. Після завершення першого циклу імунізації, кролі проходять 30-денний період реабілітації, після якого проводиться реімунізація шляхом 1-3 внутрішньовенних ін'єкцій.

Для отримання анти-сироватки з бажаними антитілами збирається імунізована кров кролів та поміщується в центрифужну пробірку 50 мл. Згустки, що утворилися на стінках пробірки знімаються дерев'яною лопаткою, та паличка поміщується в згусток в середині пробірки. Потім 25 ця кров поміщується у холодильну камеру на ніч за температури 40°C. Наступного дня згусток на лопатці знімається, а залишки речовини піддаються центрифугуванню протягом 10 хвилин за 13000 обертів/хв. Супернатантна рідина і є кінцевою анти-сироваткою. Отримана анти-

сироватка зазвичай має жовтий колір. 20%-й NaN_3 (вагова концентрація) додається до анти-сироватки до кінцевої концентрації 0,02% та зберігається перед використанням у замороженому стані за температури -20°C або без NaN_3 за температури -70°C . Щоб виділити кінцеві антитіла до гама-інтерферону з анти-сироватки підходить така послідовність поглинання твердої фази:

10 мл анти-сироватки кролів двічі розбавляється 0,15 М NaCl , після чого додається 6,26 г Na_2SO_4 , перемішується та витримується 12-16 годин за температури 14°C . Осад убирається за допомогою центрифугування розводиться в 10 мл фосфатного буферу та діалізується проти того ж самого буферу протягом однієї ночі за кімнатної температури. Після вилучення осаду розчин наносять на колонку з діетиламіноетилцелюлозою, збалансованою фосфатним буфером. Доля антитіла визначається вимірами оптичної щільності елюату за 280 нм.

Ізольовані необроблені антитіла очищуються за допомогою методу афінної хроматографії шляхом приєднання отриманих антитіл до NO-синтази, розташованих на нерозчинній матриці хроматографічного засобу з наступним вимиванням концентрованими водними соляними розчинами.

Отриманий буферний розчин використовується як вихідний розчин для гомеопатичного процесу розведення з метою отримати активовану потенційовану форму антитіл. Потрібна концентрація початкового матричного розчину очищеного від антигену поліклональних антитіл кролів до NO-синтази становить 0,5-5,0 мг/мл, бажано, 2,0-3,0 мг/мл.

Поліклональні антитіла до ендогенної біологічної молекули можуть отримуватися шляхом, схожим до того, яким отримуються антитіла до ендотеліальної NO-синтази, використовуючи допоміжний засіб.

Отриманий буферний розчин використовується як вихідний розчин для гомеопатичного процесу розведення з метою отримати активовану потенційовану форму антитіл.

Активована потенційована форма кожного компонента суміші може виготовлятися з початкового розчину шляхом гомеопатичного потенціювання із використанням методу пропорційного зменшення концентрації рядом розведень 1 частини кожного попереднього розчину (починаючи з початкового розчину) в 9 частинах (для десятинного розведення), або в 99 частинах (для сотенного розведення), або в 999 частинах (для тисячного розведення) нейтрального розчинника, починаючи з концентрації початкового розчину антитіла в розчиннику, бажано воді або водно-етиловій суміші, від приблизно 0,5 до приблизно 5,0 мг/мл разом із зовнішнім впливом, бажано, щоб зовнішнім впливом було багаторазове вертикальне струшування (динамізація) кожного розведення, бажано використовувати окремі контейнери для кожного послідовного розведення до отримання потрібного рівня потенціювання або фактору розведення. Цей метод цілком прийнятний в гомеопатії. Це підтверджує, наприклад, робота В. Швабе «Гомеопатична медицина» (1967, сс. 14-29).

Наприклад, щоб приготувати 12-сотенне розведення (позначається як C12), одна частина початкового матричного розчину антитіл до NO-синтази з концентрацією 3,0 мг/мл розбавляється 99 частинах нейтрального водного або водно-спиртового розчинника (бажано 15% етиловому спирті), а потім багаторазово вертикально струшується (10 або більше разів) до утворення 1-го сотенного розведення (позначається як C1). 2-е сотенне розведення (C2) отримується з 1-го сотенного розведення C1. Ця процедура повторюється 1 разів для утворення 12-го сотенного розведення C12. Таким чином, 12-е сотенне розведення C12 є розчином, отриманим 12-а послідовними розведеннями однієї частини початкового матричного розчину антитіл з концентрацією 3,0 мг/мл в 99 частинах нейтрального розчинника в різних контейнерах, що дорівнює сотенному гомеопатичному розведенню C12. Схожі процедури з відносним фактором розведення проводяться для отримання потрібних розведень. Проміжні розведення можуть аналізуватися в відповідних біологічних моделях на перевірку їхньої активності. Бажані активовані потенційовані форми для антитіл, що містять суміш цього винаходу є розведення C12, C30 та C200 для кожної активованої потенційованої форми. При використанні суміші різних гомеопатичних розведень (в першу чергу сотенних) активних речовин як компонентів біологічно активної рідини, кожний компонент суміші (наприклад, C12, C30, C50, C200) виготовляється окремо відповідно до вищеописаної процедури до отримання передостаннього розведення (наприклад, до отримання відповідно C11, C29 та C199); тоді додається одна частина кожного компоненту в один контейнер відповідно до складу суміші та перемішується з потрібною кількістю розчинника (наприклад з 97 частинам для сотенного розведення).

Можливо використовувати активну речовину як суміш різних гомеопатичних розведень, наприклад, десятинних та/або сотенних (D20, C30, C100 або C12, C30, C50 або C12, C30 C200, тощо), ефективність яких визначається експериментальним шляхом за допомогою тестування розведення в придатній біологічній моделі, наприклад, в моделях, описаних в прикладах в

цьому документі.

В процесі підвищення потенціювання та концентрації вертикальне струшування можна замінити на ультразвук, електромагнітне поле або будь-яку іншу схожу процедуру зовнішнього впливу, прийняту в гомеопатії.

5 Для виготовлення одиниці твердої лікарської форми засобу цього винаходу твердий фармацевтично придатний носій обробляється сумішшю активованої потенційованої форми водних або водно-спиртових розчинів активних компонентів, змішаних у відношенні 1:1 та використаних у рідинній формі. З іншого боку, носій може оброблятися послідовно кожним

10 Бажано, щоб лікарський засіб у твердій формі виготовлявся з гранул фармацевтично придатного носія, попередньо обробленого водними або водно-спиртовими розведеннями активованої потенційованої форми антитіл. Тверда дозована форма може бути представлена в будь-якому вигляді, прийнятому в фармацевтиці, включаючи таблетки, капсули, льодяники, та інші. У якості неактивних фармацевтичних інгредієнтів можна використовувати глюкозу, цукрозу, 15 мальтозу, крохмаль, ізомальтозу, ізомальт та інші моно- оліго- та полісахариди, що використовуються у виготовленні фармацевтичних засобів та технологічних сумішей вищезгаданих неактивних фармацевтичних інгредієнтів з іншими фармацевтично прийнятими наповнювачами, наприклад, ізомальтом, кросповідоном, цикламатом натрію, сахарином натрію, безводною лимонною кислотою, тощо), включаючи жирові речовини, дезинтегранти, сполучні 20 речовини та пігменти. Переважними носіями є лактоза та ізомальт. Фармацевтична дозована форма може також містити стандартні фармацевтичні наповнювачі, наприклад, мікрокристалічну целюлозу, стеарат магнію та лимонну кислоту.

Приклад виготовлення одиничної твердої лікарської форми викладається далі. Для виготовлення твердої форми для перорального введення 100-300 μm гранули лактози 25 обробляються водними або водно-спиртовими розчинами активованої потенційованої форми антитіл до гістаміну, активованої потенційованої форми антитіл до NO-синтази та активованої потенційованої форми антитіл до ендогенної біологічної молекули у відношенні 1 кг розчину антитіла на 5 або 10 кг лактози (1:5 до 1:10). Для ефективності обробки гранули лактози піддаються інтенсивному вимиванню в шарі флюїдизованого матеріалу в установці киплячого 30 шару (наприклад, Huttlin Pilotlab виготовлення Huttlin GmbH) з послідовним висушуванням підігрітим повітряним потоком за температури нижче 40°C. Передбачена кількість висушених гранул (від 10 до 34 вагових частин), насичених активованою потенційованою формою антитіл, поміщається в міксер та змішується з 25-45 ваговими частинами ненасиченої чистої лактози (що використовується з метою зниження собівартості та спрощення і прискорення технологічного 35 процесу без зниження ефективності лікування), разом з 0,1-1 ваговою частиною стеарату магнію, та 3-10 ваговими частинами мікрокристалічної целюлози. Отримана таблеткова маса ретельно перемішується та формується у таблетки прямим сухим пресуванням (наприклад на таблетковому пресі Korsch-XL400), отримуючи в результаті круглі таблетки по 150-500 мг, бажано по 300 мг. Після надання таблеткової форми, отримуються таблетки по 300 мг, насичені 40 водно-спиртовим розчином (3,0-6,0 мг/таблетка) суміші активованої потенційованої форми антитіл. Кожний компонент складу, що використовується для обробки носія, має форму суміші сотенних гомеопатичних розведень, переважно C12, C30 та C200.

Хоча дане відкриття не обмежується жодною конкретною теорією, вважається, що активована потенційована форма антитіл, описаних в даному документі, не містить 45 молекулярної форми антитіла в кількості достатній для біологічної активності, що є характерною для такої молекулярної форми. Біологічна активність засобу (суміші, лікарського засобу) цього винаходу цілком показана в прикладах, що додаються.

З метою лікування, бажано, щоб засіб використовувався від одного разу на добу до чотирьох раз на добу, бажано, двічі на добу по одній або дві одиниці засобу.

50 Винахід проілюстровано викладеними нижче необмежуваними прикладами.

Приклади

Приклад 1

Радіолігандний метод було застосовано для виведення підрахунків протягом дослідження ефекту комплексного препарату, що містить ультра-низькі дози (ULD - Ultralow doses) 55 активованої потенційованої форми поліклональних афінно очищених кролячих антитіл до мозкоспецифічного білка S-100 (анти-S100) та ендотеліальної NO-синтази (анти-eNOS), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового матричного розчину (концентрація: 2,5 мг/мл) (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів), що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200 (співвідношення 1:1) (ULD анти-S100+анти-eNOS); а також його компонентів - 60 активованої потенційованої форми поліклональних очищених афінним шляхом кролячих

антитіл до ультра-низьких доз (ULD) мозкоспецифічного білка S-100 (анти-S100), очищеної антигеном, отриманої шляхом багаторазових розведень початкового матричного розчину (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів, що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200); та активованої потенційованої форми поліклональних кролячих антитіл до ультра-низьких доз ендотеліальної NO-синтази (ULD анти-eNOS), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового матричного розчину (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів), що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200 in vitro, в основі чого лежить зв'язування стандартного ліганда [3H]пентазоцину із рекомбінантним σ 1 рецептором людини. Потенційована дистильована вода (суміш гомеопатичних розведень C12+C30+C200) використовувалася як контроль для тестових препаратів.

Рецептор сігма-1 (σ 1) є внутрішньоклітинним і знаходиться в клітинах центральної нервової системи, клітинах більшості периферійних тканин та клітинах складових імунної системи. Рецептори характеризуються унікальною можливістю бути переміщеними, що відбувається за допомогою багатьох психотропних препаратів. Динаміка рецепторів сігма-1 напряму пов'язана з впливом, який мають різні препарати на рецептори сігма-1. Цим впливом може бути регуляція каналів активності, екзоцитозу, передачі сигналів, модулювання плазмових мембран (формування рафтів) та транспортування/метаболізм ліпідів. Від всього цього може залежати пластичність нейронів в мозку. Є підтвердження тому, що рецептори сігма-1 мають регулюючий вплив на всі більші нейромедіаторні системи: норадренергічну, серотонергічну, допамінергічну, холінергічну системи, а також вплив на NMDA глутамат. Рецептор сігма-1 відіграє важливу роль в патофізіології нейродегенеративних хвороб (наприклад, хворобі Альцгеймера, Паркінсона), психіатричних та афективних розладів і нападів; він також бере участь в процесі навчання та запам'ятовування. В цьому відношенні, здатність препаратів впливати на ефективність взаємодії лігандів з рецептором сігма-1 відображається на наявності нейрозахисних, антиішемічних, седативних, антидепресантних та антиастенічних компонентів в ряді його фармакологічної ефективності, що вказує на можливість використовувати ці ліки як дієвий препарат для лікування саме цереброваскулярних хвороб.

Під час аналізу (на обчислення загального зв'язування) 20 μ л комплексного препарату ULD анти-S100+анти-eNOS або 10 μ л ULD антитіл до S100 або 10 μ л ULD антитіл до NOS були перенесені в середовищі інкубації. Таким чином, кількість ULD анти-S100+анти-eNOS, перенесених в тестову посудину під час тестування комплексного препарату, дорівнювала кількості ULD антитіл до S100 та ULD антитіл до NOS, які аналізувалися як монопрепарати, що дозволяє порівнювати ефективність препарату з ефективністю його окремих складових. 20 μ л та 10 μ л потенційованої води були перенесені в інкубаційне середовище.

Потім, були перенесені 160 μ л (приблизно 200 μ г протеїну) гомогенату мембран клітин лінії Юрката (лейкозна лінія Т-лімфоцитів людини), та, нарешті, 20 μ л радіоліганда [3H]пентазоцину (15 нм), поміченого тритієм.

З метою обчислення неспецифічного зв'язування, в середовищі інкубації замість препаратів або потенційованої води були перенесені 20 μ л неміченого ліганд-галоперидолу.

З метою обчислення радіоактивності використовувався сцинтиляційний лічильник (Topcount, Packard) та сцинтиляційна суміш (Microscint O, Packard) протягом 120 хвилин інкубації за температури 22° в 50мМ буфері Tris-HCl (pH=7,4) та фільтрація з використанням скловолокнистих фільтрів (GF/B, Packard). Специфічне зв'язування (в експерименті або контролі) обчислювалося як різниця між загальним (в експерименті або контролі) та неспецифічним зв'язуванням.

Результати представлені як долі пригнічення специфічного зв'язування в контролі (в якості контролю використовувалася дистильована вода) (Таблиця 1).

Таблиця 1

Тестова група	Кількість на тестову посудину	% специфічного зв'язування радіоліганда під контролем			% пригнічення зв'язування радіоліганда під контролем
		1 тест	2 тест	Середній показник	
ULD анти-S100+анти-eNOS	20μ	48,4	35,5	42,0	58,0
ULD анти-S100	10μ	67,3	63,1	65,2	34,8
ULD анти-eNOS	10μ	147,5	161,1	154,3	-54,3
Потенційована вода	20μ	98,1	75,8	86,9	13,1
Потенційована вода	10μ	140,1	106,2	123,2	-23,2

Вплив препаратів та потенційованої води на зв'язування стандартного ліганда [3H]пентазоцину до рекомбінантного σ 1 рецептора людини

5 Примітка: % специфічного зв'язування під контролем = (специфічне зв'язування під час тестування/специфічне зв'язування під контролем)*100%;

% пригнічення специфічного зв'язування під контролем = 100% - (специфічне зв'язування під час тестування/специфічне зв'язування під контролем)*100%).

10 Результати, що відображають пригнічення вище за 50%, вказуються на значну ефективність аналізованих складових; пригнічення від 25% до 50% вказує на низьку або середню ефективність; пригнічення менше за 25% вважається незначним і розглядається на фоновому рівні.

15 Таким чином, в умовах цього експерименту було доведено, що комплексний препарат ULD анти-S100+анти-eNOS є ефективнішим за його складові (ULD анти-S100 та ULD анти-eNOS) в пригніченні зв'язування стандартного радіоліганда [3H]пентазоцину до рекомбінантного σ 1 рецептора людини; ULD анти-S100, перенесена до тестової посудини, а саме 10 μл, пригнічує зв'язування стандартного радіоліганда [3H]пентазоцину до рекомбінантного σ 1 рецептора людини, але сила цього ефекту є нижчою за силу ефекту від комплексного препарату ULD анти-S100+анти-eNOS; ULD анти-eNOS, перенесена до тестової посудини, а саме 10 μл, не мала жодного ефекту на зв'язування стандартного радіоліганда [3H]пентазоцину до рекомбінантного σ 1 рецептора людини; потенційована вода, перенесена до тестової посудини, а саме 10 μл або 20 μл, не мала жодного ефекту на зв'язування стандартного радіоліганда [3H]пентазоцину до рекомбінантного σ 1 рецептора людини.

Приклад 2

25 Хвороба Альцгеймера є нейродегенеративним захворюванням, яке характеризується зниженням когнітивних функцій, погіршенням пам'яті, сплутаною свідомістю та емоціональними змінами. Хоча зараз причиною цієї патології вважається скупчення бета амілоїдів, що призводять до формування бляшок бета амілоїдів та неврфібрилярних сплетін в тканинах мозку, хвороба Альцгеймера також пов'язана з дефіцитом холінергічної системи. Зазвичай для модулювання хвороби Альцгеймера у тварин використовується антагоніст холінергічної системи скополаміну. Ін'єкція скополаміну лабораторним тваринам (зазвичай щурам та мишам) припиняє здатність до навчання та призводить до порушень пам'яті.

