 (19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2011-0028457 (43) 공개일자 2011년03월18일
<p>(51) Int. Cl. <i>A61K 38/33</i> (2006.01) <i>A61K 38/16</i> (2006.01) <i>A61P 25/28</i> (2006.01) <i>A61P 25/00</i> (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2010-7028636</p> <p>(22) 출원일자(국제출원일자) 2009년05월21일 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2010년12월20일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2009/044907</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2009/143380 국제공개일자 2009년11월26일</p> <p>(30) 우선권주장 61/055,009 2008년05월21일 미국(US)</p>	<p>(71) 출원인 뉴로테즈 인코포레이티드 미국 08807 뉴저지주 브릿지워터 하이웨이 22. 991 스위트 200에이</p> <p>(72) 발명자 테자프시디스 니콜라오스 미국 07052 뉴저지주 웨스트 오렌지 하이웨이 22. 991 스위트 200에이 그레코 스티븐 미국 07072 뉴저지주 칼스타트 하이웨이 22. 991 스위트 200에이 스미스 마크 미국 44102 오하이오주 클리브랜드 하이웨이 22. 991 스위트 200에이</p> <p>(74) 대리인 특허법인코리아나</p>

전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 신경섬유 매듭과 연관된 신경변성 장애를 치료하는 방법

(57) 요약

기술된 발명은 진행성 인지 병, 장애 혹은 질환의 진행을 치료하거나 방지하는 방법들과 치료를 필요로 하는 대상의 인지기능 회복력 향상을 위한 방법들을 제공한다.

특허청구의 범위

청구항 1

(a) (i) 인산화된 타우 축적을 조절하는 양의 랩틴 조성물, 또는 약학적으로 허용 가능한 그것의 염 및 (ii) 약학적으로 허용 가능한 운반체를 포함하는 첫 조성물을 필요로 하는 대상에게 투여 하는 단계; 및

(b) 상기 대상의 뇌척수액 내 타우 인산화의 축적을 조절하는 단계

를 포함하는, 진행성 인지 장애를 치료하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 진행성 인지 장애는 알츠하이머병, 진행성 핵상마비, 치매, 권투선수치매, 크로이츠펔트-야콥병, 전두측두엽 치매, 픽스 병, 염색체 17 번과 연관된 파킨슨병을 수반하는 전두측두엽 치매 (FTDP-17), 피질 수반 하부 퇴화로 구성되는 군으로부터 선택되는, 치료방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 랩틴 조성물은 랩틴, 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염인, 치료방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 랩틴 조성물은 랩틴 유사체, 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염인, 치료방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 랩틴 조성물은 랩틴 파생물, 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염인, 치료방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 랩틴 조성물은 랩틴 작용제, 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염인, 치료방법.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 인산화된 타우 축적 조절 양이 약 0.01 mg/kg 체중 에서 약 100 mg/kg 인, 치료방법.

청구항 8

제 1항에 있어서,

상기 첫 조성물이 두번째 치료제를 더 포함하는, 치료방법.

청구항 9

제 8 항에 있어서,

상기 두번째 치료제는 적어도 하나의 항생제, 항곰팡이제, 항바이러스제, 항원생동물제, 스테로이드성 항염증제, 비스테로이드성 항염증제, 항산화제, 호르몬, 비타민, 항히스타민제 및 화학요법제인, 치료방법.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

상기 진행성 인지 장애는 뇌 내의 신경섬유매듭의 축적을 포함하는, 치료방법.

청구항 11

(a) (i) 인지 기능을 향상시키는 양의 랩틴 조성물 및 (ii) 약학적으로 허용 가능한 운반체를 포함한 조성물을 치료를 요하는 대상에게 투여하는 단계; 및

(b) 상기 대상의 뇌척수액 내 인산화된 타우의 축적을 조절하는 단계

를 포함하는 치료를 필요로 하는 대상의 인지 기능의 회복력을 향상시키는 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

상기 랩틴 조성물은 적어도 하나의 랩틴, 랩틴 모방자, 랩틴 과생물, AMP-의존성 단백질 키나아제 (AMPK) 활성화제, 랩틴 작용제, 랩틴 차단제, 랩틴 차단제의 유사체, 랩틴 대항제, AMP-의존성 단백질 키나아제(AMPK) 억제제, 또는 약학적으로 허용 가능한 그것들의 염들을 포함하는, 인지 기능의 회복력을 향상시키는 방법.

청구항 13

제 11 항에 있어서,

상기 랩틴 조성물은 두번째 치료제를 더 포함하는, 인지 기능의 회복력을 향상시키는 방법.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 상기 두번째 치료제는 적어도 하나의 항생제, 항곰팡이제, 항바이러스제, 항원생동물제, 스테로이드성 항염증제, 비스테로이드성 항염증제, 항산화제, 호르몬, 비타민, 항히스타민제, 및 화학요법제인, 인지기능의 회복력을 향상시키는 방법.

명세서

기술 분야

[0001] 상호 참조

[0002] 본 출원은 2008년 5 월 21일에 출원된 미 합중국 특허출원 번호 61/055,009 에 우선권을 주장하며 미국출원 내용 전체는 참조에 의해 본 출원에 병합된다.

[0003] 정부 연구 금

[0004] 본 발명은 미 합중국 노화연구소에서 지원된 연구비 (Grant Number SBRI -1R43AG029670)를 통해 이루어 졌다. 미 합중국 정부는 본 발명에 특정 권한이 있다.

[0005] 기술 분야

[0006] 본 발명은 진행성 정신질환을 치료하는 방법과 정신기능을 향상하는 방법과 관련된 것이다.

배경 기술

[0007] 알츠하이머병은 (“AD”, “알츠하이머 타입 노인성 치매 (SDAT)” 혹은 “Alzheimer’ s” 로 불리는) 중추신경계의 퇴행성 신경질환이다. 알츠하이머병 (AD) 은 주로 정신적 그리고 신경심리학적 증상을 기초로 해서, 환자의 병력, 주변 친척들의 종합적인 병력, 그리고 임상적 관찰을 통해서 진단이 이루어진다.

[0008] 알츠하이머병(AD)은 특징적으로 대뇌와 대뇌하부의 특정 부위들에 신경세포나 시냅스 (신경세포가 연결되는 부분)의 손실을 보인다. 이러한 손실은 측두엽과 정수리엽, 그리고 전두엽 피질과 대상회 (혹은 뇌양회) 부위의 퇴화를 포함하는, 해당부위의 전체적 위축 혹은 감퇴를 가져오게 된다. 알츠하이머를 앓고 있는 환자의 뇌를 현미경으로 보면 아밀로이드 반점 (amyloid plaques, “AP”) 과 신경다발성 병변 (neurofibrillary tangles, “NFT”) 을 볼 수 있다. 이러한 반점들은 아밀로이드 베타 (“A β ”) 단백질과 신경세포 외부 혹은 주위의 세포 구성물질들이 밀집된 불용성 침전물이다. 신경다발성 병변 (NFT)은 미세소관 연합 단백질인 타우 (tau) 단백질이 과인산화되고 신경세포내부에 축적되어 생긴 집합체들이다. 비록 많은 노인들에게서 노화의 산물로 어느

정도의 반점들과 신경다발성 병변이 생기지만, 알츠하이머 환자의 뇌에는 많은 수의 그러한 반점과 신경다발성 병변이 특정 뇌조직들에서, 예를 들면 측두엽에, 존재한다.

- [0009] 알츠하이머병은 조직학적으로 뇌 세포외부의 아밀로이드 침적물과 광범위한 신경 손실로 특징 지워진다. 세포 외부의 아밀로이드 침적은 초록성 (neuritic) 혹은 노인성 (senile) 반점들로도 알려져 있다. 아밀로이드 침적은 또한 혈관 내부나 주위에서도 발견되기도 한다. 알츠하이머와 유사 알츠하이머 노인성 반점의 주요 단백질 구성원은 아밀로이드 베타(A β)이다. A β 는 체내에서는 혈장과 뇌척수액 (cerebrospinal fluid (“CSF”))에서, 체외에서는 세포 배양액에서 발견되기도 한다.
- [0010] 다음 용어 “아밀로이드 펩타이드 (amyloid peptide)”, “아밀로이드 β 펩타이드”, 혹은 “아밀로이드 베타 (A β) “ 들은 본 출원에서 아밀로이드 전구체 단백질 (APP)의 단백질 분해과정을 통해 형성된 펩타이드들의 총체를 일컫기 위해 교환적으로 사용된다.
- [0011] 아밀로이드 전구체 단백질 (APP)는 3가지의 서로 다르게 접합된 아이소형 (isoforms)으로 존재하는데, 하나는 770개의 아미노산을 갖고 있고 (isoforms a) (SEQ ID NO: 1), 하나는 751 개의 아미노산을 갖고 있으며 (isoforms b) (SEQ ID NO: 2), 다른 하나는 695개의 아미노산을 갖고 있다. (isoforms c) (SEQ ID NO: 3).
- [0012] 본 출원에서 사용된 용어 “아밀로이드 전구체 단백질 (APP)”은 3가지 모두의 다른 형태 (isoforms)을 일컫는다. 다음용어 “아밀로이드 펩타이드”, “아밀로이드 β 펩타이드, 그리고 “아밀로이드 베타(A β) “ 들은 아밀로이드 베타 40 (A β 40) (SEQ ID NO:4), 아밀로이드 베타42 (A β 42) (SEQ ID NO:5) 그리고 아밀로이드 베타 43 (A β 43) (SEQ ID NO:6) 들을 포함하나 그것들에 제한되지는 않는다. A β 중에 두 주요 형태 들은 40 개의 아미노산으로 구성된 펩타이드인 아밀로이드 베타 40 (A β 40) (SEQ ID NO:4) 그리고 42 개의 아미노산으로 구성된 펩타이드인 아밀로이드 베타 42 (A β 42) (SEQ ID NO:5) 이다. 아밀로이드 베타 43(A β 43) (SEQ ID NO:6)은 43개의 아미노산으로 구성된 펩타이드이다.
- [0013] 일반적으로 뇌에 존재하는 지방들이 아밀로이드 베타(A β)와 관련된 병리학적 진로에 복잡하게 연관되어 있다고 믿어진다. A β 펩타이드는 알츠하이머 환자의 뇌에서 발견되는 아밀로이드성 반점의 주된 단백질성 구성요소이며 알츠하이머 질환의 주범으로 많이 알려져 있다. 세포 외에 증가된 A β 의 양이 알츠하이머 병리생물학에 있어서 중요하며, 아밀로이드 베타(A β)의 생산, 분비, 혹은 소거를 상쇄하는 속도에 의존한다. A β 를 생산하기 위해서나 그것을 리포단백질 수용체 연관 단백질 (“LRP”) 통로를 통해 받아들이기 위해서 신경세포들은 프리스나일린 1 (Presenilin 1, “PS1”)과 세포내 링커 단백질 170 (Cytoplasmic-Linker Protein 170, “CLIP-170”)의 상호작용에 의존한다고 보고 되었다. 여기에 더 요구되는 것은, A β 가 형성되는 것은 그 것을 구성하는 중요 단백질이 세포막의 지방 뗏목 (lipid rafts, “LRs”)에 집합하는 것에 의존한다는 것이다. 여기서 사용된 용어 “지방 뗏목 (lipid rafts)”은 콜레스테롤, 글리코스핑고리피드, 그리고 글루코실포스포페티딜 이노시톨에 연결된 (GPI-tagged) 단백질 등이 풍부하며, 신호전달, 단백질 이동과 분해에 관계된 세포막의 미세영역을 지칭한다. 이 지방 뗏목 (lipid rafts) 안에서 첫 번째로 아밀로이드 베타(A β)의 전구체이며 타입 I 세포막 단백질에 속하는 아밀로이드 전구체 단백질이 (“APP”) 단백질 분해효소 베타-시크리테이즈(protease β -secretase, BACE)에 의해 잘려져 AP와 CAPP β 의 c-terminal 중간 조각을 만들어내게 되는데, 그 조각들은 세포막에 묻혀 남아 있게 된다. CAPP β 는 그 이후 지방 이중막 안에 있는 위치에서 프리스나일린(presenilin), (PS1/PS2), 니카스트린(nicastrin), PEN-2, and APH-1 혹은 그것들의 조각들을 포함하는 고분자의 다수 단백질 복합체인 감마 시크리테이즈 (γ -secretase)에 의해 잘리게 된다. 아밀로이드 베타(A β)는 마지막으로 세포 밖으로 해제되는데 거기에서 아밀로이드 베타(A β)는 올리고화를 통해 축적되고 신경세포에 독성을 나타내게 되거나, 혹은 아포프로틴-E (apolipoprotein-E, apoE) 그리고 LRP 혹은 청소제 수용체 (Scavenger Receptor)등과 관련된 세포막의 함입과정 (endocytosis)을 통하거나 세포 외부의 단백질 분해효소 (proteases) (인슐린 분해 효소 (IDE)와 네프릴리신 (neprilysin)을 포함한)에 의해 제거될 수도 있다.
- [0014] 일반적으로 가용성인, 반점이 축적되기 전의, 아밀로이드 베타(A β) 올리고머들이 신경독성을 나타내어 신경퇴화, 연결부 (시냅스)의 손실, 치매 등을 일으킨다고 믿어지고 있다. 더 나아가서, 비정상적인 지방 축적으로 야기될 수도 있는 아밀로이드 베타(A β) 수준의 증가는 세포막 유동성과 지방 뗏목 (lipid raft) 구성의 변화를 가져올 수 있다.
- [0015] 다발성 섬유 병변 (NFT)은 알츠하이머를 앓고 있는 뇌의 특징중의 하나이다. 이러한 과인산화된 타우 단백질의 집성체는 “쌍 나선형 세섬유 (Paired Helical filaments, PHF)” 이라고도 지칭된다. 알츠하이머병의 주요 인자 혹은 주변 인자로서의 쌍 나선형 세섬유의 역할은 아직 잘 확실치 않은 상태이다. 하지만 쌍 나선형 세섬유의 축적은 미세소관 (microtubule) 네트워크의 불안정을 일으켜, 신경세포의 구조를 망가뜨리거나, 세포 내 물

질이동과 신호전달/소통을 교란시켜 신경세포의 죽음으로 이어지게 된다.

[0016] 다발성 섬유 병변 (NFT)은 알츠하이머병에만 특징적인 것은 아니다. 다발성 섬유 병변 (NFT)은 크로이트펠트-야콥병 (Creutzfeldt-Jakob disease), 핵상마비(supranuclear palsy), 피질수반 하부 퇴화(corticobasal neurodegeneration), 염색체 17번과 연관된 파킨슨병을 수반하는 전두측두엽 치매 (FTDP-17) 에서도 보여진다. 이것은 다발성 섬유 병변 (NFT)이 아마도 다수의 사건이나 공격으로 인해 야기된 신경퇴행으로 이어지는 과정의 마지막 점을 대표할 수도 있다는 것을 의미한다.

[0017] **렙틴 (Leptin)**

[0018] 렙틴은 지방조직에 의해 분비되는 나선형의 단백질인데, 그것은 체내 지방저장량 증가시 시상하부의 복내측핵에 존재하는 수용체에 작용하여 식욕을 감퇴시키고 에너지 소비를 증가시킨다. 렙틴 레벨은 여성이 남성보다 40% 정도 더 높게 존재하는데, 월경 개시기 바로 직전 50% 더 증가를 보이다가 그 이후 기본수치로 돌아온다. 렙틴 수준은 음식에 의해 낮아지고, 염증에 의해 증가한다.

[0019] 렙틴 혹은 렙틴 수용체를 암호화한 인간 유전자들은 이미 밝혀졌다. 렙틴을 암호화하고 있는ob 유전자에 돌연변이들을 가진 실험실 쥐들은 병적으로 비만하게 되고, 당뇨를 가지며, 생식력이 없게 된다. 하지만 렙틴을 이러한 쥐에 투여하면 포도당 내성이 향상되고, 육체 활동이 증가하고, 체중을 30% 까지 줄이며, 생식력을 회복하게 된다. 렙틴 수용체를 암호화하는 db 유전자의 돌연변이를 가진 쥐들 또한 비만하게 되고, 당뇨병을 가지게 되지만, 그 쥐들은 렙틴 투여로 그 증상들이 회복되지 않는다. 비록 렙틴 혹은 렙틴 유전자 모두에 돌연변이를 가진 경우가 작은 수의 비정상적인 식습관을 가진, 병적으로 비만인 사람들에게 발견되기는 했지만, 대부분의 비만인 사람들은 그러한 돌연변이를 보이지 않고, 정상이거나 상승된 순환하는 렙틴 수준을 가지고 있다. 기아 상태에서 보여지는 면역 결핍은 아마도 감소된 렙틴 분비로 초래될 수도 있다. 렙틴이나 혹은 그 수용체를 암호화한 유전자가 없는 쥐들은 T세포 기능의 손상을 보이며, 실험실 연구에서 렙틴은 인간 CD4 림프구 세포의 증가를 유도했다.

[0020] 렙틴은 또한 인슐린 감수성을 조절한다. 중추신경계 내에서 렙틴은 혈액-뇌 장막을 통과하여 음식 섭취, 체중과 에너지 소비를 증가하는 뇌의 특정 수용체에 결합한다. 일반적으로, (i) 렙틴은 체지방에 비례한 수준으로 순환하고; (ii) 렙틴은 혈장 농도에 비례해서 중추신경계로 진입하고; (iii) 렙틴 수용체들은 에너지 흡수와 소비를 조절하는데 관련된 뇌 신경세포에서 발견되며; (iv) 렙틴은 시상하부의 중기저 (mediobasal) 부분에 있는 수용체들에 작용해서 음식 섭취와 에너지 소비를 조절한다.

[0021] 일반적으로 렙틴은 뉴로펩타이드 Y (neuropeptide Y, NPY)와 아고우티관련 펩타이드 (agouti-related peptide, AgRP)를 포함한 신경세포들의 활동을 억제하고 알파-멜라닌세포 자극 호르몬 (α -MSH)을 발현하는 신경세포들의 활동을 증가한다고 알려져 있다. 그 뉴로펩타이드 Y 신경들은 식욕조절에 주 요소이다. 작은 양의 뉴로펩타이드 Y를 실험용 쥐의 뇌에 주입하면 음식섭취를 자극하는데 반해, 선택적으로 쥐의 뉴로펩타이드 Y 신경세포들을 파괴하면 그 쥐들은 신경성 식욕 부진증을 나타내게 된다. 반대로, 알파-멜라닌세포 자극 호르몬 (α -MSH)은 포만감 조절의 중요한 중개자인데, 알파-멜라닌세포 자극 호르몬 (α -MSH)이 뇌에 작용하는데 관여하는 수용체를 암호화한 유전자의 차이가 인간의 비만과 연결되어 있다.

[0022] 어떻게 아밀로이드 베타(A β) 펩타이드의 생산과 집성이 알츠하이머 질환 혹은 다른 진행성 정신 질환을 일으키는 지 알려져 있지 않다. 신경 다발성 병변 (neurofibrillary tangles)의 축적과 연관된 진행형 정신 질환의 임상적 치료와 진단 방법의 개발 수요가 남아 있다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0023] **발명의 개요**

[0024] 한 측면에 의하면, 기술된 발명은 진행성 정신질환을 치료하는 방법을 제공하는데, 그 방법은 다음 단계를 포함한다. (a) 치료가 필요한 환자에게 (i) 인산화된 타우 단백질의 증가를 조절하는 양의 렙틴조성물 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것들의 염 그리고 (ii) 약학적으로 허용 가능한 운반체를 투여하는 단계 그리고 (b) 피 치료자의 척수액내의 인산화된 타우 의 축적을 조절하는 단계. 그 방법의 한 실시예에 의하면, 그 진행성 정신질환은 알츠하이머병, 진행성 핵상마비 (supranuclear palsy), 치매, 권투선수치매 (dementia pugilistica), 크로이트펠트-야콥병 (Creutzfeldt-Jakob disease), 전두측두엽성 치매 (frontotemporal dementia), 픽스 병,

그리고 염색체 17번과 연관된 파킨슨병을 수반하는 전두측두엽 치매 (FTDP-17), 피질 수반 하부 퇴화 등의 군에서 선택된다. 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 랩틴 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염이다. 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 랩틴의 모방자이거나 약학적으로 허용 가능한 그것의 염이다. 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 랩틴 파생 물이거나 약학적으로 허용 가능한 그것의 염이다. 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 랩틴 작용제 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 100 mg/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 첫 조성물은 두번째 치료제를 더 포함한다. 다른 실시예에 의하면, 그 두번째 치료제는 적어도 항생제, 항곰팡이제, 항바이러스제, 항원생동물제, 스테로이드성 항염증제, 비스테로이드성 항염증제, 항산화제, 호르몬, 비타민, 항히스타민제, 그리고 화학요법제 중의 하나이다. 다른 실시예에 의하면, 그 진행성 질환은 뇌내의 신경섬유 매듭의 축적을 포함한다.