35 Для дослідження когнітивних функцій щурів та мишей були застосовані різні методи, серед них й водяний лабіринт Морріса. Сутність цього експерименту полягає у тому, що тварини випускаються в контейнер з водою з різних боків в вони мають віднайти сховану під водою платформу. Перевагою цього методу є те, що дослідник може слідкувати за процесом навчання тварини (формування ідей про просторове положення платформи незалежно від точки, в яку була поміщена тварина) для оцінки сили пам'яті (для цього експеримент проводиться без платформи).

40 На щурах з скополаміновою амнезією вивчається ефективність лікарського засобу даного винаходу, що містить ультра-низькі дози активованої потенційованої форми поліклональних очищених афінним шляхом кролячих антитіл до мозкоспецифічного білка S-100 (анти-S100) та ендотеліальної NO-синтази (анти-eNOS), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового розчину (концентрація: 2,5 мг/ мл) 100¹², 100³⁰, 100²⁰⁰ разів, що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200 (ULD анти-S100+анти-eNOS).

45 Для дослідження ефективності препарату ULD анти-S100+анти-eNOS на щурах з скополаміновою амнезією (моделлю хвороби Альцгеймера) використовувалися 48 щурів самців

лінії Вістар (вага 180-280г). Протягом 4 днів щурам вводився під шкіру ізотонічний розчин (n=12, інтактний) або скополамін в дозі 0,5 мг/кг (n=36) (амнезія, викликана скополамином). Щури з амнезією, викликаною скополамином, були розділені на три групи, яким внутрішньошлунково протягом 9 днів (4 дні до введення скополаміну, 4 дні під час введення скополаміну та 1 день після останньої ін'єкції скополаміну) вводилися дистильована вода (7,5 мл/кг, n=12, контрольна група 1), або ULD анти-S100 (7,5 мл/кг, n=12, група 2), або ULD анти-S100+анти-eNOS (7,5 мл/кг, n=12, група 3).

Тренувальні сесії водяного лабіринту Морріса проводилися протягом 4 днів введення скополаміну в період 60 хвилин після введення аналізованого препарату та 30 хвилин після введення скополаміну (4 послідовні експерименти з інтервалом в 60 секунд). Лабіринт Морріса - це круглий резервуар (діаметром 150 см, висотою 45 см) на 30 см наповнений водою (26-28°C). На відстані 18 см від краю контейнера схована на 1,5 см під водою платформа (діаметром 15 см). Вода замутнена нетоксичним барвником (наприклад, сухим молоком), через це платформу не видно. Перед кожним експериментом тварина розміщується в лабіринті і однієї з початкових точок, які розташовані на однаковій відстані від платформи, потім тварина відпускається. Вона має віднайти сховану платформу. Якщо тварина не змогла віднайти платформу протягом 120 секунд, вона поміщується на саму платформу і залишається там протягом 60 секунд, після чого експеримент повторюється. Протягом 4-х експериментів в вибіркового порядку тварини почали проходити через лабіринт двічі від кожного початкового пункту. Експеримент було записано на відеоплівку, а потім проаналізовано на предмет відстаней, що були затрачені на пошук платформи в кожному експерименті, та латентного періоду пошуку платформи. На 5 день було проведено тест: платформу було вилучено з лабіринту, а щури вільно плавали в воді протягом 60 секунд. Час, проведений в місті, де раніше була платформа, було зареєстровано.

Введення скополаміну значно погіршало здатність тварин до навчання. В контрольній групі показники часу, витраченого тваринами на пошук платформи, та дистанції, яку долали щури, шукаючи платформу, значно підвищилися (Таблиця 2, 3). Результати експерименту доводять, що пам'ять в тварин контрольної групи погіршилася: тварини цієї групи провели менше часу в місці попереднього розташування платформи, ніж інтактні тварини (Таблиця 4). Введення ULD анти-S100 не призвело до покращення параметрів, що досліджуються (Таблиця 2, 3, 4). Введення ULD анти-S100+анти-eNOS призвело до певного покращення у навчанні, що виявилось в скороченні латентного періоду часу пошуку платформи (Таблиця 2) та пройденої відстані (Таблиця 3) протягом 4 днів дресирування, та до покращення пам'яті, що виявилось в збільшенні часу, проведеного в місці попереднього розташування платформи (Таблиця 4).

Таблиця 2

Латентний період пошуку платформи, сек.

Група	Тренування			
	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день
Інтактний, n=12	54,7±6,2	30,8±2,8	26,9±5,1	20,5±3,6
Контрольований, n=12	100,1±6,8***	92,4±9,3***	81,4±10,7***	77,7±9,4***
ULD анти-S100, n=12	106,8±7,0	99,3±7,8	95,6±9,0	80,4±11,1
ULD анти-S100+анти-eNOS, n=12	94,4±7,2	90,7±8,2	78,3±8,6	60,1±10,2

*** - суттєво відрізняється від інтактного, p<0,05

Таблиця 3

Подолає дистанція для пошуку платформи, см

Група	Тренування			
	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день
Інтактний, n=12	1055,7±94,6	659,5±62,2	564,8±119,3	406,1±61,2
Контрольований, n=12	2587,1±217,2***	2559,6±250,5***	2397,9±312,6	2366,1±293,8***
ULD анти-S100, n=12	2797,2±208,9	2865,2±255,1	2857,0±300,8	2457,4±344,4
ULD анти-S100+анти-eNOS, n=12	2434,3±222,8	2529,9±282,7	2344,2±283,0	1905,1±343,7

*** - суттєво відрізняється від інтактного, p<0,05

Таблиця 4

Час проведений в місці попереднього розташування платформи, сек

Група	Тест		
	0-30 сек,	30-60 сек,	0-60 сек,
Інтактний, n=12	40,8±4,1	36,8±3,6	38,5±2,6
Контрольований, n=12	18,4±2,8***	18,8±1,9***	18,8±1,7
ULD анти-S100, n=12	13,3±2,1	21,5±2,6	17,6±1,3
ULD анти-S100+анти-eNOS, n=12	19,1±4,8	23,8±2,2	21,2±2,5

*** - суттєво відрізняється від інтактного, p<0,05

Таким чином, в моделі хвороби Альцгеймера введення комплексу ULD анти-S100+анти-eNOS було більш ефективним у порівнянні з введенням ULD анти-S100 та розріджувача.

Приклад 3

Метою профілактичних обстежень було дослідити ультра-низькі дози (ULD - Ultralow doses) активованої потенційованої форми поліклональних очищених афінним шляхом кролячих антитіл до мозкоспецифічного білка S-100 (анти-S100) та ендотеліальної NO-синтази (анти-eNOS), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового матричного розчину (концентрація: 2,5 мг/мл) (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів), що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200 (співвідношення 1:1) (ULD анти-S100+анти-eNOS) у лікуванні в щурів ішемічного нападу, викликаного префронтальним цереброкортикальним фототромбозом.

Гостре цереброваскулярне захворювання (мозковий напад) займає третє місце серед причин смертей в розвиненій країнах та вважається однією з головних причин інвалідності в людей (Гусев Е.І., 2003; Janarhan V., Qureshi A.I., 2004).

Модель фототромбозу відповідає майже усім вимогам до експериментальної моделі фокальної церебральної ішемії. Метод, розроблений Ватсоном (Watson B., 1985), полягає у впливі світла з хвилею довжиною 560 нм на світлочутливий пігмент бенгальської троянди, введений в кров. Утворюються активні кисневі форми і призводять до зменшення в'язкості ендотеліальних клітин та тромбоцитів, та до зниження формування бляшок. Метод індукції пошкодження ішемічного мозку шляхом використання фототромбозу технічно простий та є близьким до клінічних форм ішемічних мозкових нападів. Велика перевага цього методу полягає в його безконтактності, тобто він не вимагає краніотомії і таким чином достовірніше передає клінічну картину церебрального тромбозу.

37 щурів самців лінії Вістар (вага: 150-180 г; вік: 2-3 місяці) були залучені до дослідження ефективності ULD анти-S100+анти-eNOS в щурів з ішемічним нападом, викликаним префронтальним цереброкортикальним фототромбозом. Двостороннє фокальне ішемічне пошкодження в префронтальній зоні кори головного мозку було викликано застосуванням методу фотохімічного тромбозу Ватсона (Watson B., 1985), доповненого І.В. Віктровим (Романова Г.А. та інші, 1998). Бенгальська роза (3% розчин) вводився в яремну вену щурів (n=37) під анестезією (анестезія: хлоралгідрат 300 мг/кг, внутрішньочеревно).

За допомогою зв'язки оптичного волокна (3 см в діаметрі) світловий потік від галогенової лампи (24В, 250Вт) було направлено на поверхню черепа над фронтальною зоною кори мозку лівої та правої півкулі з метою викликати фототромбоз. Несправжньооперовані щури (n=6) піддавалися схожій процедурі за виключенням введення бенгальської рози та обробки світлом галогенової лампи. Інтактна група складалася з 6 щурів.

За 5 днів до та 9 днів після початку нападу щурам з фототромбозом були введені такі препарати: дистильована вода (контроль-фототромбоз, 5 мл/кг на день, n=12), ULD анти-S100 (5 мл/кг на день, n=7) або ULD анти-S100+анти-eNOS (5 мл/кг на день, n=6). На 8-й день після операції (або несправжньої операції) було проведено тест умовного рефлексу на пасивне уникання для оцінки здатності щурів до дресировки та стану їхньої пам'яті. Щурів помістили в установку, яка складалася з освітленого місця та сусідньої темної камери, де тварини отримували через лапи удар електричним струмом в 0,45 мА, через що темна камера, якій зазвичай надавалася перевага, стала небезпечною. Наступного дня було проведено тест на розвиток умовного рефлексу на пасивне уникання. Тоді щурів помістили в освітлену камеру. Латентний період першого входу в темну камеру було зареєстровано, що щур довгий час ухилявся від входу до темної камери, це розглядалося як те, що щур пам'ятав про небезпеку (електричний струм). Чим довший період латентного входу до темної камери, тим краще вважалася пам'ять.

Об'єм пошкодження від нападу був морфологічно підрахований у пропорції щурів експериментальних груп на 9-й день.

В щурів контрольної групи фототромбоз призвів до формування великої зони нападу і таким чином став причиною погіршення пам'яті: показники умовного рефлексу на пасивне уникання знизилися на 9,6% порівняно з групою інтактних щурів та на 22% порівняно з несправжньооперованими щурами (Таблиця 5). Введення ULD анти-S100 зменшило об'єм нападу на 42,2% та покращило пам'ять на 14,0% порівняно з контрольною фототромбозною групою. Введення ULD анти-S100+анти-eNOS було ефективнішим: об'єм нападу зменшився на 44,0% та показники умовного рефлексу на пасивне уникання знизилися на 33,4% порівняно з контрольною фототромбозною групою.

Таким чином, введення комплексного препарату ULD анти-S100+анти-eNOS було ефективнішим за введення моно-компонентного препарату ULD анти-S100.

Таблиця 5

	Об'єм фокального нападу (мм ³); кількість тварин	Латентний період (секунди), кількість тварин
Інтактний	-	135,8±28,8; n=6
Несправжньо оперовані	-	159,3±18,7; n=6
Фототромбоз-контрольовані	3,41±0,5; n=9	122,8±20,9; n=12
Фототромбоз+ULD анти-S100	1,97±0,6; n=4	140,0±26,5; n=7
Фототромбоз+ULD анти-S100+анти-eNOS	1,91±0,5; n=4	163,8±16,2; n=6

Приклад 4

Проводилося дослідження комбінованого препарату на основі активованої потенційованої форми антитіл до фрагменту С-терміналу AT1 рецептора ангіотензину 2 в суміші гомеопатичних розведень C12, C30, C200 та активованої потенційованої форми антитіл до ендотеліальної NO-синтази в суміші гомеопатичних розведень C12, C30, C200 на щурах лінії SHR в моделі гіпертонії.

Комбінований препарат на основі активованої потенційованої форми антитіл до фрагменту С-терміналу AT1 рецептора ангіотензину 2 в суміші гомеопатичних розведень C12, C30, C200 та активованої потенційованої форми антитіл до ендотеліальної NO-синтази в суміші гомеопатичних розведень C12, C30, C200 досліджувався в розчинній формі на щурах лінії SHR в моделі гіпертонії. Дослідження проводилися на 40 щурах самцях лінії SHR (вага 350±50 г, вік 4,5-5 місяців) з гіпертонією, яких було розділено на 4 групи по 10 щурів в кожній.

Протягом 28 днів до тварин ставилися наступним чином. Група 1 - 2,5 мл/кг активованої потенційованої форми антитіл до фрагменту С-терміналу AT1 рецептора ангіотензину 2 (суміш водяних розведень C12, C30, C200) разом з 2,5 мл/кг дистильованої води; Група 2 - 2,5 мл/кг активованої потенційованої форми антитіл до ендотеліальної NO-синтази (суміш водяних розведень C12, C30, C200) разом з 2,5 мл/кг дистильованої води; Група 3 - 5 мл/кг комбінованого лікарського засобу (суміш водяних розведень C12, C30, C200 для кожного компоненту); Група 4 - 5 мл/кг дистильованої води.

Систолічний артеріальний тиск (САТ) в активних щурів вимірювався непрямим методом в хвостовій артерії (використовуючи манжету) один раз на тиждень та через 9 годин після останнього введення препарату.

Дослідженні препарати виявили гіпотензивний ефект ($p<0,05$): до 28-го дня систолічний артеріальний тиск (САТ) зменшився у порівнянні з початковими показниками в Групі 1 на 20,6%; в Групі 2 на 14,4%, в Групі 3 на 27,6%. В контрольній Групі 4 САТ змінився лише на 1,6% у порівнянні з початковими значеннями. Результати показали чіткий синергічний ефект комбінованого препарату.

Приклад 5

Проводилося дослідження комбінованого препарату на основі активованої потенційованої форми антитіл до фрагменту С-терміналу AT1 рецептора ангіотензину 2 в суміші гомеопатичних розведень C12, C30, C200 та активованої потенційованої форми антитіл до ендотеліальної NO-синтази в суміші гомеопатичних розведень C12, C30, C200 на щурах лінії NISAG в моделі гіпертонії.

Комбінований препарат на основі активованої потенційованої форми антитіл до фрагменту С-терміналу AT1 рецептора ангіотензину 2 в суміші гомеопатичних розведень C12, C30, C200 та активованої потенційованої форми антитіл до ендотеліальної NO-синтази в суміші

гомеопатичних розведень С12, С30, С200 досліджувався в розчинній формі на щурах лінії NISAG в моделі гіпертонії. Дослідження проводилося на 50 щурах самців лінії NISAG (вага: 300г, вік: 4 місяці) з спадково-індукованою стресом артеріальною гіпертензією, яких було розділено на 5 груп по 10 тварин в кожній.

- 5 Протягом 28 днів один раз на день щурам пероральним шляхом вводилися такі медикаменти: Група 1 - 2,5 мл/кг активованої потенційованої форми антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину 2 (суміш водяних розведень С12, С30, С200) разом з 2,5 мл/кг дистильованої води; Група 2 - 2,5 мл/кг активованої потенційованої форми антитіл до ендотеліальної NO-синтази (суміш водяних розведень С12, С30, С200) разом з 2,5 мл/кг дистильованої води; Група 3 - 5 мл/кг комбінованого лікарського засобу (суміш водяних розведень С12, С30, С200 для кожного компоненту); Група 4 - 5 мл/кг (доза 10 мл/кг) порівняного медикаменту (лозартан); Група 5 - 5 мл/кг дистильованої води.

- 10 Двічі на тиждень через 2-6 години після введення VSD антитіл та лозартану непрямим методом в хвостовій артерії (використовуючи манжету) вимірювався систолічний артеріальний тиск (САТ). В Таблиці 6 відображається динаміка змін в систолічному артеріальному тиску в щурів лінії NISAG, виміряному непрямим методом.

Таблиця 6

Індикатор	Початковий САТ в мм рт. ст.	САТ після 28 днів введення препарату в мм рт. ст.	Δ у порівняння з початковим рівнем. в мм рт. ст.	% початкового рівня
VSD антитіла до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину-2 людини	176	150	-26	-14,7%
VSD антитіла до ендотеліальної NO-синтази	175	164,5	-10,5	-6%
Комбінований препарат на основі VSD антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину та до ендотеліальної NO-синтази	179,5	140	-39,5	-22%
Лозартан	173,5	140,5	-33	-19%
Контроль (дистильована вода)	181	178	-3	-1,6%

Приклад 6

- 20 Метою експериментального дослідження було вивчення ефекту антитіл до фрагменту С-терміналу до інсулінового рецептора β -ланцюга, очищених афінним шляхом на антигені в ультра-низькій дозі, отриманих багаторазовим розведенням початкового матричного розчину 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів (ULD анти-IR); антитіл до ендотеліальної NO-синтази, очищених афінним шляхом на антигені в ультра-низькій дозі, отриманих багаторазовим розведенням

- 25 початкового матричного розчину 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів (ULD анти-eNOS); а також суміші ультра низьких доз антитіл до фрагменту С-терміналу до інсулінового рецептора β -ланцюжка та ультра низьких доз антитіл до ендотеліальної NO-синтази (ULD анти-IR+анти-eNOS).
У дослідженні брали участь 150 щурів самців лінії Вістар (вага на початку дослідження: 250-300г, вік: 3,5-4 місяці), 10 щурів були інтактними. Решті внутрішньовенним шляхом вводився стрептозотцин в дозі 50 мл/кг (експериментальна модель цукрового діабету). Через 72 години після введення стрептозотцину були вибрані щури з рівнем глюкози в плазмі крові не менше за 12 ммоль/л. Вони були розділені на 7 груп (по 20 тварин в кожній), яким протягом 21 дня вводилися дистильована вода (5 мл/кг/день, один раз на день внутрішньочеревно), Інсулін® (8 кубиків/кг/день, підшкірно), Росиглітазон® (8 мг/кг/день, двічі на день внутрішньочеревно), ULD анти-IR (2,5 мл/кг/день в об'ємі 5 мл/кг/день, один раз на день внутрішньочеревно), ULD анти-IR+анти-eNOS (5 мл/кг/день, один раз на день внутрішньочеревно), а також Росиглітазон® та Інсулін® разом або ULD анти-IR+анти-eNOS та Інсулін®, відповідно до режиму прийому кожного препарату (як зазначено вище). Інтактним тваринам вводилася дистильована вода в тому самому об'ємі. На 7-й, 14-й та 21-й день введення препаратів щурам рівень глюкози в плазмі крові вимірювався натщесерце ензиматичним методом (метод оксидази глюкози) з застосуванням наборів «Глюкоза-ФДК» (Росія).