[0025]

다른 측면에 의하면, 본 발명은 치료가 필요한 대상의 인지기능 회복력을 향상시키는 방법을 제공하는데, 그 방법은 (a) 그 치료 대상에게 (i) 인지기능을 향상시키는 양의 랩틴 조성물, 그리고 (ii) 약학적으로 허용 가능한 운반체를 투여하는 단계, 그리고 (b) 그 대상의 척수액내의 인산화된 타우의 축적을 조절하는 단계를 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 적어도 하나의 랩틴, 랩틴 모방자, 랩틴 파생물, AMP-의존성 단백질 키나아제 활성화자, 랩틴 작용제, 랩틴 차단제, 랩틴 차단제의 모방자, 랩틴 대항제, AMP-의존성 단백질 키나아제 억제제, 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것들의 염들을 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 두번째 치료제를 더 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면, 그 두번째 치료제는 적어도 항생제, 항곰팡이제, 항바이러스제, 항원생동물제, 스테로이드성 항염증제, 비스테로이드성 항염증제, 항산화제, 호르몬, 비타민, 항히스타민제, 그리고 화학요법제 중의 하나이다.

도면의 간단한 설명

[0026]

도 1 은 시간과 용량에 의존된 랩틴에 의한 RA-SY5Y 세포내의 타우 단백질의 비 인산화를 나타낸 도면이다. 인간 신경모세포종 (neuroblastoma) 세포들에서 유래한 SY5Y 세포들의 신경세포로의 분화를 증진시키기 위해서 10 μ M의 레티노산 (retinoic acid)로 7일 동안 유도되었다. A. 유도된 세포들은 400 ng/ml의 랩틴으로 4시간 동안 처리되거나, 처리되지 않았다, (플라시보). 전체 세포 추출액들을 준비해서 항 랩틴 수용체(OB-R) 항체를 이용한 웨스턴 블롯으로 분석하였다. 표준화를 위해서 한번 이용한 막들은 항체를 벗겨낸 후 다시 항 튜블린 (tubulin) 항체로 조사하였다. 여기에서 보여지는 것은 여러 번의 실험을 대표할 수 있는 블롯이다. n=3. B. 다양한 시간 동안 랩틴 (400 ng/ml) 혹은 플라시보로 처리된 세포의 전체 세포 추출물을 준비해서 항-타우 (pSer³⁹⁶) 항체를 이용 웨스턴 블롯으로 분석하였다. 표준화를 위해서, 사용된 막들은 벗겨낸 후 다시 항-타우 (total) 항체를 이용하여 재검사 하였다. 보여지는 것은 여러 실험을 대표하는 블롯이다. n=3. C. 표준화된 B의 밴드 밀도는 밀도계로 분석하였다. 결과들은 플라시보로 처리된 샘플 (인위적으로 값어치 0으로 지정된) 과 비교해서 평균 \pm 표준편차 (퍼센트 배의 변화) 로 나타내었다. D. 유도된 세포들은 다양한 농도의 랩틴 혹은 플라시보로 4시간 동안 처리되었다. 나머지 실험들은 B에서와 같이 진행되었다. E. 표준화된 D의 밴드 밀도들은 C에서와 같이 분석되었다. IC₅₀ 는 타우 (pSer³⁹⁶)의 인산화를 50 퍼센트 감소시키는 랩틴의 농도를 나타낸다. *p<0.05 비 처리된 샘플과 비교한 p-값.

도 2 는 시간과 용량에 의존하는 RA-SY5Y 세포의 인슐린에 의한 타우 비 인산화를 보여준다. A. RA-SY5Y 세포들은 인슐린 (10 μ M)으로 4시간 동안 처리하거나 처리하지 않았다. (플라시보). 전체세포 추출물들을 준비해서 항-인슐린 수용체 (베타-서브유닛)를 이용하여 웨스턴 블롯으로 분석하였다. 표준화를 위해서 사용된 막들은 다시 벗겨서 항 알파 튜블린 (α -tubulin) 항체로 재검사 하였다. 여기에서 보여지는 것은 여러 번의 실험을 대표할 수 있는 블롯 이다. n=3. B. 다양한 시간 동안 인슐린 (10 μ M) 으로 처리된 세포들의 전체 세포 추출물을 준비하여 항-타우 (pSer³⁹⁶) 항체를 이용 웨스턴 블롯으로 분석하였다. 표준화를 위해서, 사용된 막들은 다시 벗겨 항-타우 (전체) 항체로 재검사하였다. 보여지는 것은 여러 실험을 대표하는 블롯이다. n=3. C. 표준화된 B의 밴드 밀도들은 밀도계로 분석하였다. 결과들은 평균 \pm 표준편차 (퍼센트 배의 변화) 로 나타내었다. D. 유도된 세포들은 다양한 농도의 인슐린 혹은 플라시보로 4시간 동안 처리되었다. 그 이후 실험들은 B와 같이 수행하였다. E. D의 표준화된 밴드 밀도들은 C에서와 같이 분석하였다. IC₅₀ 는 타우 인산화 (pSer³⁹⁶)를 50 퍼센트 감소시키는 인슐린 농도를 의미한다. *p<0.05 는 비 처리된 샘플과 비교해서 구하였다.

도 3 은 랩틴과 인슐린을 함께 처리했을 때 각각 개별적으로 처리했을 때보다 타우의 비 인산화를 더 많이 일으

킨다는 것을 보여준다. A. RA-SY5Y 세포들은 저농도 (100 ng/ml) 혹은 고농도 (1600 ng/ml) 의 랩틴 그리고/혹은 인슐린 (1 혹은 20 μ M) 으로 4 시간 동안 처리되거나 처리되지 않았다 (플라시보). 전체 세포 추출물을 준비해서 항 타우 (pSer³⁹⁶) 항체를 이용 웨스턴 블롯을 통해 분석하였다. 표준화를 위해서 사용된 막들은 다시 제거해서 항-타우 (전체) 항체를 이용 재검사하였다. 보여진 것은 대표적인 블롯이다. n=3. B. A의 표준화된 밴드 밀도들은 밀도계를 이용 분석하였다. 결과는 플라시보 처리된 샘플 (인위적으로 값어치 0으로 주어진) 과 비교하여 평균 \pm 표준편차 (퍼센트 배의 변화) 로 나타내었다. C. 세포들은 랩틴 (1600 ng/ml)과 인슐린 (20 μ M) 혹은 플라시보로 4시간 동안 처리되었다. 타우 인산화를 다시 유도하기 위해서 차가운 PBS를 이미 처리된 세포들에 10분간, 1 시간 첨가하거나 전혀 첨가하지 않았다. 그 이후 실험은 A에서와 같이 진행되었다. D. 표준화된 C의 밴드 밀도들은 B에서와 같이 분석되었다. 비 처리된 그룹과 비교해서 *p<0.05, 비 처리된 그룹과 비교해서 **p<0.01.

도 4 는 RA-SY5Y 세포들에서 5' -AMP-활성 단백질 키나아제 (AMPK)에 의한 타우의 비 인산화를 보여준다. A. 유도된 세포들은 AMP-활성 단백질 키나아제 작용제로 역할을 하는 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드 (AICAR, 1 mM) 로 1시간 혹은 처리되지 않았다 (플라시보). 전체 세포 추출물을 준비하여 항-AMP-활성 단백질 키나아제 알파(AMPK α pThr¹⁷²) 항체를 이용 웨스턴 블롯으로 분석하였다. 표준화를 위해 이용된 막들은 항체를 제거한 후에 항-AMP-활성 단백질 키나아제 알파 (전체) 로 재검사 하였다. 보여지는 것은 여러 번의 실험을 대표하는 블롯이다. n=3. B. 다양한 시간 동안 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드 (1 mM) 혹은 플라시보로 처리된 전체 세포 추출물을 준비해서 항 타우 (pSer³⁹⁶) 항체를 이용 웨스턴 블롯으로 분석하였다. 표준화를 위해서 이용된 막들은 스트립핑을 통해 항체를 제거한 후에 항-타우 (전체)를 이용하여 재검사 하였다. 보여지는 것은 여러 번의 실험을 대표하는 블롯이다. n=3. C. 표준화된 B의 밴드 밀도들은 밀도계를 이용하여 분석하였다. C. 표준화된 B의 밴드밀도들은 밀도계를 이용하여 분석하였다. 결과들은 플라시보로 처리된 샘플 (인위적으로 값어치 0으로 지정된) 과 비교해서 평균 \pm 표준편차 (퍼센트 배의 변화) 로 나타내었다. D. 유도된 세포들은 다양한 농도의 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR)로 1 시간 동안 혹은 플라시보로 처리하였다. 그 이후의 실험들은 B에서와 같이 수행하였다. E. D에서의 표준화된 밴드 밀도들은 C에서와 같이 분석하였다. IC₅₀ 는 타우 인산화 (pSer³⁹⁶)를 50 퍼센트 감소시키는 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드 (AICAR)의 농도를 나타낸다. *p<0.05 는 비 처리된 샘플과 비교해서 구하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027]

발명의 상세한 설명

[0028]

기술된 발명은 진행성 인지장애를 치료하거나 예방하는 방법들 그리고 인지기능의 회복력을 향상시키는 방법들과 연관되어 있다.

[0029]

한 측면에 의하면, 기술된 발명은 진행성 인지장애를 치료하는 방법을 제공하는데, 그 방법은 다음 단계를 포함한다. (a) 필요로 하는 대상자에게 (i) 인산화된 타우 축적을 조절하는 양의 랩틴 조성물, 그리고 (ii) 약학적으로 허용 가능한 운반체를 투여하는 단계, 그리고 (b) 그 대상자의 뇌척수액 내 인산화된 타우의 축적을 조절하는 단계.

[0030]

다른 측면에 의하면, 기술된 발명은 진행성 인지장애의 진행을 방지하는 방법을 제공하는데, 그 방법은 (a) 필요로 하는 대상자에게 (i) 인산화된 타우 축적을 조절하는 양의 랩틴 조성물, 그리고 (ii) 약학적으로 허용 가능한 운반체를 투여하는 단계, 그리고 (b) 그 대상자의 뇌척수액내 인산화된 타우의 축적을 조절하는 단계를 포함한다.

[0031]

한 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 랩틴, 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 랩틴 모방자, 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 랩틴 파생물, 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 랩틴 작용제, 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 AMP-의존성 단백질 키나아제 활성화제, 혹은 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 랩틴 차단제의 모방자, 혹은 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 랩틴 대항제, 혹은 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 다른 실시예에 의하면 그 랩틴 조성물은 AMP-의존성 단백질 키나아제 억제제, 혹은 허용 가능한 그것의 염을 포함한다.

- [0032] 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 적어도 랩틴, 랩틴 모방자, 랩틴 파생물, 랩틴 촉제제, AMP-의존성 단백질 키나아제 활성화제, 랩틴 차단제 모방자, 랩틴 대항제, AMP-의존성 단백질 키나아제 억제제, 혹은 허용 가능한 그것들의 염들 중의 하나를 포함한다.
- [0033] 여기서 사용된 용어 “치료하다” 혹은 “치료하는” 는 다음 중 하나 혹은 그 이상을 성취하는 것을 의미한다. (a) 질환의 중대성을 감소시키는 것; (b) 치료되는 질환(들)의 특징적 증상들의 발생을 제한하는 것; (c) 치료되는 질환(들)의 특징적인 증상들의 악화를 제한하는 것; (d) 그 질병(들)을 과거에 가졌던 환자에서 그 질환의 재발을 제한하는 것; 그리고 (e) 그 질병(들)의 과거 증상을 겪었던 환자에서 그 증상의 재발을 제한하는 것.
- [0034] 여기서 사용된 용어 “줄이다” 혹은 “줄이는” 들은 질병 발생의 위험이 있는 사람 내 그 질병의 발생을 제한하는 것을 지칭한다.
- [0035] 여기서 사용된 용어 “조절하다” 는 특정 양이나 분획으로 통제하거나, 고치거나, 적응시키거나, 조정하는 것을 의미한다.
- [0036] 여기서 사용된 용어 “질병” 혹은 “질환” 등은 건강의 손상 혹은 기능 이상의 상태를 지칭한다. 여기서 사용된 용어 “신드롬” 은 특정 질병 혹은 상태를 나타내는 증상의 패턴을 지칭한다. 여기서 사용된 용어 “부상” 은 물리적 혹은 화학적인 외부의 물질이나 힘에 의해서 신체의 구조나 기능이 다치거나 손상된 것을 지칭한다. 여기서 사용된 용어 “상태” 는 다양한 건강 상태를 지칭하며, 모든 작용기전이나 장애, 부상, 그리고 건강한 조직과 기관을 향상에 의해 생긴 장애나 질환을 포함한 것을 의미한다.
- [0037] 진행성 인식장애들은 진행성 핵상마비 (progressive supranuclear palsy); 치매 (dementia); 권투선수 치매 (dementia pugilistica), 알츠하이머병 (Alzheimer’s disease), 크로이츠펔트-야콥병 (Creutzfeldt-Jakob disease), 전두측두엽 치매 (frontotemporal dementia), 픽스병 (Pick’s disease), 다른 타우에 이상을 가지는 병들, 즉, 염색체 17번과 연관된 파킨슨병을 수반하는 전두측두엽 치매 (FTDP-17), 피질수반 하부 퇴화 (cortico-basal degeneration), 전두측두엽 퇴화 (FTLD); 조직학적으로 특징이 없는 치매 등을 포함하지만 그것들에 제한되지는 않는다.
- [0038] 여기서 사용된 용어 “투여하는” 는 복용토록 하거나 혹은 배분하는 것을 지칭하며 신체 외로의 직접 투여 뿐만 아니라 신체 내로의 투여도 포함한다. 일반적으로, 조성물들은 시스템적으로 경구, 구강, 신체 표면, 흡입법, 혹은 직장을 통해 서, 일반적으로 사용되는 비 독성이며 약학적으로 허용 가능한 요망하는 운반체, 보조제, 수송체 등을 포함하는 투약량 단위로 투여될 수도 있으며, 혹은 주사, 삽입, 이식, 피부 투여, 혹은 비경구적으로 국부적으로 투여될 수도 있다.
- [0039] 여기서 교환적으로 사용되는 “대상” 혹은 “개인” 혹은 “환자” 는 인간을 포함한 포유류 기원의 동물 종의 한 일원을 지칭한다.
- [0040] 용어 “펩타이드 모방자” 는 특정 펩타이드를 모방하거나 모사하기 위해 고안된 작은 단백질 같은 체인을 지칭한다. 펩타이드 모방자는 특정 자연 모 펩타이드의 생물학적 기여기서 사용되는 “진행성 인지 장애를 가진 대상” 은 진단 표지자 그리고/혹은 진행형 인지 장애와 연관된 증상을 나타내는 사람을 지칭한다. 진행형 인지 장애는 일반적으로 환자 기록, 친척의 총체적 병력, 그리고 특징적인 신경학적 그리고 신경심리학적 특징들의 존재 그리고 대안 증상의 부재 등을 기초로 한 임상적인 관찰을 통해 임상적으로 진단된다. 이러한 기준들은 인지 손상, 그리고 의심되는 치매 병의 존재가 요구되며, 신경심리학적 검사를 통해서 재확인된다. 다른 대뇌 병리 나 다른 치매의 부분 형태를 배제하는데 도움이 될 수 있도록 컴퓨터 단층촬영술 (CT), 혹은 자기공명영상 (MRI), 그리고 단일광자방출 컴퓨터 단층촬영술 (SPECT) 혹은 양전자 방출 단층촬영 등과 같은 진보된 의학 영상 기술이 사용될 수 도 있다. 기억 검사를 포함한 지적 기능 검사는 그 질병의 특성을 보다 잘 기술하게 할 수 있다. 보다 정확한 진단을 위해서 뇌 조직 현미경검사를 포함한 조직 병리학적 확증이 필요할 수도 있다. 알츠하이머병에서는 8 개의 인지 영역이 가장 일반적으로 손상을 입는데 이는 기억, 언어, 지각 기술, 주의력, 추정능력, 적응, 문제 해결과 직무 능력들이다. 이러한 영역들은 정신질환의 진단과 통계학 지도서 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR)) (미국 정신의학회 발행) (본 출원에 참조로 병합된)에 실려 있는 NINCDS-ADRD알츠하이머 기준 목록과 동등하다.
- [0041] 진행형 인지 질환의 위험이 있는 사람은 하나 혹은 그 이상의 진행형 인지 질환 발생 요소를 미리 가지고 있는 사람이다.