Пероральний тест на толерантність до глюкози було проведено на 14-й день дослідження

(14-й день введення препарату) відповідно до стандартного методу (Дю Віньо та Карп, 1925). Щурам не давалася вода протягом 18 годин. За 60 хвилин до тесту їм були дані тестові речовини. Інтактні щури отримали дистильовану воду у тому самому об'ємі. Глюкозу було введено перорально у вигляді 50% водяного глюкозного розчину у ваговому відношенні (1 г/кг ваги щура). Глюкоза сироватки зразка крові вимірюлася з застосуванням наборів «Глюкоза-ФДК» (ООО «Фармацевтична та клінічна діагностика», Росія, www.fdk.ru) на 0, 30, 60, 90, 120 хв. Середня площа під кривою концентрація глюкози в крові - час була обчислена.

Введення стрептозотоцину призвело до значного підвищення рівня глюкози в плазмі крові щурів у порівнянні з інтактними тваринами (18 ммоль/л у порівнянні з 3,5 ммоль/л, $p < 0,05$). В групі ULD анти-IR на 7, 14 та 21 день введення препарату рівень глюкози був нижчим за рівень в контрольній групі в середньому на 22-28%; однак ця різниця не досягала статистично значного рівня. Суміш ULD анти-IR+анти-eNOS була більш ефективною; на 14 та 21 день експерименту рівень глюкози зменшився відповідно на 47% 42% ($p < 0,05$ у порівнянні з контрольною групою). Еталонний препарат Росиглітазон також впливав на зниження рівня глюкози к 14 та 21 дню експерименту; в цьому випадку ефект від препарату досяг статистично значного рівня лише на 14 день експерименту (36%, $p < 0,05$ у порівнянні з контрольною групою).

Інсулін, введений на 1/2 від ефективної дози (вибраної у початковому дослідженні), найефективніше сприяв зменшенню рівня глюкози за період нагляду (до рівня інтактною контрольною групою). (Фіг.1). Треба взяти до уваги, що в експерименті використовувався короткочасний інсулін, а рівень глюкози в плазмі крові вимірювався через 1 годину після його введення, що також вплинуло на ефект від 1/2 дози інсуліну на рівень глюкози в крові. В таких умовах не можливо було цілком визначити ефект комбінованого застосування інсуліну та росиглітазону або інсуліну та комплексу ULD анти-IR+анти-eNOS.

Порушення толерантності до глюкози (зменшення використання глюкози організмом) є одним з найголовніших факторів в діагностиці та лікуванні цукрового діабету. В інтактних тварин пероральний тест на толерантність до глюкози (14-й день введення препарату) показав, що комплексний препарат ULD анти-IR+анти-eNOS та інсулін найефективніше підвищили толерантність до глюкози при окремому їх застосуванні. Росиглітазон також призвів до зменшення кривої площі концентрації - часу (підвищив толерантність до глюкози); однак, його ефективність не була статистично значною у порівнянні з контрольною групою (Фіг. 2).

Приклад 7

Метою експериментального дослідження було вивчення ефекту антитіл до фрагменту С-терміналу до інсулінового рецептора β -ланцюжка, очищених афінним шляхом на антигені в ультра-низькій дозі, отриманих багаторазовим розведенням початкового матричного розчину 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів (ULD анти-IR); антитіл до ендотеліальної NO-синтази, очищених афінним шляхом на антигені в ультра-низькій дозі, отриманих багаторазовим розведенням початкового матричного розчину 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів (ULD анти-eNOS); а також суміші ультра низьких доз антитіл до фрагменту С-терміналу до інсулінового рецептора β -ланцюжка та ультра низьких доз антитіл до ендотеліальної NO-синтази (ULD анти-IR+анти-eNOS).

Дослідження проводилося на 36 щурам самцях лінії Goto-Kakizaki (вага на початку дослідження: 250-280 г, вік: 10-12 тижнів). Щури цієї лінії характеризуються спонтанним розвитком не інсулінозалежного діабету. Тварин було розділено на 3 групи (по 12 щурів в кожній). Протягом 28 днів їм вводилася або дистильована вода (5 мл/кг, один раз на день внутрішньочеревно), або ULD анти-IR (2,5 мл/кг, один раз на день внутрішньочеревно), або ULD анти-IR+анти-eNOS (5 мл/кг, один раз на день внутрішньочеревно). Рівень глюкози в плазмі крові вимірювався за допомогою аналізатора глюкози (Beckman, Fullerton, Каліфорнія, США) перед початком ін'єкцій препарату та на 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28 день ін'єкцій препарату. На 28 день було проведено тест на толерантність до глюкози (глюкоза, перорально, 1 г/кг).

Введення ULD анти-IR призвело до значного ($p < 0,05$) зниження рівня глюкози в плазмі крові в щурів; однак, застосування комплексу ULD анти-IR+анти-eNOS було більш ефективним ($p < 0,01$ у порівнянні з контрольною групою) (Фіг. 3).

Результати було підтверджено даними тесту на толерантність до глюкози, проведеного на 28 день введення препарату (Фіг. 4). Введення ULD анти-IR призвело до підвищення толерантності до глюкози (статистично незначний спад кривої площі концентрації - часу на 44% у порівнянні з контрольною групою). В той ж самий час, зниження в цьому параметрі кривої площі концентрації - часу, викликане введенням комплексу ULD анти-IR+анти-eNOS, склало 62%, що є статистично значним у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$).

Приклад 8

Були використані такі медикаменти: 300 мг таблеток, оброблених водно-спиртовим розчином (3 мг/таб.) активованої потенційованої форми поліклональних кролячих антитіл до

мозкоспецифічного білка S-100, очищеної на антигені, в ультра низьких дозах (ULD анти-S100), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового розчину (концентрація: 2,5 мг/ мл) в 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів, що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200; 300 мг таблеток, оброблених лікарським засобом, що містить водно-спиртовий розчин (6 мг/таб.) активованої потенційованої форми поліклональних очищених афінним шляхом кролячих антитіл до мозкоспецифічного білка S-100 (анти-S100) та до eNOS (анти-eNOS) в ультра низьких дозах (ULD), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового розчину (концентрація: 2,5 мг/ мл) в 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів, що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200; (ULD анти-S100+анти-eNOS); 300 мг таблеток, оброблених водно-спиртовим розчином (3 мг/таб.) активованої потенційованої форми поліклональних кролячих антитіл до eNOS, очищеної на антигені, в ультра низьких дозах (ULD анти-eNOS), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового розчину (концентрація: 2,5 мг/ мл) в 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів, що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200; та в якості плацебо 300 мг таблеток, що містять наповнювачі: лактозу (моногідрат лактози) - 267 мг, мікрокристалічну целюлозу - 30 мг, стеарат магнезії - 3 мг.

Ефективність досліджених медикаментів в лікуванні запаморочення та інших симптомів локомоційної хвороби вимірювалася в моделі кінетозу або локомоційної хвороби, що виявляється в різних вестибулярних вегетативних порушеннях. Запаморочення є типовим симптомом пошкодження вестибулярного аналізатора різних походжень, включаючи дисфункцію вестибулярного нерва та кохлеарної системи, порушення кровообігу в хреботно-базиллярній системі, патологію центральної нервової системи (ЦНС), тощо. Запаморочення як прояв кінетозу супроводжується і іншими вестибулярними вегетативними порушеннями, що включають три типи реакцій: вестибулярно-моторну (ністагм та реакція відхилення), вестибулярно-сенсорну (додатково до запаморочення, ністагм (пост ністагм), захисні рухи) та вегетативні (нудота, блювота, потовиділення, прискорене серцебиття, температура, перемінність пульсу та кров'яного тиску).

Було проведено подвійне сліпе плацебо-кероване дослідження в паралельних групах по 15 соматично здорових суб'єктів - чоловіків та жінок віком від 15 до 60 років (середній вік: $33,3 \pm 0,75$ років) з низьким ($n=5$; 33%) або середнім ($n=10$; 67%) рівнем резистентності до локомоційної хвороби з метою дослідити якості різних препаратів, призначених проти локомоційної хвороби. Групі 1 було призначено ULD анти-S100+анти-eNOS, Групі 2 було призначено ULD анти-S100 та Групі 3 було призначено анти-eNOS.

Для відтворення умов локомоційної хвороби та оцінки ефективності досліджених препаратів були обрані найбільш підходящі та визнані моделі кінетозу - тест з тривалим кумулятивним ефектом акселерацій Коріоліса (CCEAC). На початку толерантність по тесту CCEAC в кожного суб'єкта була не більше 5 хвилин. Вестибулярно-вегетативні порушення, викликані кінетичним ефектом, були зареєстровані за допомоги комплексу діагностичних методів включаючи огляд суб'єктів, кількісну оцінку порушень вестибулярно-вегетативної чутливості (шкала Халле), аналіз частоти серцевих скорочень (СС), та самооцінка функціонального стану (самопочуття - активність - настрої). Критеріями ефективності проведеного лікування були визнані динаміка толерантності та тривалість періоду одужання під кінетичним впливом, а також переміна виявів індексів сенсомоторних реакцій (ністагм), індексів СС (з використанням системи Bioson Wellness Scan, розробленої AWS, LLC згідно з Міжнародним стандартом Європейської асоціації кардіологів та з Північноамериканською електрофізіологічною асоціацією) та дані по критеріям самопочуття - активність - настрої. Критерієм безпеки виступали характер, прояв та умови появи негативних явищ (АЕ) в період лікування, пов'язаний з прийомом препарату; вплив досліджених препаратів на індекси, що характеризують функціонування центральної нервової системи (ЦНС) (реакції на рухомі об'єкти), час простої моторної реакції; динаміка фізичних та функціональних факторів (серцеві скорочення (СС)), систолічний та діастолічний артеріальний тиск (САТ, ДАТ), тест Штанге; толерантність до вправ (індекс Гарвардського степ-тесту). Безпечність була оцінена після прийому однієї дози та після 7-денного курсу приймання суміші ULD анти-S100 та ULD анти-eNOS.

Протягом 1 місяця перед участю у дослідженні всі його суб'єкти не приймали жодних інших ліків. Після скринінгу всі суб'єкти були розділені на 4 групи (Група 1 - ULD анти-S100+анти-eNOS, Група 2 - ULD анти-S100, Група 3 - ULD анти-eNOS, Група 4 - плацебо).

В перший день дослідження (1 навідування) був зареєстрований початковий функціональний та психофізіологічний стан суб'єктів, суб'єктам було дано по 5 таблеток відповідних ULD антитіл з послідовним проведенням тесту CCEAC. Була зареєстрована тривалість тесту; вегетативно-вестибулярні порушення та негативні явища, пов'язані з

локомоційною хворобою, були виявлені за допомогою комплексного діагностичного огляду. Протягом наступних 2-6 днів суб'єктам було прописано по 1 таблетці певного медикаменту тричі на день. На 7-й день (2 навідування) суб'єкти отримали ту ж саму дозу, що й в перше навідування. Комплексний діагностичний огляд було проведено до та після тесту ССЕАС.

Завдяки специфічній організації дослідження команда дослідників працювала лише з одним суб'єктом. Дослідження було паралельним і воно проводилося в першій половині дня за участі як правило 4 осіб в день, по одній особі на медикамент або плацебо. Наступні 3 тижні були періодом промивання, наприкінці якого пацієнтам нижньої групи був прописаний інший медикамент або плацебо; цикл дослідження повторювався (1 навідування, курс прийому засобу; 2 навідування). Таким чином, протягом дослідження кожний суб'єкт взяв участь в усіх чотирьох циклах дослідження. Тобто, кожний суб'єкт взяв участь в кожній групі з тритижневим періодом промивання між циклами. Це дозволило дослідникам зрівняти вплив індивідуальних особливостей суб'єкта на ефективність лікування. Аналіз ефективності медикаментів був виконаний на основі даних від усіх суб'єктів, що пройшли повний курс прийому досліджуваного препарату згідно з протоколом дослідження (n=15).

Фактори прояву симптомів локомоційної хвороби (запаморочення, нудота, пасивність, бліда шкіра, потовиділення, тощо) після кінетичного впливу (ССЕАС) на фоні одиничного прийому досліджуваного медикаменту показали, що в усіх суб'єктах був приблизно однаковий стан локомоційної хвороби, якщо брати до уваги, що прояви зареєстрованих дослідниками симптомів вегетативної дисфункції по шкалі Халле не відрізнялися суттєво в усіх групах (Таблиця 7, 1 навідування). Однак, кінетичний ефект, що викликає схожі симптоми локомоційної хвороби, був різним в чотирьох групах та залежав від медикаменту, який приймався суб'єктами дослідження (Таблиця 8, 1 навідування). Одноденний прийом препарату ULD анти-S100+анти-eNOS показав ефект, спрямований проти локомоційної хвороби, що виявлялося не тільки в значно більшому часі толерантності по тесту ССЕАС ($10,04 \pm 13,14$ сек порівняно з $68,50 \pm 6,57$ сек - в групі ULD анти-S100; $75,00 \pm 6,79$ сек в групі ULD анти-eNOS та $61,30 \pm 3,15$ сек - в групі плацебо), а також в меншому часі ністагму ($9,90 \pm 1,20$ сек порівняно з $13,50 \pm 1,51$; $16,10 \pm 1,68$ та $13,30 \pm 1,12$ сек відповідно) та в максимально швидкому одужанні ($96,90 \pm 13,54$ сек порівняно з $194,20 \pm 18,45$; $202,50 \pm 21,72$ та $241,70 \pm 38,41$ сек відповідно).

Приблизно однакові індекси було зареєстровано в 2 навідуванні після того, як було пройдено курс прийому медикаментів. Щоб отримати схожі симптоми локомоційної хвороби (Таблиця 7, 2 навідування) найдовший кінетичний вплив був на суб'єктах, що приймали суміш ULD анти-S100+анти-eNOS (Таблиця 8, 2 навідування) протягом 7 днів. Найвиразніший ефект проти локомоційної хвороби суміші ULD анти-S100+анти-eNOS виявився в значно меншому часі ністагму ($9,50 \pm 1,38$, $p < 0,01$) та тривалості періоду одужання ($117,90 \pm 15,65$ сек; $p < 0,01$). Монокомпонентний препарат ULD анти-S100 показав кращі індекси толерантності по тесту ССЕАС, часу відновлення ністагму та часу одужання, ніж група плацебо (Таблиця 8, 1 та 2 навідування), але ефективність ULD анти-S100 була нижчою за суміш ULD анти-S100+анти-eNOS. Монокомпонентний препарат ULD анти-eNOS не показав жодних індексів ефекту проти локомоційної хвороби, оскільки результати тесту ССЕАС та послідовний період відновлення не відрізнялися суттєво від групи плацебо (Таблиця 8, 1 та 2 навідування). Порівняльний аналіз індексів тесту ССЕАС в групах ULD анти-S100+анти-eNOS та ULD анти-S100 за один день прийому медикаменту показав, що додавання ULD анти-eNOS підвищує толерантність кінетичного ефекту на 52%, зменшує час ністагму на 27% та сприяє скороченню періоду відновлення після закінчення кінетичного ефекту на 50% включаючи тривалість запаморочення - на 49%. Однак, найбільшим чином компонент ULD анти-eNOS посприяв ефективності комплексного препарату (суміші ULD анти-S100+анти-eNOS) в курсі прийому цього медикаменту, що виявилось в 30% отриманого результату в групі ULD анти-S100 факторами толерантності кінетичного ефекту та тривалості ністагму (по кожному з параметрів). На додаток, збільшення ефекту під час 2 навідування по індексам толерантності за тестом ССЕАС та тривалості ністагму у відношенні до даних з 1 навідування після прийому комплексного препарату ULD анти-S100+анти-eNOS у порівнянні з монокомпонентним препаратом ULD анти-S100 виявилось в більшій мірі, що підтверджується змінами цих індексів на 30% та 4% (у порівнянні з 21% та 0% в групі ULD анти-S100). В оцінюванні ефективності препаратів особлива увага була звернена на можливий вплив медикаментів на стабільність автономної нервової системи (АНС) зокрема, зсув балансу між її симпатичними та парасимпатичними секціями. З цією метою в кожне з відвідувань були проаналізовані параметри мінливості СС в стані спокою та під час виконання функціональних тестів (дихання та ортостатичні проби).

Таблиця 7

Індекси шкали Халле в залежності від застосованого препарату після проведення аналізу на ССЕАС

Препарат	Шкала Халле (бали)	
	1 навідування (прийом на день) (n=15: M±SE)	2 навідування (прийом протягом курсу) (n=15: M±SE)
ULD анти-S100+анти-eNOS	12,00±0,63	12,30±0,59
ULD анти-S100	13,30±0,65	12,30±0,46
ULD анти-eNOS	13,10±0,78	12,00±0,55
Плацебо	13,40±0,77	13,30±0,45

Таблиця 8

Динаміка індексів аналізу на ССЕАС в залежності від застосованого препарату

Препарат	1 навідування (прийом на день)		
	Тривалість аналізу на ССЕАС, сек, (n=15: M±SD)	Період ністагму, сек, (n=15: M±SD)	Період відновлення, сек, (n=15: M±SD)
ULD анти-S100+анти-eNOS	104,410±13,14**	9,90±1,20	96,90±13,54***
ULD анти-S100	68,50±6,57 ^x	13,50±1,51	194,20±18,45 ^{xxx}
ULD анти-eNOS	75,00±6,79	16,10±1,68	202,50±21,72 ^{xxx}
Плацебо	61,30±3,15	13,30±1,12	241,70±38,41
Значення p за критерієм Краскела-Уолліса ¹	0,0182	0,0658	0,0001
2 навідування (прийом протягом курсу)			
ULD анти-S100+анти-eNOS	134,70±20,24**	9,50±1,38**	117,90±15,65**
ULD анти-S100	82,70±10,33	13,50±1,69	167,50±14,72 ^x
ULD анти-eNOS	74,30±9,49 ^x	17,30±2,40 ^{xxx}	209,20±21,62 ^{xx}
Плацебо	63,70±3,91	15,00±1,47	199,60±31,19
Значення p за критерієм Краскела-Уолліса ¹	0,0341	0,0244	0,0061

Примітки:

- 5 ¹ для виявлення суттєвої різниці між групами застосовувався критерій Краскела-Уолліса. Якщо результат аналізу показував суттєву різницю значенням $p < 0,05$ при порівнянні груп між собою, застосовувався критерій Манна-Уїтні.

* суттєва різниця у порівнянні з плацебо, $p < 0,05$;

** суттєва різниця у порівнянні з плацебо, $p < 0,01$;

- 10 *** суттєва різниця у порівнянні з плацебо, $p < 0,001$.

^x суттєва різниця у порівнянні з ULD анти-S100+анти-eNOS, $p < 0,05$;

^{xx} суттєва різниця у порівнянні з ULD анти-S100+анти-eNOS, $p < 0,01$;

^{xxx} суттєва різниця у порівнянні з ULD анти-S100+анти-eNOS, $p < 0,001$.

- 15 Аналіз мінливості СС у стані спокою (в положенні сидячи) перед та після аналізу на ССЕАС (Таблиця 9) виявив, що у суб'єктів, які приймали досліджувані препарати, спостерігалася тенденція до підвищеного рівня SDNN, що вказувало на підвищення в мінливості СС через парасимпатичний вплив на серцевий ритм. У відповідь на кінетичний ефект в усіх групах показники RMS-SD підвищилися, що свідчило про активність парасимпатичних компонентів автономної регуляції. В групах, які приймали суміш ULD анти-S100+анти-eNOS та ULD анти-S100, результати показали підвищення в HF, що в свою чергу вказувало на зсув у балансі вегетативної нервової системи в бік парасимпатичного відділу. Таким чином, після проведення аналізу на ССЕАС в усіх групах спостерігалася збільшення парасимпатичного ефекту на частоту СС.

25

Таблиця 9

Параметри мінливості серцевих скорочень в пацієнтів під наглядом в стані спокою до та після кінетичних дій

Параметр	1 навідування (прийом на день)		2 навідування (прийом протягом курсу)	
	Після прийому препарату	Після аналізу на ССЕАС	Після прийому препарату	Після аналізу на ССЕАС
Група ULD анти-S100+анти-eNOS (M±SD)				
SDNN, мс	57,7±5,51	68,2±7,42	59,4±5,03	65,6±4,66
RMSSD, мс	43,1±6,77	51,4±9,22	47,0±6,21	47,6±5,33
TP, мс ²	979,0±186,06	1678,3±397,11#	1067,2±167,2	1381,0±166,30
LF, мс ²	437,5±709,6	709,6±178,72	391,9±75,61	588,5±87,48
HF, мс ²	171,5±51,08	228,4±76,79	206,5±58,32	218,5±43,96
LF/HF	4,2±0,82	4,9±0,83	3,3±0,83	4,2±0,91
Група ULD анти-S100 (M±SD)				
SDNN, мс	60,9±4,62	70,9±5,90	59,1±4,80	68,8±4,87
RMSSD, мс	44,3±5,39	50,6±6,56	42,4±4,63	47,8±5,57
TP, мс ²	832,2±124,93*	1342,8±217,09	841,4±149,93	1288,0±163,52#
LF, мс ²	315,2±52,38*	550,9±72,44#	313,6±66,71	540,7±87,57#
HF, мс ²	151,4±41,19	247,0±69,53#	138,3±38,42	187,1±39,80
LF/HF	3,0±0,54	4,0±0,72	2,8±0,53	4,0±0,52
Група анти-eNOS (M±SD)				
SDNN, мс	67,4±7,73	78,6±14	65,8±8,68	69,0±5,23
RMSSD, мс	53,0±8,86	58,4±7,68	59,6±12,45	52,2±5,30
TP, мс ²	1307,8±324,24	1841,1±359,79#	1232,3±292,51	1275,4±172,47
LF, мс ²	576,5±167,07	849,9±194,2#	527,2±167,07	562,1±89,38
HF, мс ²	313,3±13,90	285,3±65,92	218,9±74,78	216,3±63,72
LF/HF	3,6±0,87	3,9±0,82	3,7±1,14	3,8±0,58
Група плацебо (M±SD)				
SDNN, мс	64,6±6,10	75,7±6,42	61,1±6,72	70,8±6,79
RMSSD, мс	50,9±7,74	53,1±6,62	44,6±6,63	44,3±5,31
TP, мс ²	1062,2±150,02	1917,8±318,96#	898,8±169,62	1418,5±227,59#
LF, мс ²	440,6±77,30	832,4±181,15	334,8±75,94	611,4±113,64#
HF, мс ²	253,9±59,95	266,7±61,94	166,0±48,14	174,1±44,96
LF/HF	3,4±0,72	5,0±1,33	3,4±0,93	4,8±0,83

Примітка:

* суттєва різниця у порівнянні з плацебо, $p \leq 0,05$;

суттєва різниця у порівнянні з вихідними параметрами, $p \leq 0,05$.

5

10

Аналіз мінливості СС в рухомому стані показав, що один день прийому препарату ULD анти-S100+анти-eNOS підвищував час відповіді ($13,9 \pm 1,14$; $p \leq 0,05$) та час стабілізації ($24,2 \pm 1,28$; $p \leq 0,05$) у порівнянні з групами ULD анти-S100 та плацебо. Ті ж самі фактори перевищили значення в групі плацебо, та після виконання кінетичних дій, які показали позитивний ефект комплексного препарату на відповідь АНС (підвищилася толерантність до змін у положенні тіла). Найменша різниця між максимальним та мінімальним показником серцевого ритму під час тесту на дихання підтвердила кращий баланс двох відділів АНС після того, як пацієнти приймали одноденну дозу препарату ULD анти-S100+анти-eNOS ($25,1 \pm 2,66$ ударів/хв, $p \leq 0,05$). Наприкінці тижня курсу лікування стабілізуючий ефект на баланс АНС після тесту ССЕАС

(разом з тестом на дихання та ортостатичною пробою) також відзначався в групі, де приймався препарат ULD анти-S100+анти-eNOS (Таблиця 10 та 11).

Таблиця 10

Параметри мінливості серцевих скорочень в пацієнтів під наглядом під час ортостатичної проби до та після кінетичних дій

Параметр	1 навідування (прийом на день)		2 навідування (прийом протягом курсу)	
	Після прийому препарату	Після аналізу на CCEAC	Після прийому препарату	Після аналізу на CCEAC
Група ULD анти-S100+анти-eNOS (M±SD)				
Відповідь на вправи	1,30±0,06	1,40±0,04	1,30±0,06	1,40±0,06
Час відповіді, сек	13,9±1,14*х	12,7±1,24*	11,8±0,57	11,7±1,09
Час стабілізації, сек	24,2±1,28*х	21,9±1,44*	20,6±0,74	22,4±1,44*х
Група ULD анти-S100 (M±SD)				
Відповідь на вправи	1,40±0,04	1,30±0,04	1,30±0,04	1,30±0,05
Час відповіді, сек	7,60±1,05	10,6±1,55	9,7±1,21	10,0±1,73
Час стабілізації, сек	15,1±1,16*	18,3±1,43	18,0±1,18	18,0±1,80
Група анти-eNOS (M±SD)				
Відповідь на вправи	1,30±0,04	1,30±0,04	1,50±0,12	1,30±0,04
Час відповіді, сек	8,20±0,94	9,10±1,12	9,2±0,77	8,3±0,70
Час стабілізації, сек	16,5±1,02	17,1±1,33	19,0±2,04	16,7±0,98
Група плацебо (M±SD)				
Відповідь на вправи	1,30±0,04	1,30±0,04	1,40±0,06	1,30±0,06
Час відповіді, сек	9,5±1,28	8,1±0,90	10,4±1,58	8,8±1,09
Час стабілізації, сек	18,3±0,94	16,8±1,09	18,0±1,37	16,5±1,11

5

Примітка:

* суттєва різниця у порівнянні з плацебо, $p \leq 0,05$;

* суттєва різниця у порівнянні з ULD анти-S100, $p \leq 0,05$.

Таблиця 11

Параметри мінливості серцевих скорочень в пацієнтів під наглядом під час перевірки дихання до та після кінетичних дій

Параметр	1 навідування (прийом на день)		2 навідування (прийом протягом курсу)	
	Після прийому препарату	Після аналізу на ССЕАС	Після прийому препарату	Після аналізу на ССЕАС
Група ULD анти-S100+анти-eNOS (M±SD)				
Взаємозв'язок максимальні СС/ мінімальні СС	1,5±0,05*	1,5±0,06	1,5±0,05	1,5±0,05
Різниця максимальні СС - мінімальні СС, ударів/хв	25,1±2,66*	26,5±2,77	26,5±2,37	24,9±2,24*
Група ULD анти-S100 (M±SD)				
Взаємозв'язок максимальні СС/ мінімальні СС	1,5±0,06	1,6±0,05	1,5±0,04	1,6±0,06
Різниця максимальні СС - мінімальні СС, ударів/хв	27,7±2,68	27,2±2,40	25,7±2,24	26,9±2,67
Група анти-eNOS (M±SD)				
Взаємозв'язок максимальні СС/ мінімальні СС	1,5±0,05	1,5±0,04	1,5±0,06	1,6±0,05
Різниця максимальні СС - мінімальні СС, ударів/хв	26,7±2,44	26,2±2,04	27,7±2,47	27,3±2,12
Група плацебо (M±SD)				
Взаємозв'язок максимальні СС/ мінімальні СС	1,6±0,07	1,6±0,06	1,5±0,05	1,6±0,05
Різниця максимальні СС - мінімальні СС, ударів/хв	31,2±3,06	28,2±2,50	27,7±2,37	29,2±2,44

Примітка:

* суттєва різниця у порівнянні з плацебо, $p \leq 0,05$.

5

Результати самооцінки функціонального стану (самопочуття - активність - настрої) суб'єктів, що проводилася між учасниками дослідження після симуляції локомоційної хвороби (тест ССЕАС) на початку та наприкінці лікування, показали, що суб'єкти у всіх групах поставили «середні» бали за кожний з параметрів (Таблиця 12). Таким чином, на фоні приймання ліків толерантність за тестом ССЕАС була задовільною. Найвищі показники росту у порівнянні з даними, отриманими від групи плацебо наприкінці 7-го дня приймання ліків (більше 10%), спостерігалися в групі, де приймався препарат ULD анти-S100+анти-eNOS.

10

Таблиця 12

Динаміка параметрів самооцінки стану функціонування (самопочуття - активність - настрої) в пацієнтів під наглядом

Параметр	1 навідування (прийом на день)	2 навідування (прийом протягом курсу)
Група ULD анти-S100+анти-eNOS (M±SD)		
Самопочуття	4,3±0,26	4,6±0,27
Активність	4,2±0,20	4,2±0,22
Настрій	5,0±0,16	5,2±0,13
Група ULD анти-S100 (M±SD)		
Самопочуття	3,7±0,21	4,3±0,22
Активність	3,6±0,17	4,0±0,19
Настрій	4,5±0,16	4,9±0,19
Група анти-eNOS (M±SD)		
Самопочуття	3,9±0,25	4,1±0,26
Активність	3,8±0,25	3,9±0,23
Настрій	4,4±0,19	4,6±0,19
Група плацебо (M±SD)		
Самопочуття	4,0±0,24	4,0±0,24
Активність	3,8±0,20	3,7±0,26
Настрій	4,3±0,20	4,7±0,24

Аналіз на безпеку брав до уваги всі дані, отримані від усіх суб'єктів дослідження. Протягом періоду обстеження спостерігалася добра толерантність до досліджуваних препаратів. Не було зареєстровано жодного негативного явища, пов'язаного з прийомом препаратів. Всі суб'єкти досліджуваних груп пройшли курс лікування в установленому протоколом порядку; не було людей, які передчасно вийшли б з дослідження.

Відповідно до результатів фізичного дослідження, включаючи показники частоти СС, САТ та ДАТ, а також відповідно до даних Гарвардського степ-тесту не було зареєстровано жодних відхилень в пацієнтів протягом дослідження (Таблиця 13). Всі виявлені зміни не виходили за межі нормальних показників. В такому випадку, суб'єктивно було зроблено висновок про задовільне самопочуття усіх суб'єктів.

Таблиця 13

Динаміка фізичних параметрів та витривалість до вправ в пацієнтів під наглядом до та після кінетичної дії

Параметр	1 навідування (прийом на день)		2 навідування (прийом протягом курсу)	
	Після прийому препарату	Після аналізу на ССЕАС	Після прийому препарату	Після аналізу на ССЕАС
Група ULD анти-S100+анти-eNOS (M±SD)				
ЧСС (скорочення/хв.)	74,6±3,36	68,4±3,67	74,1±3,10	67,7±2,62
САТ (мм рт.ст.)	123,4±2,83	125,9±4,08	121,8±2,65	128,3±4,25
ДАТ (мм рт.ст.)	74,0±3,09	79,3±2,62	76,2±2,43	80,3±3,30
Індекс степ-тесту	-	53,6±2,60	-	52,3±2,09
Група ULD анти-S100 (M±SD)				
ЧСС (скорочення/хв.)	73,5±2,57	69,7±2,78	72,1±2,84	67,7±2,39
САТ (мм рт.ст.)	127,5±2,55	133,5±4,77	127,1±2,55	129,9±5,06
ДАТ (мм рт.ст.)	75,5±2,65	82,6±3,31	74,9±2,41	82,3±3,19
Індекс степ-тесту	-	50,6±1,71	-	53,0±1,63

Таблиця 13

Динаміка фізичних параметрів та витривалість до вправ в пацієнтів під наглядом до та після кінетичної дії

Параметр	1 навідування (прийом на день)		2 навідування (прийом протягом курсу)	
	Після прийому препарату	Після аналізу на ССЕАС	Після прийому препарату	Після аналізу на ССЕАС
Група анти-eNOS (M±SD)				
ЧСС (скорочення/хв.)	76,5±2,59	67,3±1,98	77,3±2,02	70,1±3,23
САТ (мм рт.ст.)	127,3±3,14	131,5±5,16	123,5±3,06	129,3±4,13
ДАТ (мм рт.ст.)	75,2±2,24	80,3±2,66	73,9±2,83	81,0±3,22
Індекс степ-тесту	-	50,0±2,03	-	50,1±1,99
Група плацебо (M±SD)				
ЧСС (скорочення/хв.)	74,5±2,78	68,9±3,46	73,9±3,23	72,3±3,58
САТ (мм рт.ст.)	125,3±3,30	133,3±4,73	124,3±2,83	126,9±3,95
ДАТ (мм рт.ст.)	76,2±2,15	81,7±2,83	75,4±1,86	79,7±3,03
Індекс степ-тесту	-	50,0±2,03	-	50,1±1,99

Для оцінки безпеки досліджуваних препаратів та їх можливий негативний або позитивний вплив на функціонування ЦНС окрім гемодинамічних вивчалися й такі фізіологічні параметри в суб'єктів: Реакція на рухомі об'єкти, Час простої рухової реакції, Тривалість уваги, Уваги та Фактор стабільності уваги. Також була проведена проба Штанге для оцінки толерантності до гіпоксії.

Отримані результати (Таблиця 9) показали, що ні один день прийому препарату ні курс лікування препаратом не мали значного ефекту на дані параметри. Показники сенсорно-моторної координації (Час простої рухової реакції, Реакція на рухомі об'єкти) не відрізняються від результатів групи плацебо, отриманих до та після проведення тесту ССЕАС в обидві навідування. Дані дослідження таких складних функцій як об'єм пам'яті та її стабільність показали, що досліджувані препарати ні до ні після проведення тесту ССЕАС не змінили ступінь концентрації та зсуву в увазі, вони не відрізнялися від показників групи плацебо.