- [0042] 필요로 하는 대상은 진행형 인지 질환을 가지고 있거나 가질 위험이 있는 환자이다.
- [0043] 여기서 사용된 용어 “치매”는 정상 노화로 부터 예상되는 범위를 벗어난 뇌의 손상 혹은 질환으로 야기된 인지 기능의 감퇴 혹은 점진적인 감퇴를 지칭한다. 용어 “인지기능”은 사고, 학습, 판단, 기억, 계산, 운동 기능 조절등과 같은 정신 업무를 수행하는 능력뿐만 아니라 본인의 생각들에 대한 이해, 지각, 자각을 만들어내는 지적 과정들을 지칭한다.
- [0044] 용어 “펩타이드 모방자”는 특정 펩타이드를 모방하거나 모사하기 위해 고안된 작은 단백질 같은 체인을 지칭한다. 펩타이드 모방자는 특정 자연 모 펩타이드의 생물학적 기능을 모방하거나 대항할 수 있는 비 펩타이드로 된 구조적 요소를 포함할 수도 있다. 용어 “렙틴 펩타이드 모방자”, “렙틴 모방자”, 그리고 “렙틴 유사체” 등은 본 출원에서 생물학적 영향을 끼칠 수 있는 렙틴 단백질의 기능 영역을 포함한 렙틴의 파생물을 지칭한다. 화학적으로, 파생물은 적어도 이론적으로 전구체 화합물로부터 형성될 수도 있는 화합물이다. 이러한 화합물들은 다른 분자들과 합쳐서 생물학적 영향을 나타내거나 증진시킬 수 있다. 그러한 생물학적 영향은, 예를 들어, 한 대상자내의 아밀로이드 펩타이드 수준을 조절하는 기능, 한 대상자내의 타우 인산화 수준을 조절하는 기능, 한 대상자 내에 아밀로이드 펩타이드 수준을 줄이는 기능, 한 대상자내의 타우 인산화 수준을 낮추는 기능과 같은 것 들을 포함하지만 이 예들에 한정되지는 않는다.
- [0045] 여기서 사용된 용어 “대항제”는 다른 물질의 영향을 약화하거나 중화하는 물질을 의미한다. 여기서 사용된 용어 “작용제”는 한 수용체를 활성화시켜 전체 혹은 부분적인 약리학적인 반응을 일으킬 수 있는 화학물질을 일컫는다. 여기서 사용된 용어 “차단제”는 다른 물질의 생리학적 기능을 억제하는 물질을 가리킨다.
- [0046] 용어 “렙틴 작용제”는 렙틴 수용체 그리고/혹은 그 밑의 효과인자들을 활성화할 수 있고 대상내의 아밀로이드 펩타이드 수준이나 타우 인산화를 조절할 수 있는 화합물을 지칭한다. 그러한 효과인자들은, 예를 들면, AMP-의존성 단백질 키나아제 (“AMPK”) 그리고 스테롤 제어요소 결합단백질 (sterol regulatory element binding proteins, “SREBP”)를 포함할 수도 있지만 그 예들에 한정되지는 않는다.
- [0047] 클래스 I 시토키인 수용체 집합체의 한 일원인 렙틴 수용체 (OB-R)는 대체 유전자 접합 (alternative splicing)의 결과로 적어도 6개의 아이소형 (isoforms)을 가진다. 여기에 사용된 “아이소형”은 다른 단백질과 같은 기능을 가지지만 그 아미노산 배열에 몇몇 작은 차이(들)이 있는 단백질의 한 형태를 가리킨다. OB-R 의 모든 아이소형들은 동일한 세포 밖 리간드 결합부위를 가진다. 렙틴의 기능성 수용체 (OB-Rb), b 아이소형, 은 에너지 항상성을 조절하는 시상하부뿐만 아니라, 다른 뇌 부분, 그리고 태생적 그리고 적응적 면역에 관계하는 모든 세포를 포함한 말단 에서도 발현된다.
- [0048] 용어 “치료상으로 유효한 양”, “ 유효량”, 혹은 “약학적으로 유효한 양”의 하나 혹은 그 이상의 활성제는 교환적으로 의도된 치료의 효과를 제공하기에 충분한 양을 지칭한다. 기술된 발명에서 사용되는 활성제의 유효한 양은 일반적으로 약 0.01 mg/kg 체중 에서 약 100 g/kg 체중이다. 하지만, 투여량은 부상, 나이, 체중, 성별, 환자의 다른 질병유무, 그 질병의 정도, 투여 경로, 그리고 사용되는 특정 활성제등 다양한 요소에 기반해서 정해진다. 따라서 투여 요법은 많이 다를 수 있으나, 표준 방법들을 이용해서 의사에 의해 손쉽게 정해질 수 있다. 부가적으로, 용어 “치료상으로 유효한 양” 그리고 “약학적으로 유효한 양” 들은 본 발명의 예방할 수 있는 양의 조성물 을 포함한다. 기술된 발명의 예방학적인 응용법에서, 약학적 조성물 혹은 약물들은 아밀로이드 펩타이드의 축적으로 인한 질병, 장애 혹은 질환에 취약하거나 걸릴 위험에 있는 환자들에게 그러한 위험을 제거하거나 줄이기에 충분한 양만큼, 병의 경중도를 줄이기에 충분한 양만큼, 혹은 생화학적, 조직학적 그리고/혹은 행동학적 병, 장애, 혹은 질환의 증상을 포함한 병, 장애, 질환, 그 합병증, 그리고 병, 장애, 질환의 발생 동안 나타나는 병리학적 중간 표현형의 발생을 지연시키기에 충분한 만큼 투여된다.
- [0049] 여기서 사용된 용어 “인산화된 타우 축적을 조절하는 양”은 타우 단백질의 인산화를 조절하는, 치료상으로 유효한 양의 렙틴 조성물 지칭한다. 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 본 발명 조성물의 예방학적 양을 포함한다.
- [0050] 여기서 사용된 용어 “인지 기능을 상승시키는 양”은 치료상으로 유효한 양의 렙틴 조성물 (즉, 투여량과 투여 주기)로써 지각, 기억, 판단, 추리 등의 정신작용을 조절함으로써 인지 기능 향상양의 조성물이나 물질을 투여 받지 못한 개인과 비교했을 때 지적 기능을 향상시키거나 증가시키는 양을 가리킨다.
- [0051] 인지 기능을 향상 할 수 있는 양은 약 0.01 mg/kg 체중 부터 약 100 g/kg 체중이다.
- [0052] 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 100 g/kg (체중)

이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 95 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 90 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 85 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 80 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 75 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 70 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 65 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 60 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 55 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 50 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 45 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 40 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 35 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 30 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 25 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 20 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 15 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 10 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 5 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 4 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 3 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 2 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 1 g/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 500 mg/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 250 mg/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 100 mg/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 50 mg/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 25 mg/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 10 mg/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 5 mg/kg (체중) 이다. 다른 실시예에 의하면, 그 인산화된 타우 축적을 조절하는 양은 약 0.01 mg/kg (체중) 에서 약 1 mg/kg (체중) 이다.

[0053] 여기서 사용된 용어 “치료제” 는 약, 분자, 핵산, 단백질, 조성물 혹은 치료효과를 제공하는 물질을 가리킨다. 여기서 사용된 용어 “활동적인” 은 의도하는 치료효과를 일으키는 본 발명의 조성물의 성분, 요소, 구성물들을 의미한다. 용어 “치료제” 그리고 “활성제” 는 여기서 교환적으로 사용된다. 활성제는 치료상으로 유효한 양의, 적어도 랩틴, 랩틴 모방자, 랩틴 파생물, 혹은 랩틴 작용제 혹은 그것들의 약학적으로 허용되는 염중의 하나일 수도 있다.

[0054] 여기서 사용된 용어 “치료 성분” 은 한 집단중의 특정 퍼센트 내 특정 질병의 출현이 진행되는 것을 제거하거나, 줄이거나, 예방하는, 치료상으로 효과적인 투약량 (즉, 투여량 과 투여주기)을 가리킨다. 보통 사용되는 치료 성분은 예를 들어 ED50인데, 그것은 한 집단의 50%에서 특정 질병 발현을 막는데 치료상으로 효과적인 양을 가리킨다.

[0055] 여기서 사용된 용어 “치료상인 효과” 는 기대했던 도움이 되는 결과를 나타내는 치료의 결과를 가리킨다. 치료 효과는 직접 혹은 간접적인, 질병 발현의 중지, 감소, 혹은 제거를 포함할 수도 있다. 치료 효과는 직/간접적으로 질병 발현 진행의 중지, 감소, 혹은 제거를 포함할 수도 있다.

[0056] 여기서 사용된 용어 “약 (drug)” 은 질병을 예방, 진단, 완화, 처리, 치료, 혹은 완치하는데 사용되는 치료제 혹은 음식 이외의 모든 물질의 지칭한다.

- [0057] 여기에서 기술된 조성물은 분리된 분자들이다. “분리된 분자 (isolated molecule)” 는 사실상 순수하고 자연이 나 신체 내에서 보통 발견되는 다른 성분들이 의도된 사용에 실용적이고 적합할 정도로 들어있지 않다. 특히, 그 조성물들은 사실상 순수하고 숙주 세포의 다른 생물학적 구성물들이 거의 들어 있지 않아서 약을 조제하거나, 구성분이 핵산, 펩타이드, 혹은 다당류이면 서열을 분석하는데 용이하다. 조성물들이 조제과정에서 약학적으로 허용 가능한 운반체와 섞일 수 있기 때문에, 조성물들은 전체 조제의 한 작은 퍼센트를 포함할 수도 있다. 그렇다 하더라도 그 조성물은 살아있는 생체나 혹은 합성 동안에 결합될 수도 있는 물질들로부터 충분히 순수 되어 있다 (분리되어 있다). 여기서 사용된 용어 “사실상 순수한 (substantially pure)” 는 분석 실험으로 순도를 재었을 때, 적어도 순도 75%, 적어도 순도 80%, 적어도 순도 85%, 적어도 순도 90%, 적어도 순도 95%, 혹은 적어도 99% 순도를 가진 것을 지칭한다. 그러한 실험 방법들은, 예를 들어 FACS, HPLC, 전기영동, 크로마토그래피와 같은 것들을 포함할 수 있는데, 그 예들에 한정되지는 않는다.
- [0058] 랩틴 조성물 그리고/혹은 첫 조성물은 다른 치료제와 결합되어질 수도 있고 국부적으로 투여될 수도 있다. 그 랩틴 조성물 그리고/혹은 첫 조성물 그리고 다른 치료제(들)은 동시에 혹은 순차적으로 투여될 수도 있다. 다른 치료제들이 동시에 투여될 때는, 조성물들은 같은 혹은 서로 구분된 조제로 투여될 수도 있지만, 동시에 투여된다. 다른 치료제들과 그 억제제의 투여가 시간적으로 분리되어있을 때는, 다른 치료제들은 서로 다른 치료제들 그리고 랩틴 조성물 그리고/혹은 첫 조성물과 순차적으로 투여된다. 이러한 치료제의 투약간 시간차는 몇 분이 될 수도 있고 그보다 더 길 수도 있다. 그 치료제들은 랩틴 대항제, 랩틴 차단제, 혹은 그것들의 혼합일 수 있다.
- [0059] 다른 실시예에 의하면, 랩틴 조성물 그리고/혹은 첫 조성물은 두번째 치료제를 더 포함한다. 그러한 몇 실시 예들에 의하면, 두번째 치료제는 항생제이다. 그러한 몇 실시 예들에 의하면, 두번째 치료제는 항곰팡이제이다. 그러한 몇 실시 예들에 의하면, 두번째 치료제는 항바이러스제이다. 그러한 몇 실시 예들에 의하면, 두번째 치료제는 항원생동물제이다. 그러한 몇 실시 예들에 의하면, 두번째 치료제는 스테로이드성 항염증제이다. 그러한 몇 실시 예들에 의하면, 두번째 치료제는 비 스테로이드성 항염증제이다. 그러한 몇 실시 예들에 의하면, 두번째 치료제는 항산화제이다. 그러한 몇 실시 예들에 의하면, 두번째 치료제는 호르몬이다. 그러한 몇 실시 예들에 의하면, 두번째 치료제는 비타민이다. 그러한 몇 실시 예들에 의하면, 두번째 치료제는 항히스타민이다. 그러한 몇 실시 예들에 의하면, 두번째 치료제는 화학요법제이다.
- [0060] 여기서 사용된 “항생제” 는 세균, 그리고 감염병의 치료에 사용되는 다른 미생물들을 파괴하거나 그것들의 성장을 억제할 수 있는 능력을 가진 화학물질의 그룹을 의미한다. 항생제는, 예를 들면, 페니실린 G; 메티실린; 나프실린; 옥사실린; 클록사실린; 다이클록사실린; 암피실린; 아목시실린; 티카르실린; 카르베니실린; 메트로실린; 아즈로실린; 파이프라실린; 이미페넴; 아스트레오남; 세팔로틴; 세파크롤; 세폭시틴; 세퓨록심; 세포니시드; 세프메타졸; 세포터탄; 세프프로질; 로라카르베프; 세페타메트; 세포페라존; 세포탐심; 세프티죽심; 세프트리악손; 세프타지다임; 세페파임; 세픽사임; 세프독록사임; 세프술로린; 프레록사신; 나리딕식 산; 노르플록사신; 시프로플록사신; 오픈록사신; 에녹사신; 로메플록사신; 시녹사신; 독시사이클린; 미노사이클린; 테트라사이클린; 아미카신; 젠타마이신, 카나마이신; 네틸마이신; 토브라마이신; 스트렙토마이신; 아지트로마이신; 클라리트로마이신; 에리스로마이신; 에리스로마이신 에스톨레이트; 에리스로마이신 에틸 석시네이트; 에리스로마이신 글루코헵토네이트; 에리스로마이신 락토바이오네이트; 에리스로마이신 스테레이트, 벤코마이신, 테이코플라닌; 클로람페니콜; 클린다마이신; 트리메토프림; 설파메톡사졸; 니트로퓨란토인; 리팜핀; 뮤피로신; 메트로니타졸; 세파렉신; 록시스로마이신; 코아목시클레뷰아네이트; 파이프라실린과 타조박탐의 혼합물; 그리고 그것들의 다양한 염, 산, 염기, 그리고 다른 파생물들을 포함하지만 그것들에 한정되지는 않는다. 항세균 항생제들은 페니실린들, 세팔로스포린들, 카바페넴들, 세파마이신들, 카바페넴들, 모노박탐들, 아미노글라이코사이드들, 글라이코펩타이드들, 퀴놀론들, 테트라사이클린들, 매크로라이드들, 그리고 플루오로퀴놀론 등을 포함하지만 그것들에 한정되지는 않는다.
- [0061] 여기서 사용된 항곰팡이제들은, 예를 들면, 곰팡이를 파괴하거나 그것들의 성장을 억제할 수 있는 능력을 가진 화학물질 그룹중의 하나를 의미한다. 항 곰팡이제는 암포테리신 B, 칸디시딘, 더모스테틴, 필리핀, 편지크로민, 하치마이신, 하마이신, 루센소마이신, 메파트리신, 나타마이신, 나이스테틴, 페실로신, 페리마이신, 아자세린, 그리세오폴빈, 울리코마이신, 네오마이신, 마이로나이트린, 시카닌, 튜버시딘, 비리딘, 뷰테나핀, 나프티핀, 터비나핀, 비포나졸, 뷰토코나졸, 클로단토인, 클로미다졸, 클로코나졸, 클로트리마졸, 에코나졸, 에닐코나졸, 펜티코나졸, 플루트리마졸, 이소코나졸, 키토코나졸, 라노코나졸, 미코나졸, 오모코나졸, 옥시코나졸, 설타코나졸, 설코나졸, 티오코나졸, 톨시크레이트, 톨린데이트, 톨나프테이트, 플루코놀, 이트라코나졸, 셰이퍼코나졸, 테르코나졸, 아크리졸신, 아모롤파인, 비페나민, 브로모살리실클로라닐라이드, 뷰클로사마이드, 칼슘

프로피오네이트, 클로페네신, 사이클로피록스, 클록시퀸, 코파라피네이트, 다이암테졸, 익살라마이드, 플루사이토신, 할레타졸, 헥세티딘, 로플루카본, 나이퓨라텔, 포타시움 아이오다이드, 프로피오닉 산, 피리티온, 살리실아닐라이드, 소듐 프로피오네이트, 셀벤틴, 티노나이트로졸, 트라이아세틴, 유조티온, 언디사이클레닉 산, 그리고 아연 프로피오네이트 등을 포함하지만 그것들에 한정되지는 않는다.

[0062] 여기서 사용된 항바이러스제는 바이러스 질병의 치료에 주로 사용되는 바이러스를 파괴하거나 그것들의 자기복제를 억제할 능력을 가진 화학물질 그룹의 중의 하나를 의미한다. 항바이러스제들은, 예를 들면, 아시클로빌, 시오포빌, 사이타라빈, 다이디옥시아데노신, 다이아노신, 에독수딘, 팜시클로빌, 플록스 유리딘, 갠시클로빌, 아이독스유리딘, 이노신 프라노벡스, 라미부딘, MADU, 펜시클로빌, 소리부딘, 스타부딘, 트라이플루리딘, 발라사이클로빌, 비다라빈, 자이시타빈, 지도부딘, 아세만난, 아세틸류신, 아만타딘, 아미디노마이신, 텔라비르딘, 포스카메트, 인디나빌, 인터페론들 (예를 들면 IFN- α), 키톡살, 라이소자임, 메티사존, 모록시딘, 네비라핀, 포도필로톡신, 리바비린, 리만타딘, 리토나빌2, 사퀴나빌, 스테일리마이신, 스타툴론, 트로만타딘, 키도부딘 (AZT) 그리고 제나조익산 등을 포함하지만 그것들에 한정되지는 않는다.

[0063] 여기서 사용된 “항원생동물제”는 원생동물 질병의 치료에 주로 사용되는 원생동물을 파괴하거나 그것들의 성장을 억제할 수 있는 능력을 가진 화학물질 그룹의 하나를 의미한다. 항원생동물제의 예는 피리메타민 (다라프림®) 설파다이아진 그리고 류코보린 등이 포함되지만, 그것들에 한정되지는 않는다.

[0064] 여기서 사용된 “스테로이드 계 항염증제”는 17개의 탄소와 4개의 원구조를 가진 많은 화합물중의 하나를 지칭하며, 스테롤, 다양한 호르몬들 아나볼릭 (동화작용) 스테로이드들), 그리고 글리코사이드들을 포함한다. 스테로이드계 항염증제 약들의 대표적인 예들은 하이드로코르티손, 하이드록실트라이암시놀론, 알파-메틸 텍사메타손, 텍사메타손-포스페이트, 베클로메타손 다이프로피오네이트, 클로베타솔 발레레이트, 테소나이드, 테스옥시메타손, 테스옥시콜티코스테론 아세테이트, 텍사메타손, 다이클로리손, 다이플로라손 다이아세테이트, 다이플로코톨론 발레레이트, 플루아드레놀론, 플루클로론 아세토나이드, 플루드로코르티손, 플루메타손, 피발레이트, 플루오시놀론 아세토나이드, 플루오시노나이드, 플루코틴 뷰틸이스터스, 플루오코르톨론, 플루프레드니텐 (플루프레드닐리텐) 아세테이트, 플루란드레놀론, 할시노나이드, 하이드로코르티손 아세테이트, 하이드로코르티손 뷰티레이트, 메틸프레드니솔론, 트라이아미시놀론, 아세토나이드, 콜티손, 콜토독손, 플루세토나이드, 플루드로코르티손, 다이플루오로손 다이아세테이트, 플루라드레놀론, 플루드로코르티손, 다이플루로손 다이아세테이트, 플루아드레놀론 아세토나이드, 메드리손, 암시나펜, 암신나파이드, 베타메타손과 그것의 에스테르 밸런스, 클로로프레드니손, 클로프레드니손 아세테이트, 클로코텔론, 클레시놀론, 다이클로로리손, 다이플루프레드네이트, 플루클로로나이드, 플루니소라이드, 플루오로메탈론, 플루퍼롤론, 플루프레드니솔론, 하이드로코르티손 발레레이트, 하이드로코르티손 사이클로펜틸프로피오네이트, 하이드로코르타메이트, 메프레드니손, 파라메타손, 프레드니솔론, 프레드니손, 비클로메타손, 다이프로피오네이트, 트라이암시놀론, 그리고 그것들의 혼합물들을 포함하지만 그것들에 한정되지는 않는다.

[0065] 비스테로이드계 항염증제는 아스피린과 같은 작용을 가진 큰 그룹의 약제들을 가리키며, 이부프로펜 (Advil®), 나드록센 소듐 (Aleve®), 그리고 아세트아미노펜 (Tyrenol®) 등을 포함한다. 본 발명과 연관되어 사용될 수 있는 부차적인 비스테로이드성 항염증제들은 옥시캠스 (예를 들면, 피록시캠, 아이속시캠, 티녹시캠, 수독시캠, 그리고 CP-14,304); 디스알시드, 비노틸레이트, 트릴리세이트, 사파프린, 솔프린, 다이플루니살, 그리고 펜도살; 다이클로페낙, 펜클로페낙, 인도메타신, 수린단, 톨메틴, 아이속세팍, 퓨로페낙, 티오미낙, 키도메타신, 아세마타신, 펜티아작, 조메피락, 클린다낙, 옥세피낙, 펠비낙, 그리고 키토티락과 같은 아세트산 파생물들; 메페나믹, 메클로페나믹, 플루페나믹, 니플루믹, 그리고 톨페나믹산등의 페나메이트들; 이부프로펜, 나프록센, 비록사프로펜, 플루비프로펜, 키토프로펜, 페노프로펜, 펜부펜, 인도프로펜, 피프로펜, 카프로펜, 옥사프로진, 프라노프로펜, 미로프로펜, 티옥사프로펜, 수프로펜, 아미노프로펜, 그리고 티아프로페닉등의 프로피오닉산 파생물들; 페닐뷰타존, 옥시펜뷰타존, 페프라존, 아자프로파존, 그리고 트라이메타존과 같은 미라졸들을 포함하지만, 그것들에 한정되지는 않는다. 이러한 비스테로이드계 항염증제들의 혼합물뿐만아니라 피부학적으로 허용 가능한 그러한 염증제들의 염과 에스테르들도 또한 사용될 수 있다. 예를들어, 에토펜아메이트, 플루페나믹 산 파생물 등이 피부표면으로 투여할때 특히 유용하다.