Аналіз стандартних вправ та тестів з утриманням дихання показали тенденцію до підвищення толерантності суб'єктів до гіпоксії (Таблиця 14). В утриманні дихання тривалість по проби Штанге збільшувалася після прийому досліджуваних препаратів. Однак, тільки прийом комплексного препарату ULD анти-S100+анти-eNOS показав значно довшу тривалість утримання дихання після кінетичного ефекту (68,1±18,1 сек від вихідного та 91,7±27,4 сек після проведення тесту ССЕАС; $p < 0,05$). Підвищення толерантності до гіпоксії було також виявлено при проведенні проби Генча (проби Штанге) (утримання дихання на видиху, $P < 0,05$).

Таблиця 14

Динаміка параметрів психофізіологічного стану в пацієнтів під наглядом до та після кінетичної дії

Параметр	1 навідування (прийом на день)		2 навідування (прийом протягом курсу)	
	Після прийому препарату	Після аналізу на ССЕАС	Після прийому препарату	Після аналізу на ССЕАС
Група ULD анти-S100+анти-eNOS (M±SD)				
Час простої рухової реакції	257,5±8,67	268,9±10,18	269,6±9,75	279,9±12,24
Реакція на рухомі об'єкти	50,1±3,92	49,5±4,50	47,3±4,86	47,0±3,54
Реакція на рухомі об'єкти, % влучення у ціль	3,0±0,95	4,5±1,15	5,3±1,58	4,0±1,11
Тривалість уваги, сек	5,2±0,34	5,2±0,35	5,2±0,41	5,1±0,40
Об'єм уваги, сек	41,7±2,36	39,9±2,38	38,1±2,17	37,5±2,04
Фактор стабільності уваги	17,4±1,66	17,2±1,51	18,0±1,71	18,8±1,72
Проба Штанге	68,1±4,85	91,7±7,07*	71,8±6,02	85,5±9,36
Проба Генча	47,1±4,03	50,1±3,94	46,7±3,28	48,1±4,52
Група ULD анти-S100 (M±SD)				
Час простої рухової реакції	258,9±9,95	282,4±13,56	268,4±11,37	279,1±9,20
Реакція на рухомі об'єкти	58,1±6,40	57,5±6,34	55,1±5,06	53,8±5,02
Реакція на рухомі об'єкти, % влучення у ціль	3,7±1,50	2,0±0,82	2,3±0,83	5,0±1,69
Тривалість уваги, сек	6,0±0,40	6,4±0,52	6,2±0,42	6,0±0,41
Об'єм уваги, сек	42,6±2,68	42,1±2,27	42,7±2,30	41,9±2,52
Фактор стабільності уваги	14,5±1,16	14,9±1,26	15,3±1,13	15,4±1,18
Проба Штанге	59,0±4,09	72,6±6,19	64,5±4,93	75,9±5,67
Проба Генча	47,1±4,48	49,4±4,69	48,3±4,30	48,8±4,14
Група анти-eNOS (M±SD)				
Час простої рухової реакції	257,7±8,49	279,4±14,23	266,7±13,19	275,5±11,44
Реакція на рухомі об'єкти	48,3±3,67	51,9±4,39	52,5±4,79	49,6±4,22
Реакція на рухомі об'єкти, % влучення у ціль	2,3±0,83	2,0±0,82	3,3±1,26	5,7±1,68
Тривалість уваги, сек	5,9±0,25	6,0±0,34	5,5±0,24	5,9±0,33
Об'єм уваги, сек	41,9±2,10	43,8±2,39	41,3±2,00	42,5±2,22
Фактор стабільності уваги	13,7±1,34	14,8±1,31	15,6±1,24	14,1±1,40
Проба Штанге	62,5±5,49	69,5±5,09	56,7±3,34	73,1±7,98
Проба Генча	43,1±3,51	45,7±3,15	43,4±3,77	45,8±4,03
Група плацебо (M±SD)				
Час простої рухової реакції	267,6±7,64	290,1±11,33	281,1±9,78	263,3±6,85
Реакція на рухомі об'єкти	60,7±8,31	54,1±5,57	51,1±3,69	52,6±5,38
Реакція на рухомі об'єкти, % влучення у ціль	3,7±1,03	3,7±1,24	3,3±0,93	4,3±1,61
Тривалість уваги, сек	6,1±0,71	5,7±0,36	5,5±0,32	5,9±0,71
Об'єм уваги, сек	41,9±2,09	42,4±2,81	41,3±2,18	39,6±2,26
Фактор стабільності уваги	14,5±1,64	14,5±1,79	15,3±1,55	15,9±1,58
Проба Штанге	63,7±4,71	67,9±6,90	64,8±5,94	83,0±12,24
Проба Генча	44,7±2,52	47,1±3,30	43,7±2,71	47,8±3,78

Таким чином, дослідження з використанням експериментальної моделі локомоційної хвороби показало ефективність комбінованого препарату ULD анти-S100+анти-eNOS та моно компонентного препарату ULD анти-S100. Досліджувані препарати збільшили стійкість суб'єктів до кінетичного ефекту після симуляції клінічних та фізіологічних ефектів локомоційної хвороби, таким чином досягалося легке протікання хвороби та швидке одужання суб'єктів після курсу лікування. Також було доведено, що ефект проти локомоційної хвороби препарату (суміші ULD анти-S100+анти-eNOS) покращує ефективність окремих компонентів. Ефективність

комбінованого препарату ULD анти-S100+анти-eNOS в регуляції вестибулярно-автономних та сенсорних реакцій організму в умовах експериментальної моделі локомоційної хвороби підвищується в курсі лікування. Треба зазначити, що ULD анти-eNOS у формі моно препарату не має захисного ефекту проти локомоційної хвороби, але в суміші з ULD анти-S100 значно підвищує ефект проти локомоційної хвороби останнього, що виявляється в як в одному дні прийому так і в короткому курсі прийому препарату. Кращу здібність до пристосування рухомих процесів, тобто до впливу на реактивність парасимпатичного та симпатичного відділів АНС, а також кращі адаптивні можливості АНС у стані локомоційної хвороби (підвищення толерантності до несподіваних змін у положенні тіла) виявила суміш ULD анти-S100+анти-eNOS, що є складовим компонентом, від якого залежать властивості препарату від локомоційної хвороби. Суміш ULD анти-S100+анти-eNOS та моно компонентний препарат ULD анти-S100 абсолютно безпечні у використанні і не впливають негативно на фізичні та психофізіологічні параметри.

Комбінований препарат ULD анти-S100+анти-eNOS та ULD анти-S100 можуть прописуватися для профілактики та лікування закачування в локомоційній хворобі (включаючи морську, повітряну хвороби та закачування в автотранспорті) в людей з низьким або середнім рівнем стійкості. Комбінований препарат є дуже безпечним, він не має негативних впливів на якість професійної діяльності.

Приклад 9

Для вивчення властивостей даного лікарського засобу для лікування психоорганічного синдрому використовувалися таблетки по 300 мг. Таблетки були оброблені фармацевтичним препаратом, що містив водно-спиртові розчини (6 мг/таб.) активованої потенційованої форми поліклональних очищених афінним шляхом кролячих антитіл до мозкоспецифічного білка S-100 (анти-S100) та ендотеліальної NO-синтази (анти-eNOS), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового матричного розчину (концентрація: 2,5 мг/мл) (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів), що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200 («ULD анти-S100+анти-eNOS»).

Контрольна група пацієнтів приймала 300 мг таблеток оброблених фармацевтичним препаратом, що містив водно-спиртові розчини (6 мг/таб.) активованої потенційованої форми поліклональних очищених афінним шляхом кролячих антитіл до мозкоспецифічного білка S-100 (анти-S100), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового розчину (концентрація: 2,5 мг/мл) 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів.

В дослідженні брали участь пацієнти з психоорганічним синдромом посттравматичного походження. Психоорганічний синдром характеризується такою тріадою ознак: слабкість пам'яті, погіршення інтелектуальних здібностей, нетримання (тріада Уолтера Буела).

Дослідження було відкритим рандомізованим порівняльним клінічним дослідженням ефективності та безпеки лікування пацієнтів з психоорганічним синдромом посттравматичного походження (Група 1 - препарат ULD анти-S100, Група 2 - препарат ULD анти-S100+анти-eNOS).

Дослідження включало 6 пацієнтів віком від 35 до 90 років (середній вік $70,83 \pm 21,95$), в яких було виявлено психоорганічний синдром.

Пацієнти були перевірені по таким критеріям включення та виключення:

Критерії включення:

1. Пацієнти з посттравматичною енцефалопатією з психоорганічним синдромом або з енцефалопатією з комплексною етіологією (васкулярною, посттравматичною) з психоорганічним синдромом, що підтверджується історією хвороби, невралгічними обстеженнями та медичними записами.

2. Пацієнти, в яких не спостерігається жодних змін під час лікування мінімум за місяць до 1 навідування.

3. Відсутність потреби для змін в лікуванні для всього періоду нагляду.

4. Відсутність потреби для призначення імуномодуляторів протягом наступних 6 місяців.

5. Пацієнти з рівнем освіченості достатнім для адекватного спілкування з дослідниками та координатором дослідження.

6. Пацієнти, признані дослідником надійними та готовими до виконання всіх запланованих навідувань, тестів та процедур, вказаних в протоколі.

7. Пацієнти з дійсною домашньою адресою

Критерії виключення:

1. Будь-яка операція на мозку.

2. Гострий інфаркт міокарда.

3. Геморрагічний напад.

4. Діагноз психозу, біполярного розладу або шизоафективного розладу.
5. Великий депресивний розлад відповідно до критеріїв модуля депресії міжнародного нейрон-психіатричного міні-інтерв'ю (MHI).
6. Фактори/умови медичного або іншого характеру, що на думку дослідника можуть вплинути на результати дослідження.
7. Відповіді «2А», «2В», «2С» або «3» в секції «І» депресивного опитувальника Бека (серйозні суїцидальні міркування з спробами реалізації, без особового плану, або серйозні суїцидальні міркування з чітким планом та спробами реалізації).
8. Аутоімунна хвороба.
9. Гостре пошкодження печінки або гострий цироз (клас С за Чайлдом-Пью).
10. Невиліковний розлад функції щитовидної залози.
11. Декомпенсована артеріальна гіпертензія.
12. Серйозне або некомпенсоване серцево-судинне захворювання, захворювання печінки, нирок, метаболічні, респіраторні або гематологічні захворювання, симптоматичне периферійне судинне захворювання або інший медичний або психіатричний стан, який на думку дослідника може негативно вплинути на участь пацієнта в дослідженні або може призвести до тривалої госпіталізації або ре-госпіталізації протягом дослідження.
13. Хвороби та стани, які на думку дослідника можуть запобігти участі пацієнта в дослідженні.
14. Прийом препаратів, що містять ULD анти-eNOS або ULD анти-S100 перед включенням до дослідження.
15. Прийом антидепресантів будь-якої групи включаючи гомеопатичні препарати та препарати на рослинній основі.
16. Прийом транквілізаторів будь-якої групи включаючи гомеопатичні препарати та препарати на рослинній основі.
17. Прийом імунomodulatorів включаючи гомеопатичні препарати та препарати на рослинній основі.
18. Лікування системними стероїдами протягом 1 місяця до 0 навідування.
19. Участь в дослідженні препаратів ULD анти-eNOS або ULD анти-S100, якщо пацієнту було введено хоча б одну дозу.
20. Участь в інших клінічних дослідженнях протягом місяця до включення до цього дослідження.
21. Вагітність, годування груддю, неможливість застосування відповідних контрацептивних засобів протягом періоду дослідження та протягом 1 місяця після останнього прийому препарату, що досліджується.
22. Наявність алергій/нетерпимості до будь-якого компоненту препарату включаючи нетерпимість до лактози.
23. Пацієнти, що вживають наркотичні препарати на нейролептики, алкозалежні, з психіатричними захворюваннями.
24. Пацієнти, що є членами персоналу центру, який напряму пов'язаний з проведеним дослідженням та/або члени сім'ї членів персоналу центру, який напряму пов'язаний з проведеним дослідженням. Під «членами сім'ї» розуміється чоловік (дружина), батьки, діти, брати (сестри).
25. Участь в судовому процесі, або ймовірне отримання компенсації на думку дослідника.
- Після виявлення відповідності пацієнтів до критеріїв виключення та включення, вони були рандомізовано розділені на 2 групи: група пацієнтів, що приймає ULD анти-S100 (3 пацієнти, жінки - 33,33%, чоловіки - 66,66%, середній вік $71,33 \pm 16,25$ років), група пацієнтів, що приймає ULD анти-S100+анти-eNOS (3 пацієнти, жінки - 66,66%, чоловіки - 33,33%, середній вік $70,33 \pm 30,66$ років).
- Протягом цього дослідження було зроблено 5 візитів. Фаза лікування тривала від 1 візиту до 4 візиту протягом 84 ± 5 днів в середньому. 4 візит (день 84 ± 5) був першим кінцевим пунктом дослідження, за яким слідував відповідний огляд. Наступна фаза продовжувалася від 4 візиту до 5 візиту (день 168 ± 5 в середньому).
- При аналізі безпеки препарату брали до уваги усі дані від усіх ($n=6$) пацієнтів, що брали участь в дослідженні. Протягом дослідження була відмічена добра толерантність до препарату. Не було зареєстровано жодного негативного явища. Всі пацієнти груп дослідження пройшли курс лікування відповідно до протоколу; ніхто не вийшов з дослідження передчасно.
- Був оцінений ефект препарату ULD анти-S100+анти-eNOS на головні клінічні ознаки та симптоми психоорганічного синдрому (НПА, секція інтенсивності), на інтенсивність супровідного нездужання в пацієнта (НПА, секція нездужання), а також на когнітивні функції в пацієнта

(КШОПС). Було зареєстровано покращення в таких ключових симптомах психоорганічного синдрому як статистично значне зниження показників в секції інтенсивності НПА (від $91,0 \pm 15,13$ до $69,0 \pm 6,24$, $p < 0,05$), зменшення показників в секції нездужання НПА (від $44,33 \pm 17,78$ до $36,33 \pm 3,21$, $p < 0,05$) при 4 навідуванні (Таблиця 15).

5 В групі, де приймався лише ULD анти-S100 жодних покращень зареєстровано не було.

Таким чином, різниця між групами пацієнтів в загальному підрахунку показників в секції інтенсивності НПА наприкінці лікування було статистично значним при $p < 0,05$.

Таблиця 15

	НПА (інтенсивність)	НПА (нездужання)	КДХА-ПД	КШОПС
ULD анти-S100+анти-eNOS перед лікуванням	$91,0 \pm 15,13$	$44,33 \pm 17,78$	$42,66 \pm 4,93$	$22,33 \pm 3,21$
ULD анти-S100+анти-eNOS перед лікуванням	$69,0 \pm 6,244^{*}\#$	$36,33 \pm 3,21^{*}$	$52,0 \pm 5,57$	$22,66 \pm 2,08$
ULD анти-S100 перед лікуванням	$114,0 \pm 25,53$	$45,66 \pm 14,47$	$33,0 \pm 13,89$	$22,33 \pm 4,16$
ULD анти-S100 перед лікуванням	$99,66 \pm 18,0$	$49,0 \pm 17,05$	$31,66 \pm 10,69$	$23,0 \pm 4,36$

10 * - р від вихідного $< 0,05$; # - р від контрольного $< 0,05$

В результаті, в проведеному клінічному дослідженні був зареєстрований позитивний ефект комбінованого лікарського засобу ULD анти-S100+анти-eNOS на головні клінічні ознаки та симптоми психоорганічного синдрому, а також була виявлена тенденція впливу на когнітивні функції з психоорганічним синдромом. До того ж була підтверджена добра толерантність до препарату. Не було зареєстровано жодного негативного явища, пов'язаного з прийомом препарату.

Приклад 10

Для вивчення властивостей даного лікарського засобу для лікування хвороби Альцгеймера використовувалися таблетки по 300 мг. Таблетки були оброблені фармацевтичним препаратом, що містив водно-спиртові розчини (6 мг/таб.) активованої потенційованої форми поліклональних очищених афінним шляхом кролячих антитіл до мозкоспецифічного білка S-100 (анти-S100) та ендотеліальної NO-синтази (анти-eNOS), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового розчину (концентрація: 2,5 мг/ мл) 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів, що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200 (у відношенні 1:1) («ULD анти-S100+анти-eNOS»).

Контрольна група пацієнтів приймала 300 мг таблеток оброблених фармацевтичним препаратом, що містив водно-спиртові розчини (6 мг/таб.) активованої потенційованої форми поліклональних очищених афінним шляхом кролячих антитіл до мозкоспецифічного білка S-100 (анти-S100), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового розчину (концентрація: 2,5 мг/ мл) 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів, що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200.

У дослідженні брали участь пацієнти з хворобою Альцгеймера. Хворобою Альцгеймера характеризується слабоумством (набуте слабоумство, стабільне порушення когнітивної діяльності з певною втратою попередньо набутого знання та практичних навичок, труднощі або неможливість набутти нові знання).

Дослідження було відкритим рандомізованим порівняльним клінічним дослідженням ефективності та безпеки лікування в двох паралельних групах (препарат ULD анти-S100 та препарат ULD анти-S100+анти-eNOS) в пацієнтів з легкою або середньою стадією хвороби Альцгеймера.