[0066] 여기에서 사용된 “항산화제”는 산화나 산소나 과산화수소에 의해 증가된 화학반응을 억제하는 물질을 가리킨다. 본 발명의 문맥상에서 사용될 수 있는 항산화제들은 아스코빅산 (비타민 C) 과 그 염들, 지방산의 아스코빌 에스테르들, 아스코빅산 파생물들 (예를들어, 마그네시움 아스코빌 포스페이트, 소듐 아스코빌 포스페이트, 아스코빌 솔베이트), 토코페롤 (비타민 E), 토토펜올 솔베이트, 토코페롤 아세테이트, 토코페롤의 다른 에스테

르들, 뷰틸레이트드 하이드록시 벤조익 산들과 그 염들, 6-하이드록시-2,5,7,8-테트라메틸크로만-2-카르복실릭 산 (Trolox[®] 라는 상품명으로 판매되는), 골릭산과 그것의 알킬 에스테르들, 특히 프로필 골레이트, 요산 과 그것의 염들 그리고 알킬 이스터들, 술폰산과 그것의 염들, 리폭익산, 아민들 (예를들어, N,N,-다이틸하이드록실 아민, 아미노 구아니딘), 설프하이드릴 화합물들 (예를들어, 글루타티온), 다이하이드록시 퓨마릭산과 그 염들, 글라이신 피돌레이트, 알지닌 필로레이트, 놀다이하이드로구아이레틱산, 바이오플라보노이드들, 커큐민, 라이신, 메타이오닌, 프롤라인, 수퍼옥사이드 디스뮤테이즈, 실리마린, 차 추출물, 포도 껍질/씨 추출물, 멜라닌, 그리고 로스메리 추출물들을 포함하지만, 그것들에 한정되지는 않는다.

[0067] 여기에서 사용된 “화학요법제” 는 질병을 치료하거나 조절하는데 유용한 화학약품을 지칭한다. 본 발명과 관련되어 사용 가능한 화학요법제들의 제한되지 않는 예들은 도노루비신, 독소루비신, 아이다루비신, 암루비신, 피라루비신, 에피루비신, 미토크산트론, 에토포사이드, 테니포사이드, 빈플라стин, 빈크리스틴, 마이토마이신 C, 5-FU, 파클리택셀, 도세택셀, 액티노마이신 D, 콜치신, 토포테칸, 이리노테칸, 젬시타빈 사이클로스포린, 베라파밀, 발스포도, 프로베네시드, MK517, GF120918, LY335979, 비리코다, 테르페나딘, 퀴니딘, 퍼빌레인 A, 그리고 XR9576 등을 포함하는데, 그것들에만 한정되지는 않는다.

[0068] 여기서 사용된 “항히스타민제” 는 신체 내 히스타민에 대항하는, 그리고 알러지 반응 (진초열과 같은) 감기 증상을 치료하는데 사용되는 모든 다양한 화합물들을 지칭한다. 본 발명과 관련되어 사용 가능한 항히스타민제의 제한되지 않는 예들은 클로페니라민, 브로페니라민, 텍스클로페니라민, 크리포르딘, 클레마스틴, 다이페하이드라민, 프로메타진, 파이프라진들, 파이프리딘들, 아스테미졸, 로라타딘, 그리고 테르페나딘들을 포함한다.

[0069] 여기서 사용된 “비타민” 은 대부분의 동물 영양에 기여하는 다양한 미세량의 필수 유기물질로써 대사과정의 조절에 관여하는 보조효소나 보조효소의 전구체로서 역할을 한다. 본 발명과 관련되어 사용할 수 있는 제한되지 않는 비타민들의 예들은, 비타민 A 와 그의 유사체 그리고 파생물들, 즉, 레티놀, 레티날, 레티닐 팔미테이트, 레티노익 산, 트레티노인, 아이소트레티노인 (총체적으로 레티노이드라고 알려져 있는), 비타민 C (L-아스코빅 산과 그것의 에스테르와 다른 파생물들), 비타민 B3 (나이아시나마이드와 그 파생물들), 알파 하이드록시산들 (글라이콜릭산, 젖산, 타르타릭산, 말릭산, 시트릭산등과 같은) 그리고 베타 하이드록시산 (살리실릭산과 같은)들을 포함한다.

[0070] 여기서 사용된 “호르몬” 은 신체 기관에 의해 생성되어 혈액을 타고 이동, 다른 부위에서 활동을 일으키는 자연 물질들 혹은 그것들의 합성유사체를 지칭한다. 본 발명과 관련되어 사용 적당한 호르몬들은 신경분비세포에 의해 생성된 모든 호르몬들, 생식샘 자극 호르몬 분비 호르몬 (GnRH), 코르티코트로핀 분비호르몬 (CRH), 갑상선 자극 호르몬 방출 호르몬 (TRH), 프로락틴 저해 호르몬 (도파민) 그리고 오렉신 (하이포크레틴)들 뿐만 아니라, 유전자조작 호르몬 (일반적으로 존재하지 않는 서열을 포함하도록 유전 조작된 DNA를 숙주세포에 도입하는 과정을 통해서 생성된 호르몬을 의미하는)들을 포함하는데, 그것들에 한정되지는 않는다.

[0071] “신경섬유매듭 (“NFT”)은 일반적으로 미세소관 결합 단백질 “타우 (tau)” 의 응집체를 지칭하는데, 그것들은 과인산화되고 세포 내에 축적된다.

[0072] 한 실시예에 의하면, 그러한 진행성 인지장애는 뇌 내의 신경섬유매듭의 축적을 포함한다. 다른 실시예에 의하면, 진행성 인지장애는 알츠하이머병이다. 다른 실시예에 의하면, 진행성 인지장애는 핵상마비 (supranuclear palsy)이다. 다른 실시예에 의하면, 진행성 인지장애는 치매이다. 다른 실시예에 의하면, 진행성 인지장애는 권투선수치매 (dementia pugilistica)이다. 다른 실시예에 의하면, 진행성 인지장애는 크로이츠펠트-야콥병 (Creutzfeldt-Jakob disease)이다. 다른 실시예에 의하면, 진행성 인지장애는 전두측두엽 치매이다. 다른 실시예에 의하면, 진행성 인지장애는 픽스병(Pick’s disease) 이다. 다른 실시예에 의하면, 진행성 인지장애는 염색체 17번과 연관된 파킨슨병을 수반하는 전두측두엽 치매 (FTDP-17), 피질수반 하부 퇴화 (corticobasal degeneration)질환이다.

[0073] 다른 측면에 의하면, 본 발명은 필요로 하는 대상내의 인지기능의 회복을 향상시키는 방법을 제공하는데, 그 방법은 (a) 필요로 하는 대상자에게 (i) 인지기능을 향상시키는 양의 랩틴 조성물; 그리고 (ii) 약학적으로 허용 가능한 운반체를 포함하는 조성물을 그 대상에게 투여하는 단계, 그리고 (b) 그 대상의 뇌척수액 내 타우 인산화의 축적을 조절하는 단계들은 포함한다.

[0074] 여기서 사용된 용어 “회복력” 은 질병, 질환, 중병, 증후군 혹은 장애를 앓는 동안 혹은 그 후에 원래의 형태, 위치 그리고 기능으로 돌아오게 하는 능력을 가리킨다.

[0075] 그 방법의 한 실시예에 의하면, 랩틴 조성물은 랩틴 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 또 다

른 실시예에 의하면, 랩틴 조성물은 랩틴 유사체 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면, 랩틴 조성물은 랩틴 파생물 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면, 랩틴 조성물은 AMP-의존성 단백질 키나아제 활성화자 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면, 랩틴 조성물은 랩틴 작용제 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면, 랩틴 조성물은 랩틴 차단제 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면, 랩틴 조성물은 랩틴 차단제의 유사체 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면, 랩틴 조성물은 랩틴 대항제 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면, 랩틴 조성물은 AMP-의존성 단백질 키나아제 저해제 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것의 염을 포함한다.

[0076] 또 다른 실시예에 의하면, 랩틴 조성물은 두번째 치료제를 더 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 항생제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 항곰팡이제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 항바이러스제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 항원생동물제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 비스테로이드 계 항염증제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 비스테로이드계 항산화제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 스테로이드 계 항염증제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 호르몬이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 비타민이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 항히스타민제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 화학요법제이다.

[0077] 조성물들

[0078] 본 발명의 조성물들은 치료에 효과적인 양으로 주어진다. 본 출원에서 제공되는 정보내용과 더불어서, 활성이 있는 여러 가지 화합물중 선택을 통해서, 그리고 효력, 상대적 생체이용률, 환자의 체중, 부작용의 정도와 바람직한 투여 방법 등의 요소들을 고려함으로써, 심각한 독성을 일으키지 않으나 특정 대상을 치료하는데 효과적인, 유효한 예방 혹은 치료 요법들을 계획할 수 있다. 특정 질병을 치료하는데 쓰이는 유효량은 질병이나 치료 질환, 특히, 치료에 활성이 있는, 투여되는, 랩틴, 랩틴 유사체, 랩틴 작용제, 랩틴 파생물 펩타이드, 랩틴 차단제 그리고/혹은 랩틴 대항제, 혹은 그것들의 혼합물, 혹은 질병 혹은 질환의 정도에 따라 다양해질 수도 있다. 통상의 지식을 가진 자는 특정 랩틴 조성물 그리고/혹은 다른 치료제들의 유효량을 필요이상의, 지나친 실험 없이 결정할 수 있다. 일반적으로 최대 복용량, 즉, 의학적 판단에 의한 가장 안전한 복용량,이 바람직하다. “복용량” 혹은 “투약량” 등은 본 출원에서 교환적으로 사용된다.

[0079] 여기에 기술된 혼합물들의 치료 유효량은 일차적으로 신체 내 실험이나 동물실험들을 통해 결정되어질 수 있다. 치료 유효 복용량은, 치료에 활성을 가진, 인간에게 테스트한적이 있는, 연관된 작용제와 같은, 비슷한 약학적인 활성을 나타낸다고 알려져 있는 화합물들 즉, 랩틴, 랩틴 유사체, 랩틴 작용제, 랩틴 파생물 펩타이드, 랩틴 차단제 그리고/혹은 랩틴 대항제, 혹은 그것들의 혼합물 등의 인간 실험정보로부터 결정되어 질 수 있다. 상기 방법과 다른 동 기술분야에 잘 알려져 있는 방법들에 기초해서 최대 효과를 거둘 수 있도록 복용량을 조정하는 것은 충분히 당 업자의 능력 내에서 이루어 질 수 있다.

[0080] 첫 조성물, 랩틴 조성물, 치료 유효한 랩틴, 랩틴 유사체, 랩틴 작용제, 랩틴 파생 펩타이드, 랩틴 차단제 그리고/혹은 랩틴 대항제, 혹은 그 혼합물들 등의 포물레이션들은 약학적으로 허용 가능한, 보통 약학적으로 허용 가능한 농도의 염, 버퍼링제들, 방부제들, 호환가능한 운반체들, 보조제들, 그리고 임의로 다른 치료제 들을 포함한, 용액형태로 투여될 수 있다.

[0081] 치료에 사용하기 위해서, 첫 조성물, 그리고/혹은 랩틴 조성물, 치료상으로 활성이 있는 랩틴, 랩틴 유사체, 랩틴 작용제, 랩틴 파생 펩타이드, 랩틴 차단제 그리고/혹은 랩틴 대항제, 혹은 그것들의 혼합물 등은 랩틴 조성물 그리고/혹은 첫 조성물을 바람직한 표면으로 전달하는 모든 방법에 의해 대상에게 투여될 수 있다. 약학 조성물을 투여하는 것은 동업자에게 알려진 모든 방법에 의해 이루어 질 수 있다. 투여경로는 경막 (수막공간)내, 동맥내, 비 경구적으로 (예를 들어, 정맥주사), 혹은 근육내, 경구, 구강내, 비강내, 직장내, 혹은 국소적 투여 등을 포함하지만, 그것들에 한정되지는 않는다.

[0082] 억제제들과 다른 치료제들은 수술 동안 질환 혹은 거기막밑 출혈 혹은 말초 혈관 경련 수축과 같은 부작용 등을 치료하기 위해서 혹은 동맥 내 수술 동안 투여될 수 있다.

[0083] 경구용 조성물들

[0084] 본 발명의 조성물들은, 예를 들어, 알약, 트로키(원형정제), 약용 드롭스 (로젠지), 수용성 혹은 유성 부유/현

탁액, 분산할 수 있는 분말 혹은 과립들, 유상액들, 경질 혹은 유연질의 캡슐, 혹은 시럽, 혹은 엘릭시르 등의 경구사용에 적당한 형태일 수 있다. 여기에 사용된 용어들 “경구” 혹은 “경구적으로”는 입에 의해 신체 내로 전달하는 것을 가리키는데, 이 과정 동안 다음 신체 부위중의 하나 혹은 그 이상에서 흡수가 일어난다: 입, 위, 소장, 폐 (또한 특히 흡입으로 지칭되는), 그리고 혀 밑의 미세 혈관들 (또한 특히 혀 밑으로 라고도 지칭되는). 경구용으로 사용되는 조성물은 알려진 모든 방법으로 만들 수 있으며, 그러한 조성물들은 약학적으로 세련되고 맛이 좋게 만들기 위해서 사용되는 감미료들, 향료들, 색소들, 방부제 그룹 중 하나 혹은 그 이상의 성분들을 포함할 수도 있다. 알약은 활성제(들)과 비독성인 약학적으로 허용 가능한, 알약을 만드는데 적당한, 결합 제들을 포함할 수 있다. 이러한 결합제들은, 예를 들어, 탄산칼슘, 탄산나트륨, 유당, 인산칼슘, 혹은 인산나트륨과 같은 비활성 회석제들; 과립용과 해체용 성분들, 예를 들어, 옥수수 전분 혹은 알지닌 산; 결합제, 예를 들어, 전분, 젤라틴, 아카시아; 그리고 윤활제들, 예를 들어, 마그네시움 스티어레이트, 스테아릭산 혹은 활석 등이다. 알약들은 껍질을 입히지 않거나, 혹은 분해나 장내 흡수를 지연하기 위해 알려진 기술들로 코팅되어 오랜 기간 동안에 걸쳐 지속적인 효과를 제공할 수도 있다. 예를 들어, 글리세릴 모노스티어레이트 혹은 글라이세릴 디스테어레이트 같은 시간 지연 물질들이 사용될 수 있다. 그것들은 또한 조절 방출을 위해서 코팅될 수도 있다.

[0085] 본 발명의 조성물들은 활성 성분(들)이 비활성 고체 회석제 (예를 들어, 탄산칼슘, 인산칼슘, 카올린)와 섞여진 경화된 젤라틴 캡슐 혹은 활성 성분(들)이 물 혹은 유성 매개체 (예를 들어, 땅콩기름, 액체 파라핀, 혹은 올리브유) 등과 섞여진 유연한 젤라틴 캡슐로 포물레이션될 수도 있다.

[0086] 본 발명의 조성물들은 활성 성분(들)이 수용성 부유액의 제조에 적당한 결합제와 섞여진 수용성 부유액 형태로 포물레이션될 수도 있다. 그러한 결합제는, 예를 들어, 소듐 카박시메틸셀룰로즈, 메틸셀룰로즈, 하이드록시-프로필메틸셀룰로즈, 알긴산 나트륨, 폴리비닐피롤리돈, 겔 아카시아 같은 부유액들, 분사 혹은 습윤제는 자연적으로 생기는 레시틴과 같은 인지질 혹은 폴리옥시에틸렌 스티어레이트 같은 지방산과 알킬렌 옥사이드의 중합물, 혹은 헵타데카에틸-에네옥시세타놀같은 긴 사슬의 지방족 알콜들과 에틸렌 옥사이드의 중합물, 혹은 지방산과 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노올리에이트 같은 헥시톨에서 유래한 부분 에스테르들과 에틸렌 옥사이드의 중합물, 혹은 지방산과 폴리에틸렌 소비탄 모노올리에이트 같은 헥시톨 언하이드라이드들에서 유래된 부분 에스테르들과 에틸렌 옥사이드의 중합물일 수 있다. 그러한 수용성 부유액들은 또한 하나 혹은 그 이상의 착색제, 향료, 그리고 자당(sucrose) 혹은 사카린등의 하나 혹은 그이상의 감미료를 포함할 수도 있다.

[0087] 본 발명의 조성물들은 활성 성분을 땅콩기름, 올리브기름, 참기름, 혹은 코코넛 오일, 혹은 액상 파라핀과 같은 미네랄 오일에 섞어서 유성 부유액 형태로 포물레이션 될 수도 있다. 그러한 유성 부유액들은, 예를 들어, 밀랍, 단단한 파라핀 혹은 세틸 알콜 등의 농화제를 포함할 수도 있다. 위에서 기술된 감미료들과 향료들은 맛이 좋은 경구용 제조를 위해 첨가될 수도 있다. 이러한 조성물들은 아스코빅산과 같은 항산화제의 첨가를 통해서 보존될 수도 있다.

[0088] 본 발명의 조성물들은 분산할 수 있는 분말과 물에 첨가해서 수용성 부유액으로 조제가 적당한 과립의 형태로 포물레이션될 수도 있다. 그러한 분말의 활성 성분은 분산제 혹은 습윤제, 부유제, 그리고 하나 혹은 그 이상의 방부제와 함께 혼합된다. 적당한 분산제 혹은 습윤제들, 그리고 부유제들은 위에 이미 예시화 하였다. 부가적인 결합제들, 예를 들어, 감미료, 향료, 그리고 착색제들, 또한 첨가될 수 있다.

[0089] 본 발명의 조성물들은 또한 유탁액의 형태일 수도 있다. 유탁액은 두 개의 서로 섞이지 않는 액체 운반체들을 합쳐서 만들어진 두 가지의 상태로 존재하는데, 그 중 하나는 다른 액체 운반체에 균일하게 분포되고 가장 큰 콜로이드 (교상체) 알갱이들의 지름과 같거나 그보다 큰 지름을 가진 작은 방울로 구성된다. 그 방울 크기는 중요하며 그 유탁액이 최대로 안정될 수 있는 정도의 크기여야만 한다. 보통, 두 상태의 분리는 유체화하는 세 번째 물질이 합쳐지지 않으면 일어나지 않는다. 따라서, 기본 유탁액은 적어도 세 가지의 구성요소, 두 가지의 서로 섞이지 않는 액체 운반체와 유체화 하는 성분, 그리고 활성성분을 포함한다. 대부분의 유탁액들은 수용성상이 비수용성 상으로 (혹은 반대로) 합쳐진다. 하지만, 기본적으로 비수용성인 유탁액들을 만들 수도 있는데, 예를 들면, 비수용성의 혼합되지 않은 글라이세린과 올리브오일의 음이온과 양이온 계면 활성제가 그러하다. 따라서, 본 발명의 조성물들은 오일이 물 안에 있는 형태의 부유액일 수도 있다. 그 유성상은 올리브 오일 혹은 땅콩오일과 같은 식물성 오일일 수도 있고, 액상 파라핀과 같은 미네랄오일, 혹은 그것들의 혼합체일 수도 있다. 적당한 유상화제들은 아라비아고무 혹은 트레거캔스 고무, 자연적으로 발생하는, 콩, 레시틴과 같은 인지질, 그리고, 예를 들어, 소비탄 모노올리에이트같은, 지방산과 헥시톨 언하이드라이드들에서 유래한 에스테르 혹은 부분 에스테르들, 그리고, 예를 들어, 폴리옥시에틸렌 소비탄 모노올리에이트 같은 부분 에스테르들과

에틸렌 옥사이드들의 중합물들일 수도 있다. 그 유탁액들은 감미료와 향료를 포함할 수도 있다.

[0090] 본 발명의 조성물들은 시럽과 일릭서들로 포물레이션될 수도 있다. 시럽과 일릭서들은, 글라이세롤, 프로필렌 글라이콜, 소비톨, 혹은 수크로오스와 같은 감미료들과 함께 포물레이션될 수 있다. 그러한 포물레이션들은 진통제, 방부제, 그리고 향료와 착색제들을 포함할 수도 있다. 진통제들은 특히 점막들이나, 찢어지거나 배인 조직의 염증을 가라앉히는데 주로 사용되는 보호제들이다. 많은 화학물질들이 진통제 특성을 가지고 있다. 이러한 물질들은 알긴염들, 아교들, 고무들, 텍스트린들, 전분들, 특정 설탕들, 그리고 폴리머릭 폴리하이드릭 글라이콜들 등을 포함한다. 다른 것들은 아카시아, 한천, 벤조인, 카보머, 젤라틴, 글리세린, 하이드록시에틸 셀룰로스, 하드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 프로필렌 글라이콜, 알긴산 나트륨, 트래거캔스 고무, 하이드로젤 등과 같은 것들을 포함한다.

[0091] 구강용 조성물들

[0092] 구강 투여를 위해서 본 발명의 조성물 등은 일반적으로 알려진 방법에 의해 포물레이션 된 알약 혹은 로젠지의 형태를 취할 수도 있다.

[0093] 비 경구용 조성물들

[0094] 본 발명의 조성물들은 살균된 주사가 가능한 수용성 혹은 유질의 부유액형태일 수도 있다. 여기서 사용된 용어 “비 경구용”은 주사를 통해 신체 내로 주입하는 것을 지칭하는데, 예를 들면, 피하주사 (피부 밑으로의 주사), 근육주사 (근육으로의 주사), 정맥주사 (정맥 혈관 내로의 주사), 경막내 주사 (척수 주위의 공간으로의 주사), 비강내 주사, 혹은 주입 기술들을 포함한다. 본 발명의 조성물이 비 경구용으로 투여될 때 수술용 바늘과 같은 바늘을 이용하여 투여된다. 여기서 사용된 용어 “수술용 바늘”은 본 발명의 용액형태의 조성물을 선택된 해부학적 구조로 투여할 수 있는 모든 바늘을 지칭한다. 예를 들어, 살균된 주사용 수용성 혹은 유성 부유액들과 같은 주사제들은 동업에 알려진 대로 적당한 분산 혹은 습윤제와 부유제들을 사용하여 포물레이션될 수 있다.

[0095] 국소적으로 투여하고자 할 때는, 첫 조성물 그리고/혹은 랩틴 조성물, 치료상으로 활성이 있는 랩틴, 랩틴 유사체, 랩틴 작용제, 랩틴 파생 펩타이드, 랩틴 차단제 그리고/혹은 랩틴 대항제들은, 예를 들어, 일시 주사 혹은 연속주입과 같은 주사에 의한 비 경구용 투여를 위해 포물레이션될 수도 있다. 주사를 위한 포물레이션들은 예를 들어 앰플 혹은 여러 복용을 위한 용기 안에 방부제와 함께 단위 복용 형태로 준비될 수도 있다. 그 조성물들은 부유액들, 용액들, 혹은 유성 혹은 수성 운반체내의 유탁액의 형태들을 취할 수 있으면, 부유체, 안정제 그리고/혹은 분산제들을 포함할 수도 있다. 비 경구용 투여를 위한 약학적 포물레이션들은 수용성 형태의 활성 화합물의 수용액을 포함한다. 부가적으로, 활성 화합물의 부유액들은 적당한 유성의 주사 부유액들로 만들어질 수도 있다. 적당한 지방 친화성의 용매 혹은 운반체들은 참기름과 같은 지방산, 혹은 에틸 올레이트 혹은 트리글리세리드, 혹은 리포솜들과 같은 합성 지방산 에스테르들을 포함한다. 수용성 주사 부유액들은 소듐 카박시메틸 셀룰로스, 소비톨, 혹은 텍스트란과 같은 그 부유액의 점도를 증가시키는 물질들을 포함할 수도 있다. 임의로, 그 부유액은 적당한 안정제나 혹은 고농도 용액들의 제조를 가능하게 하기 위한 화합물들의 가용성을 증가하기 위해서 사용되는 물질들을 포함할 수도 있다. 혹은, 활성 성분들은 사용 전에, 예를 들어, 살균된 발열 물질이 들어있지 않은 물과 같은 적당한 운반체와 결합하기 전의 분말형태일 수도 있다.

[0096] 약학 조성물들은 적당한 고체 혹은 젤 상의 운반체나 결합체를 포함할 수도 있다. 그러한 운반체들의 예는 탄산칼슘, 인산칼슘, 다양한 당류, 전분들, 셀룰로스 파생물들, 젤라틴, 그리고 폴리에틸렌글리콜과 같은 중합체들을 포함하지만, 그것들에 한정되지는 않는다.

[0097] 적당한 액상 혹은 고체의 약학 조제 형태들은, 예를 들면, 마이크로 캡슐에 넣기 (그리고 가능하면, 하나 혹은 그 이상의 결합체와 함께), 나선형으로 만들기, 미세한 금 조각들 표면에 코팅하기, 리포솜내에 넣기, 조직으로의 이식을 위해 작은 알약형태로 만들기, 혹은 조직 내로 문지르기 위한 물질의 표면에 건조시키기 등이 있다. 그러한 약학 조성물들은 과립들, 구슬들, 분말들, 알약들, 코팅된 알약들, (미세)캡슐들, 좌약들, 시럽들, 유탁액들, 부유액들, 크림들, 방울들의 형태를 취할 수 있으며, 성형제와 첨가제 그리고/혹은 분해제, 결합제, 코팅제, 확장제, 윤활제, 혹은 용해제 등이 일반적으로 사용되는 활성 성분의 점차적으로 분비되는 형태를 띌 수도 있다. 약학적 조성물들은 다양한 약물 전달 시스템에서 사용되기에 적합하다. 약물 전달을 위한 방법들의 간단한 리뷰를 위해서는 랭거 1990, 사이어스 249, 페이지 1527-1533를 참조하면 되며, 그 문헌의 내용은 참조에 의해 본 출원에 합병된다.

[0098] 첫 조성물 그리고/혹은 랩틴 조성물, 치료상 활성을 지닌 랩틴, 랩틴 유사체, 랩틴 작용제, 랩틴 파생

펩타이드, 랩틴 차단제 그리고/혹은 랩틴 대항제, 혹은 그것들의 혼합물, 그리고 임의적으로 다른 치료제들은 각각 투여되거나 혹은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 투여되기도 한다. 다른 치료제들은 항생제, 항곰팡이제, 항바이러스제, 항원생동물제, 스테로이드 계 항염증제, 비 스테로이드 계 항염증제, 항산화제, 호르몬, 비타민, 항히스타민제, 화학요법제, 혹은 그것들의 혼합물을 포함하나 그것들에 한정되지는 않는다. 의학적으로 사용될 때 염들은 약학적으로 허용 가능해야 하지만 약학적으로 허용 가능하지 않는 염들도 약학적으로 허용 가능한 그것들의 염을 만들기 위해 편리하게 사용될 수도 있다. 그러한 염들은 다음 산들로 부터 만들어지는 것들인데 그것들에 한정되지는 않는다: 염산, 브롬화 수소산, 황산, 질산, 인산, 말레인산, 아세트산, 살리실산, p-톨루엔 술폰산, 타르타르산, 시트르산 (구연산), 메탄 술폰산, 포름산, 말론산, 숙신산 (호박산), 나프탈렌-2-술폰산, 그리고 벤젠 술폰산. 또한, 그러한 염들은 알칼리성의 금속 혹은 나트륨, 포타시움 같은 알칼리성의 지상 소금 혹은 카르복실산 그룹의 칼슘염으로 만들어 질 수도 있다. “약학적으로 허용 가능한 염” 은 정상적인 의학적 판단의 범위 안에서 지나친 독성, 염증, 알러지 반응의 촉발 없이, 합리적인 이로운 대 해로움의 비율과 일치하는, 인간 혹은 하등동물들의 조직에 접촉하기에 적당한 염들을 의미한다. 약학적으로 허용 가능한 염들은 동 기술분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 약학적으로 허용 가능한 염들은 P. H. Stahl 등이 출판한 "약제 염들의 핸드북: 특성, 선택 그리고 사용" (Wiley VCH, 쾰리히, 스위스: 2002)에 자세히 기술되어 있다. 그러한 염들은 본 발명 내 기술된 화합물의 최종 격리와 정제 과정 동안 그 자리에서 만들어지거나, 혹은 적당한 자유 염기 기능을 가진 적당한 유기산들과의 반응을 통해서 따로 만들어질 수도 있다. 대표적인 산 첨가 염들은 아세트산염, 아디핀산염, 알긴산염, 구연산염, 아스파르트산 염, 안식향산염, 벤젠 술포네이트, 황산수소염, 낙산염, 캄포레이트, 캄포설포네이트, 다이글루코네이트, 글라이세로포스페이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 퓨마레이트, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 하이드로아이오다이드, 2-하이드록시에텐설포네이트 (아이세티오네이트), 젯산염, 말레인산염, 메탄술폰산염, 니코틴산염, 2-나프탈렌술폰산염, 옥살산염, 파모에이트, 펙테네이트, 과황산염 (페르옥시황산염), 3-페닐프로피오닉산염, 피크린산염, 피발레이트, 프로피오닉산염, 숙신산염, 주석산염, 티오시안산염 (토단산염), 인산염, 글루타민산염, 중탄산염, p-톨루엔술폰산염, 그리고 언테카노에이트를 포함하나 그것들에 한정되지는 않는다. 또한, 기본적인 질소-함유 그룹들은 메틸, 에틸, 프로필, 그리고 부틸 염화물, 브롬화물 그리고 요오드화물들과 같은 낮은 알킬 할라이드를 이용하여 쿼터나이즈 (3개의 치환체에서 4개의 치환체로 바뀌는 것) 될 수 있는데 그러한 물질들은 다이메틸, 다이에틸, 다이부틸, 그리고 다이아밀 설페이트들과 같은 다이알킬 설페이트들, 데실, 로틸, 미리스틸, 그리고 스테아릴 염화물, 브롬화물, 요오드화물과 같은 긴 사슬 할로젠 화합물, 벤질 그리고 페네틸 브롬화물들과 같은 아릴 알킬 할로젠 화합물들이다. 수용성 혹은 유용성 혹은 분산 가능한 산물들은 그렇게 해서 얻어진다. 약학적으로 허용 가능한 산 첨가 염들을 형성하는데 사용 가능한 산들은 염화수소산, 브롬화수소산, 황산, 인산과 같은 무기산들 그리고 옥살산, 말레인산, 숙신산, 시트르산 (구연산)과 같은 유기산을 포함한다. 염기 첨가 염들은 본 발명내 기술된 화합물의 마지막 분리와 정제과정 동안 카르복실산을 포함한 일부분을 약학적으로 허용 가능한 금속 양이온의 수산화물, 탄산염, 혹은 중탄산염과 같은 적당한 염기와 반응시키거나 혹은 암모니아 혹은 유기 일차, 이차, 삼차 아민과 반응시켜 그 자리에서 만들 수도 있다. 약학적으로 허용 가능한 염들은 알칼리 금속에 기반한 양이온들, 혹은 리튬, 나트륨, 포타시움, 칼슘, 마그네슘, 그리고 알루미늄 염 등과 같은 알칼리성 토류금속 그리고 비독성의 4기로 이루어진 암모니아, 그리고 암모니움, 테트라메틸암모니움, 테트라에틸암모니움, 메틸아민, 다이메틸아민, 트라이메틸아민, 트라이에틸아민, 다이에틸아민, 에틸아민 등을 포함한 아민 양이온들을 포함하지만 그것들에 한정되지는 않는다. 다른 대표적인 염기 첨가 염을 형성하는데 유용한 유기 아민 들은 에틸렌다이아민, 에탄올아민, 다이에탄올아민, 피페리딘, 피페라진등을 포함한다. 약학적으로 허용 가능한 염들은 또한 동 기술분야에 잘 알려진 표준 절차를 이용하여 얻어질 수도 있는데, 예를 들면, 아민과 같은 충분히 염기성을 띠는 화합물을 생리적으로 허용 가능한 음이온을 제공하는 적당한 산과 반응을 시켜서 얻어질 수 있다. 또한 카르복실산의 알칼리성 금속염 (예를 들어, 나트륨, 포타시움, 혹은 리튬) 혹은 알칼리성 토류금속 (예를 들어, 칼슘 혹은 마그네슘) 염들 또한 만들어 질 수 있다.

[0099] 포물레이션들은 편리하게 단위 투여량 형태로 만들거나 약학계에서 잘 알려진 방법들을 이용하여 만들어질 수 있다. 모든 방법들은 랩틴 조성물, 치료상으로 활성을 가진 랩틴, 랩틴 유사체, 랩틴 작용제, 랩틴 파생 펩타이드, 랩틴 차단자 그리고/혹은 랩틴 대항제, 혹은 그것들의 혼합물, 혹은 약학적으로 허용 가능한 염이나 그것들의 용매화합물 (“활성제”)을 하나 혹은 그 이상의 보조제로 구성되어 있는 운반체와 결합시키는 스텝을 포함한다. 일반적으로, 포물레이션들은 활성제를 액상 운반체 혹은 미세하게 분리된 고체 운반체 혹은 둘 모두와 균일하게 그리고 가까이 접근시킴으로써, 그리고 필요하다면, 바람직한 포물레이션으로 산물을 형성함으로써 만들어진다.

[0100] 약제 혹은 약학적으로 허용 가능한 에스테르, 염, 용매화합물, 혹은 그것들의 전구약물들은 원하는 활성을 손상

하지 않는 다른 활성물질들과 혹은 원하는 활성을 보충할 수 있는 물질들과 혼합될 수도 있다. 비 경구용, 피부 내, 피하, 구강 내, 혹은 국부 투여를 위해 사용되는 용액 혹은 부유액들은, 예를 들어, 다음과 같은 구성요소들을 포함하지만 그것들에 한정되지는 않는다: 주사를 위한 물, 생리 식염수, 고정된 기름들, 폴리에틸렌 글리콜들, 글리세린, 프로필렌 글리콜 혹은 다른 합성 용매들과 같은 살균된 희석제; 벤질 알콜 혹은 메틸 파라벤들과 같은 항생제들; 에틸렌다이아민테트라아세트산과 같은 킬레이트 시약; 아세트염, 구연산염, 혹은 인산염과 같은 버퍼들; 그리고 염화나트륨 혹은 텍스트로스 (우선당)과 같이 근육의 긴장력을 조절하는 시약들. 비 경구용 제제들은 앰플, 일회용 주사기들, 혹은 유리 혹은 플라스틱으로 된 다복용의 작은 유리병 안에 봉해 넣을 수 있다. 정맥으로 투여시의 특정 운반체들은 생리 식염수 혹은 인산으로 완충된 식염수 (PBS)이다.

[0101] 비 경구용 주사를 위한 약학 조성물들은 약학적으로 허용 가능한 살균된 수용액 혹은 비수용액들, 분산물들, 부양액들 혹은 유탁액들과 살균된 주사용액 혹은 분산물들로 재구성하기 위한 살균된 분말들을 포함한다. 적당한 수용성 그리고 비수용성 운반체, 희석제, 용매, 혹은 수송체 들은 물, 에탄올, 폴리올 (프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세롤 등과 같은), 적당한 그것들의 혼합물, 식물성 기름 (올리브유와 같은) 그리고 주사 가능한 에틸 올레인산염과 같은 유기성 에스테르들을 포함한다. 적절한 유동성은, 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅을 사용해서, 분산제의 경우 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면 활성제를 사용함으로써 유지될 수도 있다.

[0102] 이러한 조성물들은 방부제, 습윤제, 유화제, 그리고 분산제들을 포함한 보조제들을 또한 포함할 수도 있다. 미생물 활동은 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르빅산등과 같은 다양한 항생제에 의해 안전하게 방지될 수 있다. 또한, 당류, 염화나트륨등과 같은 등장제들이 바람직할 수도 있다. 주사 가능한 약제의 지속적인 흡수는 예를 들어, 알루미늄 모노스테아린산염과 젤라틴 등의 흡수를 지연제를 사용하여 가능할 수 있다.

[0103] 활성 성분 이외에도, 부유액들은 예를 들어 에톡시화된 이소스테아릴 알콜들, 폴리옥시에틸렌 소비톨 그리고 소비탄 에스테르들, 미세수정체형의 셀룰로스, 알루미늄 메타수산화물, 벤토나이트, 한천, 트레거캔스 고무, 그리고 그것들의 혼합물들과 같은 부유제들을 포함할 수도 있다.

[0104] 주사 가능한 장기 분비형들은 폴리락타이드-폴리글리콜라이드 같은 생물분해성의 매트릭스형태의 폴리머안에 약을 미세 캡슐화함으로써 만들어진다. 약대 폴리머의 비율과 사용되는 특정 폴리머의 성격에 따라 약 분비 속도가 조절될 수 있다. 그러한 장시간 작용하는 포물레이션들은 적당한 폴리머 혹은 소수성 물질 (예를 들어, 수용 가능한 오일 안의 유탁액 형태) 혹은 이온 교환 수지 혹은, 예를 들어, 거의 용해되지 않는 염과 같은, 거의 용해되지 않는 파생물들과 함께 포물레이션될 수 있다. 생물분해 될 수 있는 폴리머들은 폴리(오토에스테르들) 그리고 폴리(무수화합물)들을 포함한다. 장기 분비용 포물레이션들은 또한 신체 조직에 적합한 리포솜 혹은 미세유탁액 내에 약을 가둠으로써 만들어 질 수 있다.

[0105] 국소적으로 주사 가능한 포물레이션들은 사용 직전에 세균을 거르는 필터를 이용해 거르거나 혹은 살균된 물 혹은 다른 살균된, 주사 가능한 매개체에 용해되거나 분산될 수 있는, 살균된 고체 조성물 형태의 살균제를 병합함으로써 살균될 수 있다. 주사 가능한 조제들, 예를 들어, 살균된 주사 가능한 수용성 혹은 유성의 부유액은 적당한 분산제 혹은 습윤제와 부유제를 이용한 동 기술분야에서 알려진 방법에 의해 포물레이션 될 수 있다. 그 살균된 주사 가능한 조제들은 또한 비독성인, 비경구적으로 수용 가능한 희석액 혹은 1,3-뷰탄네디올내 용액 같은 용매내 살균된 주사 가능한 용액, 부유액, 혹은 유탁액일 수 있다. 허용 가능한 수송체와 사용될 수 있는 용매들은 물, 링거액, U.S.P. 그리고 등장액 염화나트륨 용액이다. 부가적으로, 살균된, 고정유 (불휘발성유)들이 용매 혹은 부유매개체로 보통 사용된다. 이러한 목적으로 어떠한 자극성이 없는 (순한) 고정유들, 예를 들어, 합성 모노글리세라이드 혹은 다이글리세라이드 등이 사용될 수 있다. 부가적으로, 올레인산과 같은 지방산들도 주사제제를 만드는데 사용된다.

[0106] 비 경구용 투여 포물레이션들은 (피하, 피부 내, 근육 내, 정맥 내, 구강 내 그리고 관절 내 투여를 포함하나 그것들에 한정되지는 않는) 항산화제, 버퍼, 항생제, 피 주사자의 혈액 내와 등장용액인 포물레이션을 가능하게 하는 용질 등을 포함한, 수용성 그리고 비수용성 멸균 주사용액, 그리고 부유제와 농화제를 포함할 수도 있는 수용성과 비수용성 멸균 부유액 등을 포함한다. 그러한 포물레이션들은 단위 복용량 혹은 다복용 용기 내에, 예를 들어, 밀봉된 앰플, 작은 유리병에 준비될 수 있고, 동결건조 (라이오파이즈드) 되어, 단지, 예를 들어, 식염수, 주사를 위한 물, 멸균 액상 운반체를 사용 바로 직전 첨가할 수 있는 상태로 저장될 수도 있다. 임시 주사용액 그리고 부유액들은 멸균 분말, 과립들 그리고 위에 기술된 종류의 알약들로 부터 만들어질 수도 있다.