В дослідженні брали участь 6 пацієнтів віком 55-64 роки (середній вік $59,0 \pm 3,58$) з легкою або середньою стадією хвороби Альцгеймера.

Пацієнти були перевірені по таким критеріям включення та виключення:

Критерії включення:

1. Пацієнти з легкою або середньою стадією хвороби Альцгеймера, що підтверджується історією хвороби, невралгічними обстеженнями та медичними записами.

2. Пацієнти, в яких не спостерігається жодних змін під час лікування мінімум за місяць до 1 навідування.
3. Відсутність потреби для змін в лікуванні для всього періоду нагляду.
4. Відсутність потреби для призначення імуномодуляторів протягом наступних 6 місяців.
- 5 5. Пацієнти з рівнем освіченості достатнім для адекватного спілкування з дослідниками та координатором дослідження.
6. Пацієнти, визнані дослідником надійними та готовими до виконання всіх запланованих навідувань, тестів та процедур, вказаних в протоколі.
7. Пацієнти з дійсною домашньою адресою
- 10 Критерії виключення:
 1. Будь-яка операція на мозку.
 2. Гострий інфаркт міокарда.
 3. Геморагічний напад.
 4. Діагноз психозу, біполярного розладу або шизоафективного розладу.
 - 15 5. Великий депресивний розлад відповідно до критеріїв модуля депресії міжнародного нейрон-психіатричного міні-інтерв'ю (MHI).
 6. Фактори/умови медичного або іншого характеру, що на думку дослідника можуть вплинути на результати дослідження.
 7. Відповіді «2А», «2В», «2С» або «3» в секції «І» депресивного опитувальника Бека
 - 20 (серйозні суїцидальні міркування з спробами реалізації, без особового плану, або серйозні суїцидальні міркування з чітким планом та спробами реалізації).
 8. Аутоімунна хвороба.
 9. Гостре пошкодження печінки або гострий цироз (клас С за Чайлдом-Пью).
 10. Невиліковний розлад функції щитовидної залози.
 - 25 11. Декомпенсована артеріальна гіпертензія.
 12. Серйозне або некомпенсоване серцево-судинне захворювання, захворювання печінки, нирок, метаболічні, респіраторні або гематологічні захворювання, симптоматичне периферійне судинне захворювання або інший медичний або психіатричний стан, який на думку дослідника може негативно вплинути на участь пацієнта в дослідженні або може призвести до тривалої госпіталізації або повторної госпіталізації протягом дослідження.
 - 30 13. Хвороби та стани, які на думку дослідника можуть запобігти участі пацієнта в дослідженні.
 14. Прийом препаратів, що містять ULD анти-eNOS або ULD анти-S100 перед включенням до дослідження.
 - 35 15. Прийом антидепресантів будь-якої групи включаючи гомеопатичні препарати та препарати на рослинній основі.
 16. Прийом транквілізаторів будь-якої групи включаючи гомеопатичні препарати та препарати на рослинній основі.
 17. Прийом імуномодуляторів включаючи гомеопатичні препарати та препарати на
 - 40 рослинній основі.
 18. Лікування системними стероїдами протягом 1 місяця до 0 навідування.
 19. Участь в дослідженні препаратів ULD анти-eNOS або ULD анти-S100, якщо пацієнту було введено хоча б одну дозу.
 20. Участь в інших клінічних дослідженнях протягом місяця до включення до цього
 - 45 дослідження.
 21. Вагітність, годування груддю, неможливість застосування відповідних контрацептивних засобів протягом періоду дослідження та протягом 1 місяця після останнього прийому препарату, що досліджується.
 22. Наявність алергій/нетерпимості до будь-якого компоненту препарату включаючи
 - 50 нетерпимість до лактози.
 23. Пацієнти, що вживають наркотичні препарати на нейролептики, алкозалежні, з психіатричними захворюваннями.
 24. Пацієнти, що є членами персоналу центру, який напряму пов'язаний з проведеним дослідженням та/або члени сім'ї членів персоналу центру, який напряму пов'язаний з
 - 55 проведеним дослідженням. Під «членами сім'ї» розуміється чоловік (дружина), батьки, діти, брати (сестри).
 25. Участь в судовому процесі, або ймовірне отримання компенсації на думку дослідника.
 - Після виявлення відповідності пацієнтів до критеріїв виключення та включення, вони були
 - рандомізовано розділені на 2 групи: група пацієнтів, що приймає ULD анти-S100 (3 пацієнти,
 - 60 жінки - 100%, чоловіки - 0%, середній вік 59,0±3,6 років), група пацієнтів, що приймає ULD анти-

S100+анти-eNOS (3 пацієнти, жінки - 66,66%, чоловіки -33,33%, середній вік $59,0 \pm 4,36$ років).

Протягом цього дослідження було зроблено 5 візитів. Фаза лікування тривала від 1 візиту до 4 візиту протягом 84 ± 5 днів в середньому. 4 візит (день 84 ± 5) був першим кінцевим пунктом дослідження, за яким слідував відповідний огляд. Наступна фаза продовжувалася від 4 візиту до 5 візиту (день 168 ± 5 в середньому).

При аналізі безпеки препарату брали до уваги усі дані від усіх ($n=6$) пацієнтів, що брали участь в дослідженні. Протягом дослідження була відмічена добра толерантність до препарату. Не було зареєстровано жодного негативного явища. Всі пацієнти груп дослідження пройшли курс лікування відповідно до протоколу; ніхто не вийшов з дослідження передчасно.

Був оцінений ефект препарату ULD анти-S100+анти-eNOS на головні клінічні ознаки та симптоми хвороби Альцгеймера (НПА, секція інтенсивності), на інтенсивність супровідного нездужання в пацієнта (НПА, секція нездужання), а також на когнітивні функції в пацієнта (КШОПС). Було зареєстровано покращення в таких ключових симптомах хвороби Альцгеймера як статистично значне зниження показників в секції інтенсивності НПА (від $24,33 \pm 4,73$ до $12,0 \pm 3,46$, $p < 0,05$) при 4 навідуванні (Таблиця 16).

Була виявлена тенденція до зменшення нездужання в пацієнтів та зменшення активності в повсякденному житті наприкінці курсу лікування (однак, без будь-якої статистично значної різниці, можливо через малу кількість учасників дослідження).

Крім того, була виявлена тенденція до покращення когнітивних функцій, що виражалось в підвищенні показників КШОПС від $23,66 \pm 3,21$ до $26,66 \pm 1,53$ балів, однак, в цьому випадку різниця також не досягла статистично значного значення наприкінці лікування, що також можна віднести на рахунок малої кількості учасників дослідження).

Наприкінці першого етапу в групах пацієнтів, що приймали ULD анти-S100, не було виявлено покращень, окрім статистично незначного покращення показника КШОПС від $22,66 \pm 0,58$ до $23,33 \pm 0,58$ балів.

Таким чином, різниця між групами пацієнтів в загальному підрахунку показників КШОПС наприкінці лікування було статистично значним при $p < 0,05$.

Таблиця 16

	НПА (інтенсивність)	НПА (нездужання)	КДХА-ПД	КШОПС
ULD анти-S100+анти-eNOS перед лікуванням	$24,33 \pm 4,73$	$9,66 \pm 1,53$	$71,0 \pm 6,56$	$23,66 \pm 3,21$
ULD анти-S100+анти-eNOS перед лікуванням	$12,0 \pm 3,46^*$	$5,0 \pm 3,61^*$	$74,33 \pm 2,51$	$26,66 \pm 1,53^\#$
ULD анти-S100 перед лікуванням	$35,66 \pm 5,50$	$22,33 \pm 5,50$	$61,66 \pm 5,13$	$22,66 \pm 0,58$
ULD анти-S100 перед лікуванням	$38,33 \pm 8,5$	$23,0 \pm 5,0$	$61,33 \pm 5,86$	$23,33 \pm 0,58$

* - p від вихідного $< 0,05$; # - p від контрольного $< 0,05$

В результаті, в проведеному клінічному дослідженні був зареєстрований позитивний ефект комбінованого лікарського засобу ULD анти-S100+анти-eNOS на головні клінічні ознаки та симптоми хвороби Альцгеймера, а також була виявлена тенденція впливу на когнітивні функції з хворобою Альцгеймера. До того ж була підтверджена добра толерантність до препарату. Не було зареєстровано жодного негативного явища, пов'язаного з прийомом препарату

Приклад 11

Група 1 - група активного препарату приймала таблетки по 300 мг. Таблетки були оброблені фармацевтичним препаратом, що містив водно-спиртові розчини (6 мг/таб.) активованої потенційованої форми поліклональних очищених на антигені кролячих антитіл до мозкоспецифічного білка S-100 (анти-S100) та ендотеліальної NO-синтази (анти-eNOS) в ультра низьких дозах (ULD анти-S100+анти-eNOS), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового розчину (концентрація: 2,5 мг/мл) 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів, що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200;

Група 2 - група для порівняння приймала таблетки по 300 мг. Таблетки були оброблені фармацевтичним препаратом, що містив водно-спиртові розчини (6 мг/таб.) активованої

потенційованої форми поліклональних очищених на антигені кролячих антитіл до мозкоспецифічного білка S-100 (анти-S100) в ультра низьких дозах (ULD анти-S100), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового розчину 100¹², 100³⁰, 100⁵⁰ разів, що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C50.

5 Група 3 - контрольна група плацебо приймала таблетки по 300 мг, що містили наповнювачі (моногідрат лактози - 267 мг, мікрокристалічна целюлоза - 30 мг, стеарат магнію - 3 мг).

Ефективність активного препарату ULD анти-S100+анти-eNOS при лікуванні пацієнтів з синдромом дефіциту уваги та гіперактивності була вивчена в порівняльному подвійному сліпому плацебо-контрольованому дослідженні на 146 дітях віком від 6 до 14 років (середній вік 10 $9,3 \pm 0,24$ років), яких було розділено на три групи в залежності від прописаного лікування. Протягом 12 тижнів пацієнти групи 1 (n=46) приймали по 2 таблетки суміші ULD анти-S100+анти-eNOS на день; група для порівняння 2 (n=50) приймала по 2 таблетки ULD анти-S100 на день; контрольна група 3 (n=50) приймала по 2 таблетки на день. В усіх пацієнтів, включених до дослідження, спостерігалися клінічні прояви ДУГ, що підтверджувалося високими 15 показниками за шкалою оцінки симптомів ДУГ (шкала показників дефіциту уваги та гіперактивності IV): $33,8 \pm 0,92$ в групі 1; $32,5 \pm 1,14$ в групі 2 та $33,6 \pm 0,91$ в групі 3. В більшості дітей спостерігалася помірна форма ДУГ відповідно до опитувальника за шкалою Всебічні клінічні спостереження - Дефіцит уваги та гіперактивність - Серйозність. Загальний показник за цією шкалою склав $4,0 \pm 0,02$ в групі 1; $4,0 \pm 0,03$ в групі 2 та $4,0 \pm 0,00$ в групі 3. Таким чином з 20 самого початку пацієнти трьох груп мали порівняні показники серйозності ДУГ. Відповідно до результатів неврологічного, клінічно-лабораторного та інструментального огляду під час включення пацієнтів до дослідження, не було виявлено жодного відхилення в жодного пацієнта. Протягом 12 тижнів лікування, лікар обстежував пацієнтів 6 разів. На цих обстеженнях були зареєстровані показники динаміки інтенсивності клінічних проявів ДУГ (загалом за шкалою 25 показників дефіциту уваги та гіперактивності IV) та серйозність хвороби (за шкалою Всебічні клінічні спостереження - Дефіцит уваги та гіперактивність - Серйозність), також перевірялося дотримання режиму прийому препаратів та була оцінена безпека лікування.

Аналіз ефективності 12 тижнів лікування в трьох групах показав зниження більше ніж на 25% від початкового рівня загального показника по шкалі показників дефіциту уваги та 30 гіперактивності IV у 75% дітей (n=36), які приймали суміш ULD анти-S100+анти-eNOS; в 66% пацієнтів (n=33), які приймали ULD анти-S100 та в 56% дітей (n=28), які приймали плацебо, різниці в ефективності між трьома групами більше детально з урахуванням 3-х фазової оцінки покращення стану (зменшення загального показника по шкалі показників дефіциту уваги та гіперактивності IV на <25%, 25-49,9% або $\geq 50\%$ від вихідного) представлені в Таблиці 17. 35 Значне покращення із зниженням загального показника на 50% або більше від вихідного було помічено в 52% дітей в групі 1, що приймала ULD анти-S100+анти-eNOS, та в 34% дітей групи 2, що приймала ULD анти-S100 (порівняно з 8% пацієнтів 3-ї групи з плацебо).

Значне зниження ($p < 0,001$) клінічних проявів ДУГ в порівнянні з початковим станом вже було зареєстровано на 2-й тиждень лікування в усіх 3-х групах. Позитивна тенденція була більш 40 значною в пацієнтів групи 1 та 2, оскільки значні розбіжності були виявлені в них по шкалі показників дефіциту уваги та гіперактивності IV, не тільки у відношенні до візиту скрінінгу, але й порівняно до групи 3 з плацебо. В наступні тижні показники в групах, що приймали суміш ULD анти-S100+анти-eNOS та моно компонентний препарат ULD анти-S100 почали зростати, головним чином в групі активного препарату ($p < 0,05$). Отримане зменшення в загальному 45 показнику по шкалі показників дефіциту уваги та гіперактивності IV в дітей групи 1 з ULD анти-S100+анти-eNOS становило 16,5 балів, в пацієнтів групи 2 з ULD анти-S100 - 12,4 балів (у порівнянні з 6,3 балами групи 3 з плацебо). В результаті 12 тижнів лікування інтенсивність клінічних виявлень ДУГ в дітей, що приймали суміш ULD анти-S100+анти-eNOS, зменшилася майже на половину (-48,8%) та в дітей, що приймали ULD анти-S100 - більше ніж на 1/3 (-38,2%) 50 у порівнянні з вихідними показниками.

Прийом суміші ULD анти-S100+анти-eNOS або ULD анти-S100 вплинув на обидві групи симптомів ДУГ, що підтвердилося динамікою оцінювання двома розділами шкали показників дефіциту уваги та гіперактивності IV. Крім того, лікування сумішшю ULD анти-S100+анти-eNOS показало більше ефективності, ніж лікування моно компонентним препаратом ULD анти-S100 в 55 тому, що стосується впливу на інтенсивність виявлень та дефіциту уваги та гіперактивності/імпульсивності.

Позитивний терапевтичний ефект від активного препарату ULD анти-S100+анти-eNOS у порівнянні з ULD анти-S100 виявився в оцінці результатів лікування пацієнтів по шкалі оцінки серйозності ДУГ (Всебічні клінічні спостереження - Дефіцит уваги та гіперактивність - 60 Серйозність) (Таблиця 17). Майже ? пацієнтів групи ULD анти-S100+анти-eNOS серйозність

хвороби знизилася від середнього до помірного і навіть меншого, що підтверджувалося зниженням середнього показника на шкалі Всебічні клінічні спостереження - Дефіцит уваги та гіперактивність - Серйозність на 15% після 3 місяців лікування (від $4,0 \pm 0,02$ до $3,4 \pm 0,06$; $p < 0,001$). Ефект від лікування моно препаратом ULD анти-S100 був трішки нижчим і вказував - 10% на шкалі Всебічні клінічні спостереження - Дефіцит уваги та гіперактивність - Серйозність через 3 місяців лікування (у порівнянні з 5% в групі плацебо). При аналізі безпеки лікування бралися до уваги всі дані від усіх пацієнтів дослідження. Протягом всього періоду дослідження, було виявлено добру толерантність як до активного препарату ULD анти-S100+анти-eNOS так і до ULD анти-S100 (у порівнянні з плацебо). Негативні явища було виявлено тільки в одного пацієнта групи ULD анти-S100 (головні болі на 4-й тиждень дослідження) та в одного пацієнта групи плацебо (ходіння у сні на 2-й місяць дослідження). Ці негативні явища не були пов'язані із терапією. До того, протягом дослідження траплялися поодинокі випадки гострих респіраторних захворювань, які також не були пов'язані із терапією. Всі пацієнти пройшли лікування згідно з протоколом; ніхто передчасно не вибув з дослідження. Відсутність патологічних змін відповідно до фізичного огляду пацієнтів та в ході повторюваних аналізів лабораторних параметрів підтвердили безпечність досліджуваної терапії.

Згідно з результатами фізичного дослідження (частота СС, САТ, ДАТ, температура тіла) в пацієнтів не було зареєстровано жодного патологічного відхилення протягом лікування. Різниці проаналізованих рівнів відповідно до навідувань та у порівнянні між групами не досягли статистичного значення та не перевищили лімітів фізіологічно дозволених відхилень. Високий показник виконання процедур терапії свідчить як про ефективність так і про безпечність досліджуваних препаратів. Наприкінці 3-го місяця лікування слідування терапії складало $99,8 \pm 1,15\%$ та $98,8 \pm 2,25\%$ в групі 1 з ULD анти-S100+анти-eNOS та в групі 2 з ULD анти-S100 відповідно (у порівнянні з $74,6 \pm 2,54\%$ в групі 3 з плацебо).