[0107] 여기에 기술된 또 다른 조성물의 포물레이션 방법은 여기서 기술된 화합물을 수용액상에서 용해도를 증가시키는 폴리머에 결합 시키는 것과 관계가 있다. 이에 적당한 폴리머들의 예는 폴리에틸렌 글리콜,

폴리-(d-글루타민산), 폴리-(l-글루타민산), 폴리-(d-아스파르트산), 폴리-(l-아스파르트산), 그리고 그것들의 혼성 폴리머들을 포함하지만, 그것들에 한정되지는 않는다. 분자량 약 5,000에서 약 100,000 사이, 그리고 분자량 약 20,000과 80,000사이를 가진 폴리글루타민산이 사용될 수 있고, 분자량 약 30,000 과 약 60,000 사이의 폴리 글루타민산들 역시 사용될 수 있다.

[0108] 적당한 버퍼링 시약들은 아세트산과 염 (1-2% w/v); 구연산과 염 (1-3% w/v); 붕산과 염 (0.5-2.5% w/v); 인산과 염 (0.8-2% w/v) 을 포함한다. 적당한 방부제들은 벤잘코니움 염화물 (0.003-0.03% w/v); 클로로부탄올 (0.3-0.9% w/v); 파라벤 (0.01-0.25% w/v), 그리고 티머로살 (0.004-0.02% w/v) 등을 포함한다.

[0109] 치료 시약(들), 랩틴 조성물, 치료상으로 활성이 있는 랩틴, 랩틴 유사체, 랩틴 작용제, 랩틴 파생 펩타이드, 랩틴 차단제, 그리고/혹은 랩틴 대항제, 혹은 그것들의 혼합물들은 입자들로 공급될 수도 있다. 여기서 사용된 용어 “입자들”은 나노-혹은 마이크로입자 (혹은 몇 경우에는는 더 큰)들을 지칭하는데, 그것들은 전체 혹은 부분적인 랩틴 조성물, 치료상으로 활성인 랩틴, 랩틴 유사체, 랩틴 작용제, 랩틴 파생 펩타이드, 랩틴 차단제 그리고/혹은 랩틴 대항제, 혹은 그것들의 혼합물, 혹은 여기에서 기술된 다른 치료제들, 항생제, 항곰팡이제, 항바이러스제, 항원생동물제, 스테로이드 계 항염증제, 비 스테로이드 계 항염증제, 항산화제, 호르몬, 비타민, 항히스타민제, 화학요법제 혹은 그것들의 복합물을 포함하지만, 그것들에 한정되지는 않는다. 그 입자들은 특정 코팅으로 둘러싸인 중심에 그 치료제를 포함할 수도 있다. 그 치료제(들)은 또한 입자들에 전체적으로 분산될 수도 있다. 치료제(들)은 또한 입자들에 흡착될 수도 있다. 그 입자들은 모든 순차 방출 속도로 방출될 수 있는데, 이것들은 영차 방출, 1차 방출, 2차 방출, 지연 방출, 지속적인 방출, 즉각 방출, 그리고 그것들의 모든 조합을 포함한다. 입자는 치료제와 더불어서 모든 의약학에서 통상적으로 사용되는 모든 물질들을 포함하는데, 그것들은 침식성, 비 침식성, 생물분해성, 혹은 비 생물분해성 물질 혹은 그것들의 조합을 포함하지만 열거된 물질들에 한정되지는 않는다. 그러한 물질들은 랩틴 조성물, 치료상으로 활성인 랩틴, 랩틴 유사체, 랩틴 작용제, 랩틴 파생 펩타이드, 랩틴 차단제 그리고/혹은 랩틴 대항제, 혹은 그것들의 조합물들을 용액 혹은 반고체 상태 내에 포함한 마이크로 캡슐일 수도 있다. 그러한 입자들은 실질적으로 모든 형태를 띌 수 있다.

[0110] 비 생물분해성 그리고 생물분해성 중합 물질 모두 치료제를 전달하는데 필요한 입자들을 제조하는데 사용될 수 있다. 그러한 폴리머들은 천연 혹은 합성된 폴리머일 수 있다. 그러한 폴리머는 의도하는 방출되는 시간 주기에 근거해서 선택된다. 특히 관심이 가는 생체 결합성 중합체는 생침식성 손(Sawhn)등이 고분자 (Macromolecules (1993), 26, 581-587)에서 기술한 침식성 수화젤을 포함하는데, 그 책의 내용은 본 출원에 합병된다. 그러한 생체결합성 중합체는 폴리히알루론산, 카세인, 젤라틴, 글루틴, 폴리 무수화합물들, 폴리아크릴산, 알긴산염, 키토산, 폴리(메틸 메타크릴산염), 폴리(에틸 메타크릴산염), 폴리(부틸 메타크릴산염), 폴리(로틸 메타크릴산염), 폴리(페닐 메타크릴산염), 폴리(메틸 아크릴산염), 폴리(이소프로필 아크릴산염), 폴리 (이소부틸 아크릴산염), 그리고 폴리(옥타데실 아크릴산염)을 포함한다.

[0111] 흡입법 (통기법)용 조성물

[0112] 본 발명의 조성물들은 흡입 혹은 통기법 (입이나 코를 통해서)을 이용한 전달을 위한, 분산 가능한 건조 분말 형태일 수 있다. 건조 분말 조성물들은 국제 특허 공보 번호 WO 91/16038 과 미국 특허 번호 6,921,527에 기술되어있듯이, 동결건조나 분사 (분출) 밀링 (Jet milling)같은 동 기술분야에 알려진 과정을 통해서 만들어질 수 있는데, 그 개시(공표) 내용은 참조를 통해 본 출원에 합병된다. 예를 들어, 분사 건조는 균질의 수용성인 약과 운반체의 혼합물이 분사구 (예를 들어, 두 개의 유체 분사구), 급회전 디스크 혹은 그와 동등한 기계를 통해 뜨거운 가스 흐름으로 도입되어 미세 포말 (작은 방울)을 형성하도록 그 용액을 미립자로 만드는 과정이다. 그러한 수용성 혼합물은 용액, 부유액, 슬러리 등과 같은 것일 수 있으나, 혼합물 그리고 궁극적으로 분말 조성물내 구성성분의 균일한 분포를 확실히 하기 위해서 균질일 필요가 있다. 그 용매는 (일반적으로 물) 빠르게 그 포말 (작은 방울)로 부터 증발하여 1 μm 에서 5 μm 의 지름을 가진 미세한 건조 분말을 생성하게 된다. 그러한 분사 건조는 흡입이 가능한 크기, 낮은 습도 내용물, 그리고 신속한 에어로졸화를 가능케 하는 흐름 특성을 가진, 사실상 무정형이고, 균질한 구성물로 된 사실상 무정형 분말을 만들어내는 조건들 하에서 이루어진다. 되도록이면, 그렇게 생산된 분말의 입자 크기는 약 98% 이상의 질량이 약 10 μm 혹은 그 이하 의 지름을 가진 입자들 내에 존재하는데, 그 질량의 약 90% 5 μm 보다 작은 지름을 가진 입자들 안에 존재한다. 대체적으로, 질량의 약 95%는 10 μm 보다 작은 지름을 가진 입자들을 가지게 되고, 그 입자 질량의 약 80%는 5 μm 보다 작은 지름을 가진다. 건조 분말 조성물들은 또한 국제 특허 공보 번호 WO 91/16038 에 개시된 것 처럼 동결건조나 분사 밀링 (jet milling)에 의해 만들어 질 수 있는데, 그 개시물은 참조에 의해 여기에 병합된다.

[0113] 용어 “분산성” 혹은 “분산가능한” 들은 물중량 (% 무게) 으로 약 10% 보다 낮은 습도를 가진 건조 분말을

의미하는데, 보통 그 무게는 중량으로 약 5% 이하이고, 되도록이면 중량으로 약 3% 미만이며; 입자 크기는 질량 중 중심 지름 (mass median diameter, MMD) 1.0 ? 5.0 μm , 보통 1.0-4.0 μm MMD, 그리고 되도록이면 1.0-3.0 μm 질량중 중심 지름 (MM)D을 가지며; 전달되는 투약량은 약 30% 이상, 보통 40% 이상, 되도록이면 50% 이상, 그리고 가급적이면 60% 이상이며; 에어로졸 입자 크기 분포는 약 1.0-5.0 μm 의 중심 공기역학 지름 (mass median aerodynamic diameter, MMAD), 보통 1.5-4.5 μm 중심 공기역학 지름 (MMAD), 그리고 되도록이면 1.5-4.0 μm 중심 공기역학 지름 (MMAD)을 가진다. 분산성을 향상시키기 위한 방법들과 조성물들은 1995년 4월 14일에 출원된 미합중국 특허 출원 시리얼 번호 No. 08/423,568 에 개시되어 있으며, 그 개시내용은 여기에 참조를 통해 병합된다.

[0114] 용어 “분말”은 미세하게 분산된 자유롭게 돌아다니는, 그리고 흡입기구내에서 즉각 분산될 수 있는, 그리고 한 대상에 의해 흡입되었을 때 그 입자들이 폐포내로 침투가 가능한 고체 입자들로 구성된 조성물을 의미한다. 따라서, 그 분말은 “흡입할 수 있는”이라는 용어로도 말해진다. 되도록이면, 평균 입자 크기는 지름이 약 10 마이크로 (μm) 보다 작으며, 상대적으로 균일한 회전 타원체 형태의 분포를 가진다. 더 되도록이면, 그 지름은 약 7.5 μm 이하이고, 가급적이면 5.0 μm 이하이다. 일반적으로 그 입자 크기 분포는 약 0.1 μm 에서 약 5 μm 사이이고, 특히 약 0.3 μm 에서 약 5 μm 사이이다.

[0115] 용어 “건조”는 조성물이 입자들이 흡입기내에서 즉각 분사되어 에어로졸을 형성할 수 있는 내용물 습도를 가진 조성물을 의미한다. 이 내용물 습도는 일반적으로 물중량으로 약 10% 이하 (% 중량)이고, 보통 약 5% 중량 이하이며, 가급적이면 약 3% 중량 이하이다

[0116] 약학적으로 허용 가능한 양은 필요로 하는 대상의 폐 내로 조성물의 균일한 전달을 확실히 하기 위해 요구되는, 안정성, 분산성, 일관성, 그리고 대량의 특성을 제공할 수 있는 양이다. 숫자적으로 그 양은, 사용되는 약의 활성도에 따라, 약 0.05% 중량 에서 약 99.95% 중량일 수 있다. 되도록이면 약 5% 에서 약 95% 가 사용될 것이다. 운반체는 두 개 혹은 그 이상의 약학적 보조제일 수 있으나, 일반적으로 거의 “침투 증가제”가 없어야 한다. 침투 증가제들은 점막 혹은 점막내의 표면으로 약의 침투를 증가시키는 그리고 비강내, 직장 내, 그리고 질 내 투약 포물레이션으로 사용되도록 고안된 화합물이다. 침투 증가제의 예들은 토로콜레이트, 글리코콜레이트, 그리고 디옥시콜레이트와 같은 담즙산염, 토로디하이드로푸지데이트와 같은 푸지데이트들, 그리고 트윈 (tween)들, 로레트-9 (Laureth-9)등과 같은 생물분해성 세제를 포함한다. 하지만, 폐를 위한 조성제에서 침투 증가제의 사용은 일반적으로 바람직하지 않은데, 이는 뇌 내의 상피 혈액 장벽이 그러한 표면 활성화 화합물에 의해 역으로 손상을 입을 수 있기 때문이다. 본 발명의 건조 분말 조성물들은 폐 내에서 침투 증가제를 사용할 필요 없이 즉각 흡수된다.

[0117] 폐 내 전달을 위한 운반체로 유용한 약학 보조제의 종류는 인간 혈청 알부민 (HSA)과 같은 안정제들, 탄수화물, 아미노산, 그리고 폴리펩타이드들과 같은 충전제; pH 조정제 혹은 버퍼들; 염화나트륨과 같은 염 등을 포함한다. 이러한 운반체들은 결정 형태 혹은 무정형이거나 두 가지의 혼합형태일 수도 있다.

[0118] 폐 내 전달을 위해 특히 중요한 충전제들은 호환성의 탄수화물들, 폴리펩타이드들, 아미노산들, 혹은 그것들의 조합을 포함한다. 적당한 탄수화물들은 갈락토오스, D-마노오스, 솔보스 등과 같은 단당류; 락토오스, 트레할로오스 등과 같은 이당류; 2-하이드록시프로필- β -사이클로덱스트린과 같은 사이클로덱스트린들; 그리고 라피노오스, 말토덱스트린, 텍스트란들과 같은 다당류들; 마니톨, 자이리톨 같은 알디톨을 포함한다. 적당한 폴리펩타이드들은 아스파탐을 포함한다. 아미노산들은 알라닌과 글라이신을 포함하며, 글라이신이 더 바람직하다.

[0119] 폐 내 전달을 위한 조성물의 작은 구성성분들인 첨가제들은 분사 건조 동안 입체형태의 안정성을 위해 그리고 분말의 분산성을 증가시키기 위해 포함될 수도 있다. 이러한 첨가제들은 트립토판, 타이로신, 류신, 페닐알라닌 등과 같은 소수성 아미노산을 포함한다.

[0120] 흡입 혹은 통기법에 의한 전달을 위해, 본 발명의 조성물은 대상자에게 단위 치료 용량을 충분히 제공할 수 있는 만큼 적당한 용량 저장기간에 보관된다. 용량 저장기는 적당한 흡입기 안에 들어가 가스 스트림으로의 분산에 의해 건조분말 조성물의 에어로졸화를 가능하게 하고 그 이후 치료를 필요로 하는 대상이 흡입하기 위해 부착된 주둥이를 가진 챔버 내에서 그렇게 생성된 에어로졸을 수집하는 것이다.

[0121] 그러한 용량 저장기는 가스의 흐름 (예를 들어, 공기)을 그 용기 안으로 유도해서 건조 분말 조성물을 분산시키도록 하는 제거 가능한 부분을 가진 젤라틴 혹은 플라스틱 캡슐과 같은 동 기술분야에 알려진 조성물을 담고 있는 용기를 포함한다. 그러한 용기들은 미합중국 특허 번호 4,227,522; 미합중국 특허번호 4,129,309; 그리고 미합중국 특허 번호 4,105,027에 예시되어 있다. 적당한 용기들은 글락소 (Glaxo)의 벤톨린(Ventolin®) 로토헤일

러(Rotohaler) 브랜드 분말 흡입기 혹은 피손 (Fison)의 스피네일러(Spinhaler®) 브랜드 분말 흡입기 등을 포함한다. 또 다른 적당한, 상위의 습도 차단을 제공하는 단위 용량 용기는 알루미늄 호일 플라스틱 박편으로 부터 형성된다. 약물에 기반한 분말은 중량 혹은 부피당으로 형성력이 있는 박편내의 함몰된 곳으로 채워지고 포일-플라스틱 박편 덮개로 밀봉된다. 그러한 분말 흡입기와 함께 사용할 수 있는 용기들은 미합중국 특허번호 4,778,054에 기술되어있고, 글락소 (Glaxo)의 디스트헤일러(Diskhaler®) (미합중국 특허번호 4,627,432; 4,811,731; and 5,035,237) 와 함께 사용된다. 이러한 문헌들은 여기에 참조에 의해 병합된다.

[0122] 본 발명의 조성물들은 방울이나 분무 (예를 들어, 코 분무, 에어로졸 분무, 혹은 펌프 분무) 형태 혹은 코 (비강)로의 투여 (비강내 전달)를 위한 다른 수송체 형태로 사용될 수도 있다. 에어로졸 분무제제들은 탄화수소 추진제와 같은 적당한 추진제와 함께 가압형 용기 안에 포함될 수 있다. 펌프 분무 분사기들은 들은 계측된 용량 혹은 특정 입자 혹은 포말 (작은 방울) 크기를 가진 용량으로 분사할 수 있다. 모든 분사기들은 단지 일회 용량, 혹은 다용량으로 분사할 수 있도록 조정될 수 있다. 보다 일반적으로, 본 발명의 조성물들, 특히 비강내 투여용으로 포물레이션된 조성물, 들은 용액들, 부유액들, 혹은 점착성 조성물 (예를 들어, 젤들, 로션들, 크림들, 혹은 연고들)로 또한 제공될 수도 있다.

[0123] 직장 내 투여용 조성물

[0124] 본 발명의 조성물들은 조성물의 직장 내 투여를 위한 좌약 형태일 수도 있다. 여기서 사용된 용어 “직장의” 혹은 “직장 내” 는 직장을 통해서 신체 내로 도입되는 것을 지칭하는데, 여기서 흡수는 그 직장 벽을 통해서 일어난다. 이러한 조성물들은 약을, 코코아 버터와 폴리에틸렌글리콜과 같은, 염증을 일으키지 않는 적당한 보조제와 혼합시켜 만들어질 수 있는데, 이 보조제들은 보통 온도에서는 고체지만 직장 온도에서는 액체 상태가 되어 직장 내에서 녹게 되어 그 약을 방출하게 된다.

[0125] 국소 투여용 조성물

[0126] 용어 “국소의” 는 본 발명의 조성물을 의도하고자 하는 지점에 혹은 바로 그 아래에 투여하는 것을 의미한다. 용어 “국소적으로 제공하기” 는 상피 표면들을 포함한 하나 혹은 그 이상의 표면(들)로 제공하는 것을 기술한다. 경피투여와 대조되는 국소 투여는 일반적으로 시스템적인 영향보다 지역적인 영향을 끼치는데, 여기서 사용된, 달리 말하거나 의미하지 않는 한, 용어 국소 투여와 피부에 바르는 투여방법은 교환적으로 사용된다. 본 출원의 목적을 위해서, 국소 투여방법들은 구강세정과 양치질을 포함한다. 국소 투여는 또한 동 기술분야에 잘 알려진 기술과 공정을 통해 준비되는 경피 패치 혹은 이온도입기와 같은 경피투여 방법과도 연관된다.

[0127] 용어 “경피 전달 체계,” “경피 패치” 혹은 “패치” 등은 특정시간 동안 방출되는 약을 용량 형태로부터 나와서 피부를 통과, 체순환을 통해서 배포가 가능하게 하도록 피부 위에 놓여지는 접착방식을 지칭한다. 경피 패치들은 다양한 종류의 약물들을 전달하는데 사용하는 일반적으로 잘 받아들여지고 있는 기술이고, 멀미를 위한 스코폴라민, 협심증을 치료하기 위한 니트로글리세린, 고혈압을 위한 클로니딘, 폐경기 이후 증상을 위한 에스트라디올, 그리고 금연을 위한 니코틴 등을 포함하지만, 그것들에 한정되지는 않는다. 본 발명에서의 사용에 적당한 패치들은 (1) 매트릭스 패치; (2) 저장 패치; (3) 여러 박피로된 약이 접착제에 들어있는 패치; (4) 단일로 된 약이 접착제에 들어 있는 패치 등을 포함하지만 그것들에 한정되지는 않는다. (경피와 국소 약물 전달 체계, 페이지 249-297, Tapash와 Ghosh 등, 1997), 이 문헌은 여기에 참조를 통해 병합된다. 이러한 패치들은 동 기술분야에 잘 알려져 있으며, 일반적으로 상업용으로 구입이 가능하다.

[0128] 운반체들과 다른 구성성분들

[0129] 몇 실시 예에서, 본 발명의 조성물들은 용매들, 부유제들, 결합제들, 충전물, 운환제, 분해제 그리고 습윤제/계면활성제/용해제에서 선택된 부형제, 수송체 혹은 운반체와 함께 포물레이션될 수도 있다. 용어 “부형제”, “수송체”, 혹은 “운반체” 들은 그것과 함께 섞였을 때 활성 화합물의 활용을 돕지만 해롭게 반응하지 않는 물질들을 지칭한다. 용어 “활성” 은 의도하고자 하는 치료효과의 책임이 있는 본 발명 조성물의 성분, 구성요소, 구성물들을 가리킨다. 운반체들은 순도가 충분히 높아야 하며, 독성이 충분히 낮아서 치료받는 대상에게 투여하기에 적합하도록 되어야 한다. 그 운반체들은 비활성이거나 혹은 약학적 이익이 을 가지고 있을 수도 있다.

[0130] 그 운반체들은 액체 혹은 고체일수 있으며, 특정 활성 성분 그리고 주어진 조성물의 다른 구성성분과 합쳐졌을 때 바람직한 부피, 경도 등을 제공하기 위해서 계획된 투여방법과 함께 선택된다. 전형적인 약물 운반체들은 결합제 (미리 젤라틴화된 옥수수 전분, 폴리비닐피리리돈 혹은 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스를 포함하지만

그것들에 한정되지 않는); 충전제 (락토오스 그리고 다른 당류, 마이크로크리스탈린 셀룰로오스, 펙틴, 젤라틴, 황산 칼슘, 에틸 셀룰로오스, 폴리아크릴산염 혹은 칼슘 수소 인산염을 포함하지만 그것들에 한정되지 않는); 윤활유들 (스테아린산 마그네슘, 활석, 규소, 교질의 이산화규소, 스테아린산, 금속성 스테아린산염, 수소가 첨가된 식물성 기름들, 옥수수 전분, 폴리에틸렌 글리콜, 안식향산 나트륨, 아세트산 나트륨을 포함하지만, 그것들에 한정되지 않는); 분해제들 (전분, 나트륨 전분 글리콜산염을 포함하지만 그것들에 한정되지 않는); 그리고 습윤제들 (나트륨 로릴 황산염을 포함하지만 그것들에 한정되지 않는)들을 포함하지만 그것들에 한정되지는 않는다. 본 발명의 조성물들을 위한 부가적인 적당한 운반체들은 물, 식염수들, 알콜, 식물성 기름들, 폴리에틸렌 글리콜들, 젤라틴, 락토오스, 아밀로오스, 스테아린산 마그네슘, 활석, 규산, 점착성의 파라핀, 향수 기름, 지방산 모노글리세라이드와 다이글리세라이드들, 페트로에트랄 지방산 에스테르들, 하이드록시메틸셀룰로오스, 폴리비닐피리리돈 등을 포함하지만 그것들에 한정되지는 않는다. 약학 제제들은 멸균될 수 있고, 바란다면 윤활제들, 방부제들, 안정제들, 습윤제들, 유화제들, 삼투압에 영향을 주기 위한 염들, 버퍼들, 착색제들, 감미료 그리고/혹은 방향 물질들과 같이 활성성분들과 함께 작용하지 않는 보조제들과 함께 혼합될 수 있다.

[0131] 여기서 사용된 용어 “약학적으로 허용 가능한 운반체”는 모든 충분히 비독성인 활성 성분이 안정적이고 생물학적으로 이용할 수 있는 상태로 존재하는 약물의 투여에 통상적으로 용이한 충분히 비독성인 운반체를 지칭한다. 몇 실시 예에서, 그 본 발명의 조성물중 약학적으로 허용 가능한 운반체는 지속 방출 혹은 지연 방출 운반체와 같은 방출제를 포함한다. 그러한 실시 예에서, 운반체는, 더 적은 주기 그리고/혹은 활성 성분의 줄어드는 복용량으로 귀결되는 효율적인 투여방법, 쉬운 취급, 그리고 연장적인 혹은 지연적인 효과를 제공하기 위해 활성 성분인 랩틴 펩타이드를 지속적으로 혹은 지연적으로 방출할 수 있는 어느 물질일 수 있다. 그러한 운반체의 제한되지 않는 예들은 천연적 그리고 합성된 중합체 등의 리포솜, 마이크로스폰지들, 마이크로스피어들, 혹은 마이크로캡슐들을 포함한다. 리포솜들은 콜레스테롤, 스테아릴아민들 혹은 포스페티딜콜린같은 다양한 인지질로부터 형성될 수도 있다.

[0132] 몇 실시 예에서, 본 발명의 조성물들은 랩틴 조성물, 치료상으로 활성인 랩틴, 랩틴 유사 펩타이드 혹은 그것들의 파생물들에 제공하는 약학적 효과와 더불어 또 다른 약학적 효과를 제공할 목적으로, 하나 혹은 그 이상의 호환가능한 활성 성분들을 포함할 수 있다. 여기서 사용되는 “호환가능한”은 그러한 한 조성물의 활성 성분들이 각 활성 성분 혹은 보통 사용되는 조건하에서의 그 조성물의 효능을 현저히 줄일 수도 있는 반응이 일어나지 않는 방식으로 서로 결합할 수 있다는 것을 의미한다. 본 발명의 또 다른 측면에서, 그 조성물은 또한 연속적으로 혹은 아밀로이드 펩타이드들의 축적으로 인해 생겨난 질병들, 질환들 혹은 장애들을 치료하는 다른 조성물들과 연속적으로 혹은 함께 투여 될 수도 있다. 예를 들어, 그러한 다른 조성물들은 단클론 항체들 (항-베타-아밀로이드 단일항체들과 항-베타-시크리테이즈들과 같은); 그리고 항염증 화합물들 (이부프로펜, 인도메타신, 그리고 플루비프로펜과 같은 비 스테로이드 계 항염증약들 (NSAIDs)을 포함하지만 그에 한정되지 않는) 등을 포함하지만 그것들에 한정되지는 않는다. 항염증 화합물들은 세포 배양뿐만 아니라 알츠하이머 같은 아밀로이드증 을 가진 형질전환모델에서 아밀로이드 베타를 낮추는 성질들을 조절한다는 것으로 알려졌다. 활성 물질의 농도는 그것의 치료효과를 나타내도록, 하지만 동종업자의 정상적인 판단 범위 안에서 심각한 부작용을 피할 수 있을 정도의 충분히 낮은 농도로 선택된다. 그 조성물의 유효량은 치료 대상자의 나이 그리고 신체조건, 질환의 심각도, 치료 기간, 동시에 이루어지는 요법의 성격, 특정 화합물, 조성물 혹은 사용되는 다른 화합물, 사용되는 특정 운반체 등의 요소들에 에 따라 다양해질 수 있다. 동종업자는 그러한 요소들을 이런 정보에 기초로 쉽게 평가해서 의도된 목적을 위해 사용되는 본 발명의 조성물의 특정 유효 농도를 결정할 수 있다. 부가적으로, 본 발명의 치료 적용방법들 내에서, 조성물 혹은 약물들은 특정 질병, 장애, 혹은 병태가 의심되거나, 가지고 있는, 혹은 이미 겪고 있는 환자들에게 그 질병, 장애 혹은 질환의 증상들을 (합병증들과 그 질병, 장애 혹은 병태 발생의 중간 병리 표현형을 포함한) 치료하거나 적어도 부분적으로 중지시킬 수 있는 충분한 양만큼 투여된다. 몇 방법들에서, 본 발명의 조성물들의 투여는 아직 병, 장애 병태의 특징적인 병리를 발생하지 않은 환자들의 인지 손상을 줄이거나 제거한다.

[0133] 치료 혹은 예방치료를 위해 적당한 양은 본 출원에서 치료상으로-유효한 복용량으로 정의된다. 예방 그리고 치료 요법 모두에서, 본 발명의 조성물들의 양은 충분한 치료에 도움이 되는 반응을 얻을 때까지 보통 몇 차례의 복용량으로 투여된다. 전형적으로, 그 반응은 모니터링 되고 만약 그 반응이 줄어들기 시작하면 반복적인 복용량이 주어진다. 동종업자는 여기서 이후에 “단위 복용량”이라고 지칭되는 특정 효과의 강도를 일으키는 복용단위 (사용 단위를 의미하는)내 복용량을 결정함으로써 본 발명 조성물을 약학적 유효량을 결정할 수 있다. 용어 “용량-강도 관계”는 한 개인 수용자 내 효과의 강도와 결부된 복용량과의 관계 가리킨다. 효과강도는 일반적으로 50% 유효복용량 혹은 개인 ED50 이라고 불려진다. 용어 “개인”은 본 출원에서 사용된 효과의 강도에 근거한 ED50 을 한 집단 내 반응 주기 자료로부터 결정되는 평균 효과 복용량 (이 또한 ED50 으로 축약되는)과

구별하기 위해 사용된다. 여기서 사용되는 “효능”은 바라는 반응을 성취하기 위한 본 발명 조성물들의 특성을 지칭하며, “최대 효능”은 최대한 성취 가능한 효과를 가리킨다. 특정 장애 혹은 병태를 치료하는데 효과적인 본 발명의 조성물내 화합물들의 양은 장애 혹은 병태의 성격에 의존하며, 표준 임상 기술로 결정될 수 있다. (예를 들어, 굿맨 과 길만(Goodman and Gilman's)이 기술한 치료제들의 약학적 기초 (THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS), 조엘 하만 (Joel G. Harman), 리 림버드(Lee E. Limbird); 맥그로힐, 뉴욕, 2001; 임상의의 참고도서 (THE PHYSICIAN'S DESK REFERENCE), 메디칼 이코노믹스 컴퍼니 (Medical Economics Company, Inc.), 오라텔, 뉴저지 1995; 약의 사실과 비교들, (DRUG FACTS AND COMPARISONS, INC., 세인트 루이스, 미주리, 1993). 포물레이션에서 사용되는 정확한 복용량은 또한 투여 경로, 질병 혹은 장애의 심각도에 좌우될 것이고, 진료의사의 판단과 각 환자의 상황에 맞추어 결정되어야 한다. 다양한 투여 패턴들은 동종업자에게 뚜렷하게 보일 것이다.

[0134] 본 발명 조성물들의 투여를 위한 복용량 범위는 바라는 치료효과를 만들어내기에 충분할 정도의 큰 양이다. 바람직하게, 본 발명 조성물들의 치료 유효량은 정기적으로 하루에 한번 혹은 그 이상 투여된다. 대상에게 투여되는 전형적인 복용량은 (체중) kg당, 하루당, 약 0.01 mg의 조성물에서 (체중) kg당, 하루당, 약 0.5 mg의 조성물 사이이다. 예를 들어, 예상되는 조성물의 최소 복용량은 약 0.01 mg/kg/일당, 약 0.025 mg/kg/일당, 약 0.05 mg/kg/일당, 약 0.075 mg/kg/일당, 약 0.08 mg/kg/일당, 약 0.1 mg/kg/일당, 약 0.125 mg/kg/일당, 약 0.15 mg/kg/일당, 약 0.175 mg/kg/일당, 약 0.2 mg/kg/일당, 약 0.225 mg/kg/일당, 약 0.25 mg/kg/일당, 약 0.275 mg/kg/일당, 약 0.3 mg/kg/일당, 약 0.325 mg/kg/일당, 약 0.35 mg/kg/일당, 약 0.375 mg/kg/일당, 약 0.4 mg/kg/일당, 약 0.45 mg/kg/일당, 약 0.475 mg/kg/일당, or 약 0.5 mg/kg/일당 이고, 예상되는 최대 복용량은 약 0.5 mg/kg/일당, 약 0.475 mg/kg/일당, 약 0.45 mg/kg/일당, 약 0.4 mg/kg/일당, 약 0.375 mg/kg/일당, 약 0.35 mg/kg/일당, 약 0.325 mg/kg/일당, 약 0.3 mg/kg/일당, 약 0.275 mg/kg/일당, 약 0.25 mg/kg/일당, bout 0.225 mg/kg/일당, 약 0.2 mg/kg/일당, 약 0.175 mg/kg/일당, 약 0.15 mg/kg/일당, 약 0.125 mg/kg/일당, 약 0.1 mg/kg/일당, 약 0.08 mg/kg/일당, 약 0.075 mg/kg/일당, 약 0.05 mg/kg/일당, 약 0.025 mg/kg/일당, 혹은 약 0.01 mg/kg/일당 이다. 본 발명의 몇 인간 실시 예에서, 복용량은 kg (체중)당, 일당, 약 0.01 mg 에서 약 0.3 mg의 조성물이고, 다른 인간 실시 예에서, 복용량은 kg (체중)당, 하루당, 약 0.01 mg 에서 0.08 mg 사이이다.

[0135] 본 발명의 부가적인 조성물들은, 예를 들면, 레밍턴의 약제 과학 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th or 19th editions, 맥 퍼블리싱 컴퍼니(the Mack Publishing Company), 이스턴, 펜실베니아, 여기에 참조를 통해 병합됨) 에 기술된 것과 같은 동 기술분야에 알려진 기술을 이용하여 쉽게 만들어 질 수 있다.

[0136] 투여

[0137] 또 다른 방법의 실시예에 의하면, 그 방법은 약물을 희망하는 부위에 전달하기 위해서 랩틴 조성물 젤, 랩틴 조성물 저 방출 고체 혹은 반고체 랩틴 조성물을 수술을 통해 환자에 이식하거나 혹은 주사로 환자에게 주입하는 방법을 포함한다. 랩틴 조성물 젤, 랩틴 조성물 저 방출 고체 혹은 랩틴 조성물 반고체체는 특히 국지적으로 전달되기 때문에, 진행성 인지 장애를 치료하는데 요구되는 복용량은 높은 전신 복용량 투여를 방해하는 주요 부작용, 예를 들어 독성, 을 줄이고, 방지하거나 혹은 회피하는데 적당할 것이다. 이 제제의 유효한 양을 특정 부위에 전달하는 것이 바람직하다 (원하지 않는 부작용 없이)

[0138] 통제된 방출 시스템

[0139] 랩틴 조성물을 포함하나 이에 한정되지 않는 치료제(들)은 통제 방출 시스템 안에 포함될 수도 있다. 특정 약의 효과를 지속시키기 위해서, 피하, 구강, 혹은 근육 내 주사로 부터 그 약의 흡수를 늦추는 것이 종종 바람직하다. 이것은 낮은 수용성을 가진 결정형태 혹은 무정형 물질의 액체 부유액을 사용함으로써 이루어질 수 있다. 그 약의 흡수 속도는 이때 용해 속도에 달려 있는데, 이것은 다시, 결정의 크기와 결정의 형태에 따라 좌우된다.

[0140] 용어 “통제 방출”은 포물레이션으로부터 약이 방출되는 방법과 양식이 조절되는 어떠한 약을 포함한 포물레이션을 지칭하기 위해 사용된다. 이것은 비즉각적 방출 포물레이션 뿐만 아니라 즉각 방출도 지칭하는데, 비 즉각적 방출 포물레이션은 지속적 방출과 지연적 방출 포물레이션을 포함하나 이에 한정되지는 않는다. 여기서 사용된 용어 “지속적 방출” (“연장적 방출” 이라고도 지칭되는)은 상식적 의미에서 오랜 기간에 걸쳐 특정 약의 점진적 방출을 제공하는 약 포물레이션을 의미하는데, 바람직하게는, 반드시 그렇지는 않지만, 장기적인 기간에 걸쳐 특정 약의 거의 일정 혈중 수준을 유지하는 결과를 가져온다. 대체적으로, 비경구적으로 투여된 약 형태의 지연된 흡수는 그 약을 유성 운반체내에 용해하거나 부유하도록 함으로써 성취될 수 있다. 여기서

사용된 용어 “지연적 방출” 은 상식적 의미에서 포물레이션의 투여와 그로부터 약의 방출 사이에 시간 지연이 있는 약 포물레이션을 지칭한다. “지연 방출은” 장기적인 기간에 걸친 점진적인 약의 방출을 수반할 수도 혹은 수반하지 않을 수도 있으며, 따라서 “지속적 방출” 이 될 수도 혹은 되지 않을 수도 있다.

[0141] 장기간의 지속적 방출 이식은 만성 질환들의 치료에 적합할 수도 있다. 여기서 사용된 용어 “장기” 방출은 적어도 7일 동안, 바람직하게는, 약 30 일에서 약 60 일 사이 동안 활성성분의 치료 수준을 전달하도록 이식이만 들어지고 배열되는 것을 의미한다. 장기성 지속적 방출 이식들은 동종업자에게 잘 알려져 있으며 위에 기술된 몇 방출 시스템을 포함한다.

[0142] 또 다른 실시예에 의하면, 본 발명의 약학적으로 허용 가능한 운반체는 지속적 방출 혹은 지연적 방출 운반체를 포함한다. 운반체는 더 적은 투여주기 그리고/혹은 그 화합물의 줄어드는 복용량, 취급의 용이, 그리고 상피와 연관된 질환들에서 연장적인 혹은 지연적인 효과를 야기하는 보다 효과적인 투여 방법을 제공하기 위한 지속적인거나 지연적으로 화합물을 방출할 수 있는 어떠한 물질일 수도 있다.

[0143] 다른 측면에 의하면, 기술된 발명은 필요로 하는 대상 내 인지기능의 회복력을 향상 시키는 방법을 제공하는데 그 방법은 (a) 그 대상에게 (i) 인지 기능을 향상시키는 양의 랩틴 조성물, 그리고 (ii) 약학적으로 허용 가능한 운반체를 포함한 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 한 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 적어도 하나의 랩틴, 랩틴 유사체, 랩틴 파생물, AMP-의존성 단백질 키나아제 활성제, 랩틴 작용제, 랩틴 차단제, 랩틴 차단제의 유사체, 랩틴 대항제, AMP-의존성 단백질 키나아제 억제제; 혹은 약학적으로 허용 가능한 그것들의 염들을 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면, 그 랩틴 조성물은 두번째 치료제를 더 포함한다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 항생제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 항곰팡이제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 항바이러스제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 항원생동물제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 스테로이드 계 항염증제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 비 스테로이드 계 항염증제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 항산화제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 호르몬이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 비타민이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 항히스타민제이다. 또 다른 실시예에 의하면 그 두번째 치료제는 화학요법제이다.

[0144] 동종업자들은 본 발명 조성물의 일차적으로 제시할 수 있는 적당한 치료 복용량은 시험관내 혹은 동물 모델의 신체 내, 그리고 인간 임상시험들을 통해 결정될 수 있다는 것을 인지할 것이다. 동종업자는 독성이나 다른 부작용을 일으키지 않고 안전하게 투여할 수 있는 복용량을 알아내는데 동물 연구나 인간 경험을 어떻게 사용하는지 알 것이다. 급성 치료를 위해서는, 치료 복용량이 최대 허용 복용량에 가까운 양을 사용하는 것이 바람직하다. 만성 예방 사용을 위해서는 장기 영향에 따른 우려 때문에 더 낮은 복용량이 바람직할 수도 있다.

[0145] 본 발명의 조성물들과 방법들의 유효성은 다양한 프로토콜들을 이용하여 평가할 수 있다. 인간 대상내의 인지 기능 증가에 대한 영향은 동종업자에게 정형적인 방법들에 의해 결정될 수 있는데, 이는 종이와 연필을 이용한 시험과 컴퓨터를 이용한 시험 모두를 포함하나 이것들에 한정되지는 않는다. 동종업자는 또한 동물모델내의 아밀로이드 펩타이드 축적 수준들, 신경섬유 매듭 형성 그리고 신경퇴화를 직접 측정할 수 있다. 더 나아가서, 아밀로이드 펩타이드는 요추 찔기 (요추천자)에 의해 얻어진 대상자의 뇌척수액 (CSF) 샘플에서 측정될 수도 있다. 아밀로이드 펩타이드의 축적을 측정하는 한 방법은 대상의 혈액 내 순환하는 수준들의 증가를 측정하는 것이다. 그러한 수준들은 샌드위치 효소 결합 면역 흡착 측정법을 통해서 측정될 수도 있는데, 그 방법은 한 쌍의 항체들을 사용하는데, 하나는 포획용이고 다른 하나는 탐지용이다. 이러한 방법들은 동종업자들에게 잘 알려져 있다.

[0146] 다르게 정의되지 않는 한, 여기서 사용된 모든 기술적 그리고 과학 용어들은 본 발명이 속한 기술분야의 동종업자에 의해 통상적으로 이해되는 같은 의미를 가진다. 비록 여기에서 기술된 것들과 비슷하거나 동일한 어떠한 방법들과 재료들이 본 발명을 이용하고 테스트하는데 또한 사용될 수 있으나, 바람직한 방법들과 재료들이 현재 기술된 것이다. 여기에서 언급된 모든 출판물들은 인용된 출판물과 관계된 방법들 그리고/혹은 재료들을 개시하고 기술하기 위해 참조를 통해서 여기에 합병된다.