Таким чином, дослідження було присвячено вивченню ефективності та безпечності суміші ULD анти-S100+анти-eNOS та моно компонентного препарату ULD анти-S100 при лікуванні дітей з ДУГ. Більш виражена терапевтична ефективність в 12-тижневому курсі лікування була виявлена в комплексному препараті (ULD анти-S100+анти-eNOS), що підтверджувалося позитивною динамікою клінічних симптомів в більшості (75%) дітей. Суміш ULD анти-S100+анти-eNOS мала значний вплив на всі симптоми ДУГ, в результаті, було зареєстроване помітне зниження дефіциту уваги та гіперактивності в пацієнтів з ДУГ.

Таблиця 17

Динаміка загальних підрахунків за шкалою показників дефіциту уваги та гіперактивності IV наприкінці 12 тижнів лікування

Групи пацієнтів	Доля пацієнтів зі зниженням загальних підрахунків за шкалою показників дефіциту уваги та гіперактивності IV		
	Менше на 25,0% від вихідного	на 25,0-49.9% від вихідного	на 50,0% та більше від вихідного
ULD анти-S100+анти-eNOS, n=48	12 (25%)	11 (23%)	25 (52%)##
ULD анти-S100, n=50	17 (34%)	16 (32%)	17 (34%)##
Плацебо, n=50	22 (44%)	24 (48%)	4 (8%)

Суттєва різниця у порівнянні з групою плацебо: ## $p < 0,01$.

Таблиця 18

Динаміка симптомів клінічних проявів дефіциту уваги та гіперактивності за шкалою показників дефіциту уваги та гіперактивності IV наприкінці

Етап лікування	ULD анти-S100+анти-eNOS, n=48		ULD анти-S100, n=50		Плацебо, n=50	
	Значення (M±SE)	Δ від вихідного	Значення (M±SE)	Δ від вихідного	Значення (M±SE)	Δ від вихідного
Загальні підрахунки						
Скрінінг	33,8±0,96		32,5±1,14		33,6±0,91	
2 тижні	24,1±0,97***#	-28,7%	25,1±1,03***#	-22,8%	28,8±1,26***	-14,3
4 тижні	22,6±0,98***##	-33,1%	22,7±1,23***##	-30,2%	29,9±1,06***	-11,0%
6 тижнів	19,4±0,95***##	-42,6%	20,8±1,06***###	-36,0%	29,0±1,25***	-13,7%
8 тижнів	18,9±0,94***##&	-44,1%	20,9±1,30***###	-35,7%	27,6±1,35***	-17,9%
12 тижнів	17,3±0,96***##&	-48,8%	20,1±1,21***###	-38,2%	27,3±1,48***	-18,8%
Порушення уваги						
Скрінінг	18,4±0,55		17,4±0,57		18,4±0,43	
2 тижні	12,8±0,57***#	-30,4%	13,7±0,68***#	-21,3%	16,1±0,66***	-12,5%
4 тижні	11,6±0,56***##	-37,0%	12,9±0,79***##	-25,9%	16,4±0,57***	-10,9%
6 тижнів	10,7±0,54***##	-41,8%	11,9±0,64***##	-31,6%	16,0±0,70***	-13,0%
8 тижнів	10,3±0,53***##	-44,0%	11,5±0,70***##	-33,9%	15,1±0,76***	-17,9%
12 тижнів	9,7±0,55***##&	-47,3%	11,4±0,68***##	-34,5%	14,9±0,78***	-19,0%
Гіперактивність/імпульсивність						
Скрінінг	15,4±0,61		15,1±0,77		15,2±0,62	
2 тижні	11,3±0,63***	-26,6%	11,4±0,61***	-24,5%	12,7±0,74***	-16,4%
4 тижні	11,0±0,62***##	-28,6%	9,8±0,64***##	-35,1%	13,5±0,67***	-11,2%
6 тижнів	8,7±0,59***##	-43,5%	8,9±0,64***##	-41,1%	12,9±0,73***	-15,1%
8 тижнів	8,6±0,60***##	-44,2%	9,5±0,76***##	-37,1%	12,5±0,81***	-17,8%
12 тижнів	7,6±0,57***##&	-50,6%	8,7±0,70***##	-42,4%	12,5±0,82***	-17,8%

Примітки:

Суттєва різниця у порівнянні з вихідним параметром:

* p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001.

Суттєва різниця у порівнянні з групою плацебо:

p<0,05; ## p<0,01; ### p<0,001.

Суттєва різниця у порівнянні з групою ULD анти-S100:

& p<0,05.

Таблиця 19

Динаміка рівня серйозності дефіциту уваги та гіперактивності за шкалою Всебічні клінічні спостереження - Дефіцит уваги та гіперактивність - Серйозність

Параметр		
Серйозність дефіциту уваги та гіперактивності		
	M±SE	Δ від вихідного
ULD анти-S100+анти-eNOS, n=48		
Скрінінг	4,0±0,02	
4 тижні	3,6±0,02**	-10%
12 тижнів	3,4±0,06***	-15%
ULD анти-S100, n=50		
Скрінінг	4,0±0,03	
4 тижні	3,8±0,06**	-5%
12 тижнів	3,6±0,08***	-10%
Плацебо, n=50		
Скрінінг	4,0±0,01	
4 тижні	3,9±0,05	-2,5%
12 тижнів	3,8±0,06***	-2,5%

Суттєва різниця у порівнянні з вихідним параметром:

** p<0,01; *** p<0,001.

5

Приклад 12

Проводилося дослідження комбінованого препарату на основі активованої потенційованої форми антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину 2 в суміші гомеопатичних розведень С12, С30, С200 та активованої потенційованої форми антитіл до ендотеліальної NO-синтази в суміші гомеопатичних розведень С12, С30, С200 на людях з хронічною серцевою недостатністю з метою оцінювання головних параметрів патології хронічної серцевої недостатності.

80 пацієнтів (хронічна серцева недостатність функціонального класу II-IV, доля функціонування лівої вертикальної вени (ДФ ЛВВ) менше за 40%) було розділено на 4 рівні групи лікування та контролю на період 6-ти місячного дослідження. Фонова терапія не була припинена (бісопролол β-інгібітор, АСЕ інгібітор, еналапріл, аспірин (якщо не протипоказано); введення діуретиків, нітратів, діосинів також було визнано). Група 1 приймала активовану потенційовану форму антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину 2 (в суміші гомеопатичних розведень С12, С30, С200) (3 таблетки/день, n=20). Група 2 приймала активовану потенційовану форму антитіл до ендотеліальної NO-синтази (в суміші гомеопатичних розведень С12, С30, С200) (3 таблетки/день, n=20). Група 3 приймала комбінований препарат, що містив активовану потенційовану форму антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину 2 (в суміші гомеопатичних розведень С12, С30, С200) та активовану потенційовану форму антитіл до ендотеліальної NO-синтази (в суміші гомеопатичних розведень С12, С30, С200) (3 таблетки/день, n=20). Група 4 приймала плацебо (3 таблетки/день, n=20). Групи з самого початку були порівняні за такими ознаками: вік та стать, серйозність (клас ХСН та ДФ ЛВВ) та тривалість захворювання.

До та після лікування, пацієнти були оцінені по параметрам ефекту препарату, що приймався, на відновлення судин та ендотеліальну дисфункцію, що грає важливу роль в процесі та розвитку ХСН. Ефект препаратів на процес відновлення судин було оцінено за допомогою швидкості хвилі пульсу (за системою Колсона) в каротід-феморальних (КФ) (еластичний тип) та каротід-радіальних (КР) (м'язовий тип) сегментах артерій.

Таблиця 20 відображає динаміку в рівнях швидкості хвилі пульсу в каротід-феморальних (КФ) (еластичний тип) та каротід-радіальних (КР) (м'язовий тип) сегментах артерій.

35

Таблиця 20

Групи/ Пара- метри	Ультра-низькі дози антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину-2			Ультра-низькі дози антитіл до ендотеліальної NO- синтази			Суміш ультра-низьких доз антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину-2 та ультра-низьких доз антитіл до ендотеліальної NO- синтази			Плацебо		
	^	&	Δ%	^	&	Δ%	^	&	Δ%	^	&	Δ%
КФ, м/с	9,7±0,5	8±0,6	-14,8*	10,1±0,5	9,8±0,4	-2,97	10,8±0,3	8,6±0,6	-20,3*	8,2±0,4	8,2±0,5	0,1
КР, м/с	8,6±0,2	8,9±0,3	2,9	8,8±0,1	8,3±0,3	-5,7	8,9±0,5	7,6±0,7	-15,6 *#	9,1±0,3	9,7±0,3	6,4 *

(^) позначає початкове значення

(&) позначає 6 місяців після початку приймання препарату

5 (*) позначає різницю від початкового значення, може перевірятися значенням $p < 0,05$.

(#) позначає різницю від групи, що приймає ультра-низькі дози антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину-2 з різницею, яка може перевірятися значенням $p < 0,05$.

(\$) позначає різницю від групи, що приймає ультра-низькі дози антитіл до ендотеліальної NO-синтази з різницею, яка може перевірятися значенням $p < 0,05$.

10

Після 6 місяців лікування тільки 3 група показала ефект даного лікарського засобу на пружність м'язового типу артерій. Група 1, що приймала активовану потенційовану форму антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину 2, та група 2, що приймала комбінований препарат, виявили збільшення пружності в артеріях еластичного типу.

15

Приклад 13

Проводилося дослідження комбінованого препарату на основі активованої потенційованої форми антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину 2 в суміші гомеопатичних розведень С12, С30, С200 та активованої потенційованої форми антитіл до ендотеліальної NO-синтази в суміші гомеопатичних розведень С12, С30, С200 на людях з хронічною серцевою недостатністю з метою оцінювання головних параметрів вимірювання якості життя.

20

80 пацієнтів (хронічна серцева недостатність функціонального класу II-IV, доля функціонування лівої вертикальної вени (ДФ ЛВВ) менше за 40%) було розділено на 4 рівні групи лікування та контролю на період 6-ти місячного дослідження. Фонова терапія не була припинена (бісопролол β-інгібітор, АСЕ інгібітор, еналапріл, аспірин (якщо не протипоказано); введення діуретиків, нітратів, діоксинів також було визнано). Група 1 приймала активовану потенційовану форму антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину 2 (в суміші гомеопатичних розведень С12, С30, С200) (3 таблетки/день, n=20). Група 2 приймала активовану потенційовану форму антитіл до ендотеліальної NO-синтази (в суміші гомеопатичних розведень С12, С30, С200) (3 таблетки/день, n=20). Група 3 приймала комбінований препарат, що містив активовану потенційовану форму антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину 2 (в суміші гомеопатичних розведень С12, С30, С200) та активовану потенційовану форму антитіл до ендотеліальної NO-синтази (в суміші гомеопатичних розведень С12, С30, С200) (3 таблетки/день, n=20). Група 4 приймала плацебо (3 таблетки/день, n=20). Групи з самого початку були порівняні за такими ознаками: вік та стать, серйозність (клас ХСН та ДФ ЛВВ) та тривалість захворювання. До та після дослідження пацієнти були також оцінені за пунктами якості життя (Міннесотський та Канзаський опитувальники), морфологічних параметрів серця та толерантності до фізичних навантажень.

25

30

35

40

В Таблиці 3 показані результати дослідження у вигляді динаміки базових параметрів ефективності лікування.

Після 6 місяців лікування, пацієнти групи 1 з ULD антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину-2 показали значне покращення в якості життя, покращення в функціонуванні ДФ ЛВВ та підвищену толерантність до фізичних навантажень. Група 2 виявила зменшення в рівнях збентеженості і депресії, та в якості життя, що було оцінено за Канзаським опитувальником. Дослідження довело, що максимальний ефект було отримано від комбінованого препарату, який приймався пацієнтами групи 3, разом зі стандартним лікуванням ХСН - в цьому випадку позитивна динаміка виявилася в усіх параметрах дослідження.

45

Суміш активованої потенційованої форми антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину 2 та до ендотеліальної NO-синтази в лікарському засобі цього винаходу (комбінованому препараті) має несподіваний синергічний ефект, включаючи значний вплив на відновлення судин ендотеліальної дисфункції, що є дуже важливим для процесу та розвитку ХСН, а також вплив на якість життя пацієнтів, на морфологічні параметри серця та толерантність до фізичних навантажень, що підтверджується відповідними клінічними дослідженнями.

Результати представлені у вигляді Таблиці 21.

Таблиця 21

Групи/ Пара- метри	Ультра-низькі дози антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину-2			Ультра-низькі дози антитіл до ендотеліальної NO- синтази			Суміш ультра-низьких доз антитіл до фрагменту С- терміналу АТ1 рецептора ангіотензину-2 та ультра-низьких доз антитіл до ендотеліальної NO- синтази			Плацебо		
	^	&	Δ%	^	&	Δ%	^	&	Δ%	^	&	Δ%
Міннесота ¹	47,5± 2,8	39,1± 3,8 **	-17,6	48,1± 3,7	40,8±3,8	-15,2	43,9± 2,8	32,0± 4,9 ***\$	-27,1	48,3± 3,7	42,4± 2,9 **	-12,2
Канзас ²	82,1± 2,3	70,1± 5,5 ***	-14,6	81,5± 2,5	72,0±8,2*	-11,7	87,7± 2,3	65,7± 7,3 ***\$	-25,1	83,8± 3,5	60,3± 6,8	-7,2
HADS ³	15,3± 1,0	12,5± 0,9 **	-18,5	16,2± 1,7	11,34± 2,1 ***	-30,3	16,2± 1,3	8,4± 0,9 *** #\$\$	-48,1	17,3± 1,1	15,9± 1,1	-8,1
ФК ХСН ⁴	2,7±0,1	2,2± 0,1 ***	-17,3	2,9± 0,1	2,7±0,2	-7,3	3,0± 0,2	1,9± 0,1 ***#\$	-36,6	2,7± 0,1	2,5± 0,1	-6,2
ДФ ЛВВ ⁵	27,1± 0,9	33,6± 1,5 **	24,0	28,2± 1,5	25,3±1,7	10,3	25,3± 1,1	34,6± 1,9 ***#\$	36,7	26,4± 1,1	28,0± 1,4	6,3
Тест 6- хвилинної ходьби	378,7± 12,4	419,6± 13,7 ***	10,8	383,1± 15,3	416,8± 17,2	8,8	378,7± 12,4	450,1± 17,7 ***#\$	18,9	360,5± 11,9	40,1± 11,5	4,8

*, **, *** - значення $p < 0,05$, $0,01$ та $0,001$ відповідно

- позначає різницю від групи, що приймає ультра-низькі дози антитіл до фрагменту С-терміналу АТ1 рецептора ангіотензину-2 з різницею, яка може перевірятися значенням $p < 0,05$.

\$, \$\$ - позначає різницю від групи, що приймає ультра-низькі дози антитіл до ендотеліальної NO-синтази з різницею, яка може перевірятися значенням $p < 0,05$ та $0,01$ відповідно

(1) «Міннесота» позначає Міннесотський опитувальник

(2) «Канзас» позначає Канзаський опитувальник

(3) HADS позначає загальні підрахунки за шкалою рівня збентеженості та депресії (HADS - Hospital Anxiety and Depression Scale)

(4) ФК ХСН позначає пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю, функціональний клас

(5) ДФ ЛВВ позначає долю функціонування лівої вертикальної вени.

Приклад 14

Для вивчення властивостей даного лікарського засобу в лікуванні пацієнтів з доброякісною простатичною гіперплазією, використовувалися таблетки по 300 мг. Таблетки були оброблені фармацевтичним препаратом, що містив водно-спиртові розчини (6 мг/таб.) активованої потенційованої форми поліклональних афінно очищених кролячих антитіл до простато-специфічного антигену (анти-PSA) та ендотеліальної NO-синтази (анти-eNOS) в ультра низьких дозах (ULD), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового матричного розчину 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів, що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200 (ULD анти-PSA+анти-eNOS). Інші таблетки по 300 мг були оброблені фармацевтичним препаратом, що містив водно-спиртові розчини (3 мг/таб.) активованої потенційованої форми поліклональних афінно очищених кролячих антитіл до простато-специфічного антигену в ультра низьких дозах (ULD), отриманої шляхом багаторазових розведень початкового матричного розчину 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} разів, що є еквівалентом суміші сотенних гомеопатичних розведень C12, C30, C200 (ULD анти-PSA).

Доброякісна простатична гіперплазія (ДПГ) є одним з найчастіших захворювань у чоловіків (Bruskewitz R.C., 2003; Rosen R., 2003): з одного боку епідеміологічні дослідження, проведені в Росії, вказують на послідовний зріст в частоті випадків ДПГ віз 11,3% в чоловіках віком 40-49 років до 81,4% в чоловіках віком 80 років (Горіловський Л.М., 1999); з іншого боку демографічні дослідження, проведені ВОЗ підтверджують значне збільшення в популяції за останні 60 років, що перевищує зріст будь-якої вікової групи.

Головними симптомами доброякісної простатичної гіперплазії є симптоми зниженого сечового тракту, що може викликати значний дискомфорт та знизити якість життя (Bruskewitz R.C., 2003; Lepor H., 2004; O'Leary M.P., 2005). В серйозних випадках хвороба може супроводжуватися такими ускладненнями як гостре сечове утримування, інфекція сечового тракту, гематурія, ниркова недостатність (Степанов В.М., 1999; Jacobsen S.J., 1997; Lepor H., 2004). ДПГ також пов'язується з еректильною дисфункцією в пацієнтів (Bruskewitz R.C., 2003; Daly M.P., 2005).

Відкрите компаративне дослідження в паралельних групах ефективності та безпечності лікарського засобу, що містить ULD анти-PSA+анти-eNOS та ULD анти-PSA, в лікуванні сечових розладів, спричинених ДПГ, проводилося на 40 пацієнтах, вибраних відповідно до критеріїв виключення/включення. Пацієнти були розділені на 2 групи, одна група приймала по 1 таблетці тричі на день протягом 12 тижнів (n=21) препарату ULD анти-PSA+анти-eNOS, інша група приймала по 1 таблетці тричі на день протягом 12 тижнів (n=19) препарату ULD анти-PSA. Групи порівнювалися за параметрами віку, серйозності симптомів ДПГ, сечовиділення та об'єму простати.

До дослідження були залучені пацієнти віком за 45 років з ДПГ з відповідними симптомами нижчого сечового тракту протягом не менше 6 місяців, МШОПС $\geq$ 13, з об'ємом простати відповідним до ультразвукового транс ректального обстеження $\geq$ 30 см³, з максимальною швидкістю сечовиділення $\geq$ 4 мл/сек та мінімальним залишковим об'ємом сечі рівним 125 мл, з рівнем PSA $\leq$ 4нг/ мл. Одним з необхідних критеріїв включення була відсутність прийому таких медикаментів як фінастерид, дутастерид, або інший експериментальний засіб за 6 місяців до участі в дослідженні, інгібітори α 1-андренорецептора та трав'яні медикаменти за 4 тижні до участі в дослідженні, будь-які інгібітори фосфодіестерази 5 типу та інші лікування еректильної дисфункції за 4 тижні до участі в дослідженні.

Дослідження не включає пацієнтів, до яких були застосовані інвазивні методи лікування ДПГ, включаючи транс уретральну простатичну резекцію, термотерапію, транс уретральну голкову ампутацію, стантову ангіопластику, тощо. Також не були залучені пацієнти з злоякісними онкологічними захворюваннями, гострими сечовими затримками, каменями в сечовому міхурі, уретральною стриктурою, хворобою Маріона, інфекціями сечостатевої системи на фазі активного запалення, тощо.

Клінічна ефективність препарату була оцінена з огляду на покращення клінічних симптомів нижчого сечового тракту, на результати опитувальника МШОПС (Міжнародна шкала оцінки простатичних симптомів), параметри сечовиділення (максимальна та середня швидкість сечовиділення, об'єм сечовиділення, залишковий об'єм сечі) та об'єм простати, базуючись на даних, отриманих від ультразвукового транс уретрального обстеження. Також була оцінена еректильна функція, на основі даних, отриманих з опитувальника МПЕФ (Міжнародник показник еректильної функції). Результати дослідження викладені в Таблицях 22 та 23.

Таблиця 22

	ULD анти-PSA				ULD анти-PSA +ULD анти-eNOS			
	n/N(%) ¹	Середн є	12 тижнів, середнє	Δ, ср	n/N(%) ¹	Середн є	12 тижнів, середнє	Δ, ср
МШОПС, рівень	19/19 (100,0)	17,8	11,9	-5,9	20/21 (95,2)	16,0	10,5	-5,6
QoL/рівень (життєвий рівень)	19/19 (100,0)	3,4	2,4	-1,0	20/21 (95,2)	3,4	2,3	-1,1
МРЕф, рівень	2/19 (10,5)	17,8	18,6	0,8	4/21 (19,0)	17,5	18,9	1,4
Qmax/рівень (максимальний рівень сечі)	16/19 (84,2)	10,8	13,1	2,2	15/21 (71,4)	11,7	13,7	2,0
Qave, мл/с (середній рівень сечі)	15/19 (78,9)	5,8	7,1	1,3	18,21 (85,7)	5,8	7,1	1,3
V, мл (об'єм сечі)	10/19 (52,6)	218,6	206,8	- 11,8	15/21 (71,4)	203,7	252,0	48,3
RV, мл (залишковий об'єм сечі)	15/19 (78,9)	23,6	19,4	-4,3	14/21 (66,6)	19,1	14,1	-5,0
PV, см ³ (об'єм простати)	18/19 (94,7)	55,9	48,9	-7,0	15/21 (71,4)	57,0	52,4	-4,6

¹ - чисельник (n) позначає кількість пацієнтів, в яких спостерігається покращення, знаменник (N) позначає загальну кількість пацієнтів під наглядом.

5

Таблиця 23

Динаміка під-шкал обструктивних та іритативних симптомів, питання №7 з опитувальника Міжнародної шкали оцінки простатичних симптомів

	ULD анти-PSA		ULD анти-PSA +ULD анти-eNOS	
	M±SD 1 навідування	M±SD 2 навідування	M±SD 1 навідування	M±SD 2 навідування
Обструктивні	10,0±3,02 [#]	6,5±2,81 ^{***}	8,2±2,96	6,0±3,39 ^{**}
Іритативні	7,5±2,21 ^{&}	5,3±1,90 ^{***}	7,8±2,16 ^{&}	4,5±2,34 ^{***}
7-е питання	2,1±0,78	1,9±0,75	2,3±0,90	1,4±0,98 ^{***}
Обструктивні, % ²		-33,4±26,85		-25,2±34,50
Іритативні, % ²		-28,2±17,30		-40,3±30,35
7-е питання, % ²		-2,0±49,61 ^{##}		-37,7±39,23

^{*} - p<0,05 vs вихідного показника; ^{**} - p<0,01 vs вихідного показника; ^{***} - p<0,001 vs вихідного показника

^{##} - p<0,01 vs ULD анти-PSA

² - позначає зменшення порівняно з вихідним показником н %, середнє значення в групі.

10

Отримані результати підтверджують, що ULD анти-PSA та ULD анти-PSA +ULD анти-eNOS були ефективно використані для лікування симптомів нижчого сечового тракту, підвищення середньої та максимальної швидкості сечовиділення, покращення якості життя (Таблиця 22). Курс лікування не був довгим (12 тижнів), тому зниження в об'ємі простати не спостерігалось в жодній групі. ULD анти-PSA не мав впливу на об'єм сечовиділення, яке збільшилося лише в 52,6% пацієнтів, в середньому група показала статистично незначне зменшення об'єму сечовиділення на 11,8 мл (5,4%) у порівнянні з вихідними показниками. В той самий час, пацієнти, які приймали ULD анти-PSA +ULD анти-eNOS, продемонстрували збільшення об'єму сечовиділення в 71,4% і в середньому це збільшення становило 48,3 мл (23,7%) у порівнянні з вихідними показниками.

15

20

Аналіз динаміки обструктивних та іритативних симптомів відповідно до підшкал опитувальника Міжнародної шкали оцінки простатичних симптомів, а також проявів нуктурії

(питання №7 з МШОПС) показав, що обидва препарати впливають на зменшення обструктивних та іритативних симптомів, а також на зменшення симптомів нуктурії. В той же самий час, ULD анти-PSA +ULD анти-eNOS був більш ефективним у порівнянні з ULD анти-PSA у покращенні еректильної функції в пацієнтів. В групі ULD анти-PSA+ULD анти-eNOS загальний показник МПЕД (Міжнародний показник еректильної дисфункції) зріс на 19% в пацієнтів (в групі ULD анти-PSA на 10,5%). В середньому цей показник в групі ULD анти-PSA+ULD анти-eNOS склав 8% у порівнянні з 4,5% в групі ULD анти-PSA.

Лікарський засіб показав високий рівень безпечності, протягом дослідження не було зареєстровано жодного випадку негативних явищ.

Таким чином, ULD анти-PSA +ULD анти-eNOS показав більшу ефективність у порівнянні з ULD анти-PSA у лікуванні проблем з сечовиділенням, спричинених ДПГ. Додатково було виявлено більший ефект ULD анти-PSA +ULD анти-eNOS на еректильну функцію у порівнянні з ULD анти-PSA.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Метод підвищення ефективності активованої потенційованої форми антитіла до ендогенної біологічної молекули, вибраної з групи, що включає мозкоспецифічний білок S-100, простатоспецифічний антиген, фрагмент С-терміналу інсулінового рецептора β-ланцюга, фрагмент С-терміналу AT1 рецептора ангіотензину 2, який включає комбінування антитіла до вказаної ендогенної біологічної молекули в активованій потенційованій формі з активованою потенційованою формою антитіла до ендотеліальної NO-синтази, причому вказані активовані потенційовані форми комбінують у формі суміші гомеопатичних розведень C12, C30 та C200.

2. Метод за п. 1, який **відрізняється** тим, що включає застосування вказаної суміші пацієнтами, які потребують лікування даною активованою потенційованою формою антитіла.

3. Метод за п. 2, який **відрізняється** тим, що вказане антитіло в активованій потенційованій формі до вказаної ендогенної біологічної молекули є антитілом до мозкоспецифічного протеїну S-100.

4. Метод за п. 2, який **відрізняється** тим, що вказане антитіло в активованій потенційованій формі до вказаної ендогенної біологічної молекули є антитілом до простатоспецифічного антигену.

5. Метод за п. 2, який **відрізняється** тим, що вказане антитіло в активованій потенційованій формі до вказаної ендогенної біологічної молекули є антитілом до фрагмента С-терміналу інсулінового рецептора β-ланцюга.

6. Метод за п. 2, який **відрізняється** тим, що вказане антитіло в активованій потенційованій формі до вказаної ендогенної біологічної молекули є антитілом до фрагмента С-терміналу AT1 рецептора ангіотензину 2.

7. Лікарський засіб з підвищеною ефективністю активованої потенційованої форми антитіла до ендогенної біологічної молекули, який містить: а) активовану потенційовану форму антитіла до ендогенної біологічної молекули, вибраної з групи, що включає мозкоспецифічний білок S-100, простатоспецифічний антиген, фрагмент С-терміналу інсулінового рецептора β-ланцюга, фрагмент С-терміналу AT1 рецептора ангіотензину 2, у формі суміші трьох гомеопатичних розведень C12, C30 та C200, та б) активовану потенційовану форму антитіла до ендотеліальної NO-синтази у формі суміші трьох гомеопатичних розведень C12, C30 та C200.

8. Лікарський засіб згідно з п. 7, який **відрізняється** тим, що додатково містить фармацевтично прийнятний твердий носій.

9. Лікарський засіб згідно з п. 8, який **відрізняється** тим, що зазначена активована потенційована форма антитіла до ендотеліальної NO-синтази представлена у вигляді суміші гомеопатичних розведень C12, C30 та C200, якими обробляється зазначений твердий носій.

10. Лікарський засіб згідно з п. 7, який **відрізняється** тим, що зазначене антитіло в активованій потенційованій формі до вказаної ендогенної біологічної молекули є моноклональним або природним антитілом.

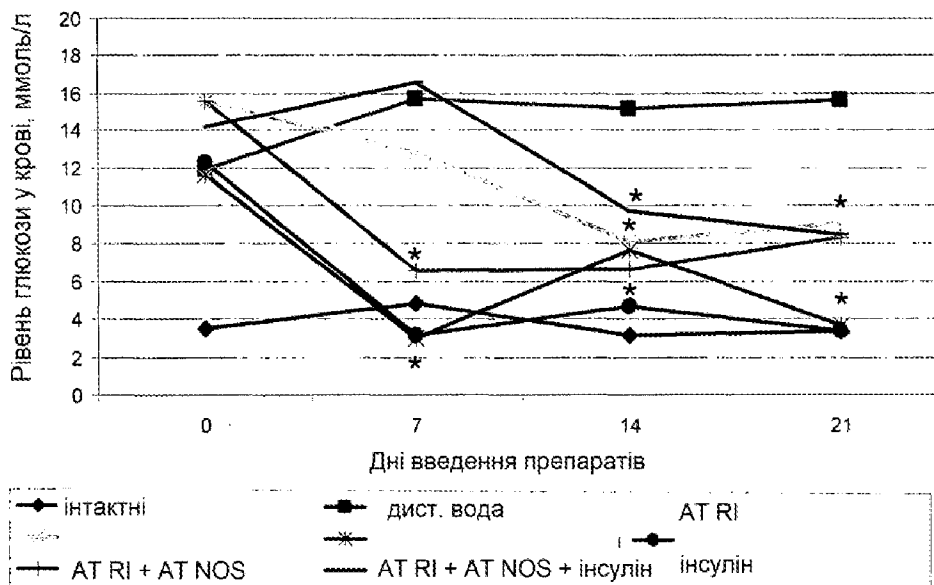
11. Лікарський засіб згідно з п. 10, який **відрізняється** тим, що зазначене антитіло в активованій потенційованій формі до вказаної ендогенної біологічної молекули є поліклональним антитілом.

12. Лікарський засіб згідно з п. 7, який **відрізняється** тим, що зазначена активована потенційована форма антитіла до вказаної ендогенної біологічної молекули виготовляється послідовними сотенними розведеннями разом зі струшуванням кожного розведення.

13. Лікарський засіб згідно з п. 7, який **відрізняється** тим, що зазначене антитіло в активованій потенційованій формі до ендотеліальної NO-синтази є моноклональним, поліклональним або природним антитілом.

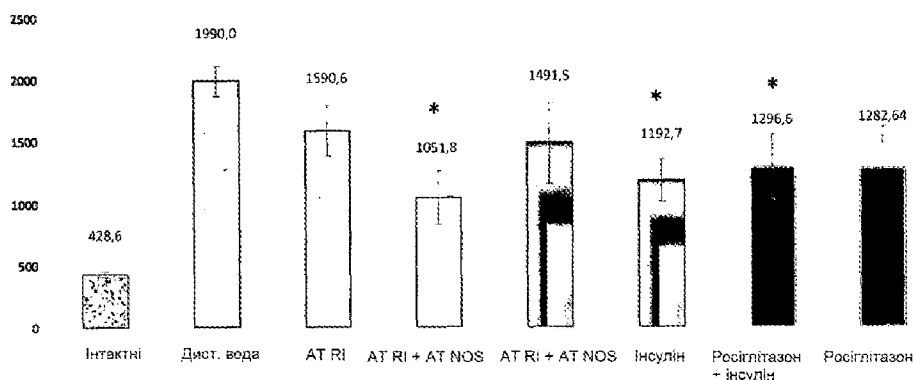
14. Лікарський засіб згідно з п. 8, який **відрізняється** тим, що зазначене антитіло в активованій потенційованій формі до ендотеліальної NO-синтази є поліклональним антитілом.
15. Лікарський засіб згідно з п. 9, який **відрізняється** тим, що зазначена активована потенційована форма антитіла до ендотеліальної NO-синтази виготовляється послідовними сотенними розведеннями разом зі струшуванням кожного розведення.

5



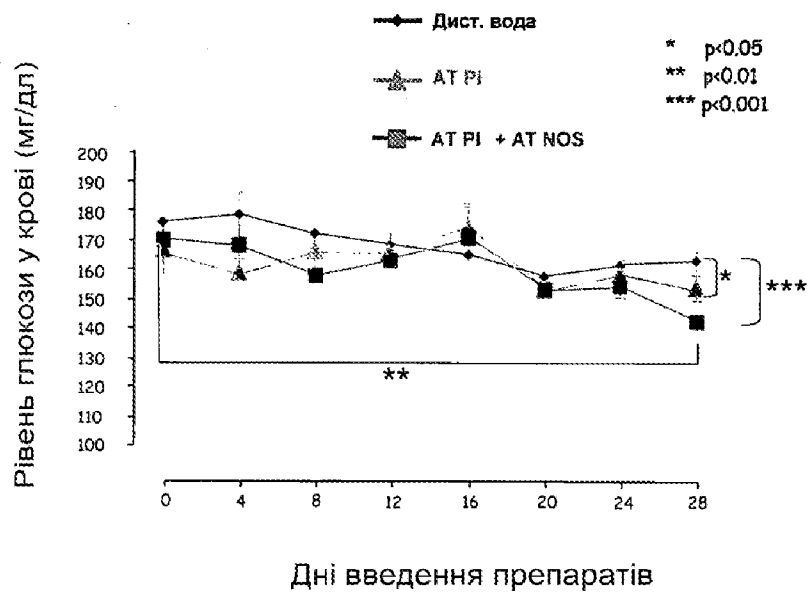
* відмінності достовірні відносно контролю (дистильована вода), $p < 0.05$

Фіг.1

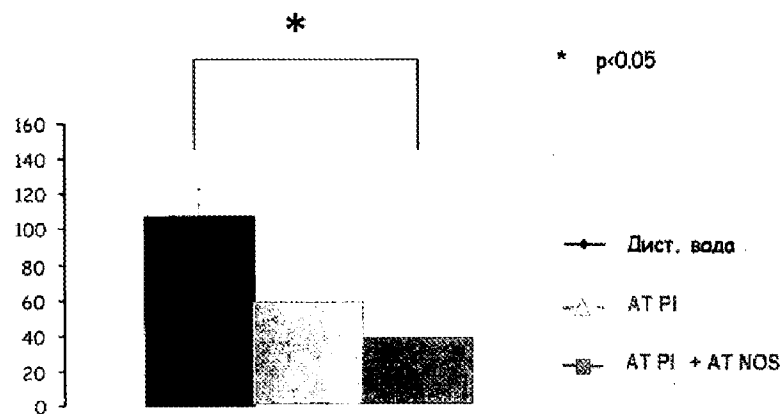


* відмінності достовірні відносно контролю (дистильована вода), $p < 0.05$

Фіг.2



Фіг.3



Фіг.4

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601