[0147] 값들의 범위가 주어지는 경우에, 범위의 상위와 하위 경계 각 사이에 존재하는 값들과 (글에서 분명히 다르게 말하지 않는 한, 아래 경계 단위의 10 분의 1 까지) 다르게 언급된 혹은 언급된 범위 내 사이의 어떠한 값들은 본 발명 내에 포함되는 것으로 이해되어야 한다. 독립적으로 작은 범위들 안에 포함될 수도 있는 이러한 더 작은 범위들의 상위 그리고 하위 경계들 또한 본 발명 내에 포함되는데, 이는 언급된 범위 내 어떠한 특히 배제되는 경계에 따른다. 언급된 범위가 하나 혹은 그 경계들 모두를 포함하는 경우, 이러한 포함된 경계들을 배제한다.

범위들 또한 본 발명에 포함된다.

- [0148] 비록 본 발명이 특정 참조문헌의 실시 예들을 참조하여 기술되었으나, 동종업자는 본 발명에 다양한 변화가 이루어질 수 있고 동등물들은 본 발명의 기본 정신과 범위에서 이탈하지 않고 대체될 수도 있다고 이해하여야 한다. 부가적으로, 특정 상황, 재료, 물질 조성, 과정, 과정 스텝 혹은 스텝들을 본 발명의 객관적인 정신과 범위에 적응시키기 위해 많은 변형이 이루어질 수 있다. 그러한 모든 변형들은 여기에 첨부된 청구항들의 범위 안에서 이루어지도록 의도된다. 값들의 범위가 주어지는 경우에, 범위의 상위와 하위 경계 각 사이에 존재하는 값들과 (글에서 분명히 다르게 말하지 않는 한, 아래 경계 단위의 10 분의 1 까지) 다르게 언급된 혹은 언급된 범위 내 사이의 어떠한 값들은 본 발명 내에 포함되는 것으로 이해되어야 한다. 독립적으로 작은 범위들 안에 포함될 수도 있는 이러한 더 작은 범위들의 상위 그리고 하위 경계들 또한 본 발명 내에 포함되는데, 이는 언급된 범위 내 어떠한 특히 배제되는 경계에 따른다. 언급된 범위가 하나 혹은 그 경계들 모두를 포함하는 경우, 이러한 포함된 경계들을 배제한 범위들 또한 본 발명에 포함된다.
- [0149] 여기에 그리고 첨부한 청구항들에서 사용된 단수형태들은 문맥에서 다르게 언급되지 않는 한 그에 해당하는 복수형들을 포함한다는 것으로 알아야 한다.
- [0150] 여기에서 토의된 출판물들은 순전히 본 출원의 출원일자 이전에 개시된 것들만 제공된다. 여기에 어느 것도 본 발명이 이전 발명에 의한 그러한 출판을 날짜적으로 앞설 자격이 없다는 것을 인정하는 것으로 파악되서는 안된다. 더 나아가서 주어진 출판일들은 실제 출판일들과 다를 수 있어 독립적으로 재확인할 필요가 있을 수도 있다.
- [0151] 본 발명은 본 발명의 정신과 필수적인 요소들에서 벗어나지 않고 다른 특정 형태들로 구체화될 수도 있는데, 그 이유 때문에, 발명의 범위는 위의 명세서보다는 첨부된 청구항들을 참조하여 이루어져야 한다. 비록 본 발명이 특정 참조문헌의 실시 예들을 참조하여 기술되었으나, 동종업자는 본 발명에 다양한 변화가 이루어질 수 있고 동등물들은 본 발명의 기본 정신과 범위에서 이탈하지 않고 대체될 수도 있다고 이해하여야 한다. 부가적으로, 특정 상황, 재료, 물질 조성, 과정, 과정 스텝 혹은 스텝들을 본 발명의 객관적인 정신과 범위에 적응시키기 위해 많은 변형이 이루어질 수 있다. 그러한 모든 변형들은 여기에 첨부된 청구항들의 범위 안에서 이루어지도록 의도된다.
- [0152] **발명의 실시를 위한 구체적인 내용**
- [0153] 아래의 예들은 동종업자들에게 본 발명을 어떻게 만들고 사용하는지 전체를 개시하고 전체 기술을 제공하기 위해 제시되었고, 발명자가 간주하는 발명의 범위를 제한하도록 의도된 것이 아니며, 밀의 실험들이 전체 혹은 유일하게 수행된 실험들을 나타내도록 의도된 것도 아니다. 사용된 숫자들에 대해서 정확성을 확보 하려고 노력하였으나 몇 실험적 오류들과 편차들이 있을 수 있다. 다르게 제시되지 않는 한, 파트는 무게당 파트이고 분자량은 무게 평균분자량이고, 온도는 섭씨이고, 압력은 기압 혹은 기압 근처이다.
- [0154] **시약들과 항체들**
- [0155] 최소 필수 배지 (Minimum Essential Medium, MEM)는 미국 세포주은행 (ATCC, 매나세스, 버지니아, 미합중국)에서 구입하였다. 신경기초 배지 (Neurobasal medium), B27 보조제(supplement), 그리고 L-글루타민은 김코 (GIBCO)사 (칼스바드, 캘리포니아, 미합중국)로 부터 구입하였다. 트립신-EDTA, 페니실린-스트렙토마이신-암포테르신 용액은 MP 바이오메디칼(Biomedicals) (솔론, 오하이오, 미합중국)에서 구입하였다. 소태아 혈청 (FBS), 모든 트랜스형의 래티노산 (ATRA 라고도 알려짐), 인간 유전자제조합 랩틴 그리고 인간 유전자 제조합 인슐린들은 시그마 알드리치(Sigma-Aldrich)사 (세인트루이스, 미주리, 미합중국)로 부터 구입하였다. 실험적으로 AMP-의존성 단백질 키나아제 (AMPK)를 활성화하기 위해 널리 사용되는 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR)는 Cell Signaling Technology사 (덴버스, 매사추세츠, 미합중국)로 부터 구입하였다. 활성화된 AMP-의존성 단백질 키나아제 (AMPK)는 지방분해 (lipolysis)를 촉진하고 지방생성 (lipogenesis)를 억제하는 것으로 알려져 있다.
- [0156] 토끼 항-AMPK α (pThr¹⁷²), 토끼 항-AMPK α (total) 그리고 타우 (pSer³⁹⁶) 쥐 단일 클론 항체 (mAb) 들은 셀 시그널링 테크놀로지(Cell Signaling Technology)사 로 부터 구입하였다. 전체 타우를 탐지하기 위한 타우 쥐 단일클론항체 (클론 5E)는 업스테이트 셀 시그널링 솔루션스 (Upstate Cell Signaling Solutions) 사 (레이크 플래스이드, 뉴욕주, 미합중국)에서 구입하였다. PHF-타우 마우스 단일클론 항체 (클론 AT8)는 피어스 바이오 테크놀로지 (Pierce Biotechnology)사 (락포드, 일리노이, 미합중국)에서 구입하였다. PHF-1 쥐 단일클론항체는 피터 데이비스 박사 (Dr. Peter Davies, 알버트 아인슈타인 의대, 브롱스, 뉴욕, 미합중국)로 부터 제공받

았다. 토끼 항-렙틴 수용체 (OB-R) α -tubulin 쥐 단일클론 항체는 어피니티 바이오리어전츠(Affinity BioReagents)사 (골든, 콜로라도주, 미합중국)에서 구입하였다. 인슐린 수용체 베타 서브유닛 (β -subunit)은 밀리포어(Millipore)사로 부터 구입하였다. (빌러리카, 매사추세츠, 미합중국)

[0157] **세포주들의 배양**

[0158] 인간 신경모세포종 (SH-SY5Y) 그리고 배아 암종(NTera-2, NT2) 세포주들은 미국 세포주은행 (American Type Culture Collection, ATCC)에서 구입하였다. 세포배양은 제조사의 특정 지침에 따라 수행되었다. 간단히, SY5Y 와 NT2 세포들은 25 cm² 조직배양 플라스크 (Corning; 코닝, 뉴욕, 미합중국)내 10%의 소태아혈청(FBS) 을 함유한 최소 필수 배지 이글(minimum essential medium (MEM) Eagle) 내에서 80-90% 정도의 혼탁도가 이루어질 때까지 증식시켰다. SY5Y 와 NT2 세포들은 플라스크로부터 0.1%의 트립신-EDTA와 부드럽게 긁어서 이탈시켰고, 각각 1:5 의 비율로 개대배양 되었다.

[0159] **신경세포로의 유도**

[0160] 신경세포로 분화를 유도하기 위해서, 1×10^6 숫자의 SY5Y 혹은 NT2 세포들은 25 or 75 cm² 의 조직배양 플라스크에 각각 넣어졌다. 세포들은 5%의 소태아혈청을 함유하고 10 μ M의 RA가 첨가된 신경 유도 배지 (neuronal induction medium, NIM) 안에서 배양되었다. SY5Y는 신경유도배지에서 6일 동안 배양되었고 7일째 처리와 수확되기 전에 혈청이 들어있지 않은 신경유도배지로 전환되었다. NT2세포들의 신경분화 유도는 이전에 기술된 프로토콜에 근거하였다 (앤드류스 등 레티노산은 시험관내에서 클론된 인간 배아 암종세포의 신경세포로의 분화를 유도한다 (W. Andrews et al., Retinoic acid induces neuronal differentiation of a cloned human embryonal carcinoma cell line in vitro, Dev. Biol. 103 (1984) 285?293) 이 문헌은 여기에 참조를 통해 병합된다). 간단히, NT2 세포들은 신경유도배지에서 5 주 동안 3 일 마다 50%의 신경유도배지를 바꾸면서 배양되었다. 분화된 NT2 세포들 (NT2N)은 처리와 수확 전날에 혈청을 포함하지 않은 배지로 전환하였다.

[0161] **쥐 (Rat) 일차 신경 세포 배양**

[0162] 일차 대뇌 신경들은 브레인 비츠(BrainBits)사 (스프링필드, 일리노이, 미합중국)로 부터 구입하여, 제조사의 지침에 따라 배양하였다. 간단히, 조직들을 분산시킨 후, 상청액 (supernatant)을 새로운 시험관으로 이동시켜, 1100 rpm에서 1분간 원심 분리하였다. 그 후 신경들은 폴리-D-라이신 (poly-D-lysine)으로 코팅된 6-well plate (BD Biosciences사, 산호세, 캘리포니아, 미합중국) 에 옮겨져 B27과 0.5 mM L-글루타민이 첨가된 신경 기초 배지 (Neurobasal medium, 인비트로젠사 (Invitrogen)) 안에서 배양되었다. 배지는 4 일 후에 교환하였고, 배양 7 일째 그 신경들은 처리되고 수확되었다.

[0163] **단백질 추출과 웨스턴 블롯팅**

[0164] 웨스턴 블롯 (혹은 면역블롯) 분석은 주어진 조직 균질액 혹은 추출액내 특정 단백질을 탐색하는 방법으로, 그 폴리펩타이드의 분자량에 따라 주로 변성단백질을 분리하기위해 SDS-젤 전기영동을 사용한다. 단백질들은 그 이후 막 (주로 니트로셀룰로오즈 혹은 PVDF)으로 옮겨지는데 거기에서 목표 단백질에 특수한 항체들을 이용하여 탐색된다.

[0165] SY5Y, NT2N 그리고 쥐 (rat) 대뇌 신경세포들은 렙틴, 인슐린, 그리고/혹은5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR)로 처리한 후, 긁어서 수확하였다. 세포 침사물 (pellet)들은 얼음 정도로 차가운 1x PBS (phosphate buffered saline, 인산으로 버퍼링된 식염수)로 두 번 세척되었고, 단백질 분해효소 (protease)와 인산분해효소(phosphatase) 억제제가 첨가된 1x RIPA 분해/추출 버퍼 (25 mM Tris-HCl, pH 7.6, 150 mM NaCl, 1% NP-40, 1% 소듐 디옥시콜레이트(sodium deoxycholate) and 0.1% SDS (Pierce사))로 재부유시킨후, 드라이아이스/에탄올 탕내에서 동결/해동 주기를 반복시켰다. 세포가 없는, 전체 세포 용해물 (lysate)을 얻어서 전체 단백질을 쿠마시(브래포드) 단백질 분석 키트 (Coomassie (Bradford) Protein Assay Kit, 피어스사(Pierce))를 통해 결정하였다. 전체 세포 추출물 (25 μ g)은 10% SDS-전기영동용으로 미리 캐스팅된 젤을 이용 (몬자사, 로클랜드, 메인) 웨스턴 블롯으로 분석하였고, 그렇게 분리된 단백질들은 폴리비닐리덴 디플루오라이드 (polyvinylidene difluoride) 막 (밀리포어사, Millipore)으로 전이 되었다. 막들은 4°C 에서 일차 항체와 하룻밤 동안 배양하였고, 그 다음날 HRP 가 결합된 IgG (HRP-conjugated) 와 2시간 동안 배양하여 탐지하였다. 타우-pSer³⁹⁶ (1:500)를 제외한 모든 일차 항체들, 전체 타우 (1:500) 그리고 PHF-타우 AT8 (1:200), 그리고 두 번째 항체들은 최종 1:1,000 and 1:10,000 의 비율로 희석되었다. HRP는 수퍼시그널 웨스트 피코 케미일루미네스ٹ 서브스트레이트(SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrate) (Pierce사)를 이용해 현상하였고,

바이오래드(BioRad, 허큘스, 캘리포니아) 케미닥 (ChemiDoc) XRS 시스템을 이용하여 이미지화 하였다. 다른 항체들로 다시 탐지 하기 위해, 사용된 막들은 리스토어 플러스 웨스턴 블롯 스트리핑 버퍼 (Restore PLUS Western Blot Stripping Buffer, Pierce사)를 이용하여 벗겨내었다. 블락용 버퍼는 5% 우유, 0.1% 트윈(Tween)을 함유한 TBS (Tris로 버퍼링된 식염수, Tris-buffered saline) 로 구성되었다.

[0166] 통계분석

[0167] 통계 자료 분석은 분산분석과 터키-크레이머 다 비교 테스트(Turkey-Kramer multiple comparisons test) 를 통해서 수행하였다. 밀도계분석은 유엔-스캔-잇 젤 6.1 소프트웨어(UN-SCAN-IT gel 6.1) (실크 사이언티픽, (Silk Scientific) 오렘, 유타, 미합중국) 를 이용하여 수행하였다. $p < 0.05$ 는 통계적으로 유의미한 것으로 고려되었다.

[0168] 실시 예 1. RA로 유도된 SY5Y 세포내의 랩틴 과 타우의 인산화

[0169] RA 를 이용한 인간 신경모세포종 세포 라인 (SY5Y)의 유도는 알츠하이머병 (AD) 관련 조직의 과인산화를 유도하는것으로 보고되었다. 따라서 우리는 레티노산으로 7일 동안 유도된 SY5Y세포들 (RA-SY5Y)을 랩틴의 영향과 타우 인산화를 조사하기위한 시험관내 일차모델로 사용하였다.

[0170] 첫 연구로 400 ng/ml 의 랩틴 혹은 플라시보로 처리된 RA-SY5Y 세포내의 랩틴 수용체 (OB-R)의 발현을 검사하였다. 처리된 그리고 플라시보로 처리된 세포들 모두 상대적으로 높은 OB-R 을 발현하는 것으로 발견되었다. (도 1A) 다음으로, 랩틴이 타우 인산화에 영향을 끼치는지 여부를 결정하였다. 세포들은 특정 범의 기간 동안 400 ng/ml 의 랩틴 혹은 플라시보로 처리되었고, 타우의 Ser³⁹⁶ (타우의 미세소관 결합 지역내의 사이트) 에서의 인산화를 검사하였다. (도 1B 그리고 도 1C) 플라시보와 비교해서, 랩틴으로 1시간, 2시간, 혹은 4시간 동안 처리된 세포 내에서 통계적으로 유의미한 ($p < 0.05$) 타우 (Ser³⁹⁶) 인산화의 감소가 관찰되었다. (도 1C; 가장 오른쪽 막대들) 4시간과 비교해서, 랩틴으로 24 시간 동안 처리된 세포들에서는 타우 (Ser³⁹⁶) 의 인산화의 변화가 관찰되지 않았다 (데이터는 여기서 보여지지 않았다).

[0171] 랩틴과 타우 Ser³⁹⁶ 인산화 사이의 용량반응 관계를 결정하기 위해, RA-SY5Y 세포들은 다양한 농도에서 4시간 동안 랩틴으로 처리되었다. (도 1D 그리고 도 1E) 우리는 100 ng/ml 으로 처리된 세포 내에서 통계적으로 유의미한 ($p < 0.05$) 타우 (Ser³⁹⁶) 인산화의 감소를 관찰하였다 (도 1E; 왼쪽에서 두번째 막대). 타우 (Ser³⁹⁶) 인산화의 감소는 최대효과를 나타낸 1600 ng/ml 의 랩틴농도 까지 관찰 되었다. 랩틴의 타우 (Ser³⁹⁶) 인산화에 대한 예상 50% 저해 농도 (IC₅₀)는 750 ng/ml, 혹은 46.9 nM로 주어졌다.

[0172] 실시 예 2. 인슐린 그리고 RA로 유도된 SY5Y세포에서의 타우의 인산화

[0173] 우리는 랩틴과 비교해서, 인슐린 처리로 인한 RA-SY5Y 내 타우 (Ser³⁹⁶) 인산화 영향을 테스트하였다.

[0174] 첫 연구들은 10 μ M 인슐린 혹은 플라시보로 처리된 RA-SY5Y 내 인슐린 수용체의 발현을 검사하는 것이었다. 인슐린 그리고 플라시보로 처리된 세포 모두 높은 수준의 인슐린 수용체를 발현하는 것을 발견하였다 (도 2A). 다음으로 타우 인산화에 대한 인슐린의 영향을 결정하였다. 세포들은 다양한 시간에 걸쳐 10 μ M 인슐린 혹은 플라시보로 처리되었고, 타우 (Ser³⁹⁶) 의 인산화를 측정하였다 (도 2B 그리고 도 2C). 플라시보로 처리된 세포들과 비교해서, 인슐린으로 2시간 혹은 4시간 동안 처리된 세포들에서 통계적으로 유의미한 ($p < 0.05$) 타우 (Ser³⁹⁶) 인산화의 감소가 관찰되었다 (도 2C; 가장 오른쪽 막대들). 4시간과 비교해서, 24시간 동안 인슐린으로 처리된 세포들에서는 타우 (Ser³⁹⁶) 인산화의 변화가 발견되지 않았다 (데이터는 여기 보여지지 않는다).

[0175] 랩틴 연구들에서와 같이 (도 1D 그리고 도 1E), 인슐린의 타우 (Ser396) 인산화에 대한 용량반응 곡선은 RA-SY5Y 을 이용하여 만들어졌다 (도 2D 그리고 도 2E). 우리는 10 μ M 의 인슐린으로 처리된 세포들에서 통계적으로 유의미한 ($p < 0.05$) 타우 (Ser396) 인산화의 감소를 관찰하였다 (도 2E; 오른쪽으로부터 세번째 막대). 더 나아가서, 20 μ M 의 인슐린 농도에서 최대 타우 (Ser396) 인산화의 감소를 관찰하였다 (오른쪽에서 두번째 막대). 인슐린의 타우 (Ser396) 인산화에 대한 예상 50% 저해 농도 (IC₅₀)는 13.8 nM로 주어졌다.

[0176] 요약

[0177] 알츠하이머병에서 과 인산화 되는 것으로 알려진 타우 인산화 사이트의 인산화 수준에 끼치는 랩틴의 영향을 연

구하였다. RA에 의해 유도된 인간 SY5Y세포들은 과 인산화된 타우를 발현하는데, 그 이유로 본 연구의 치료 모델로 사용되었다. 인슐린이 시험관내 그리고 신체 내 모델 모두의 타우 인산화 수준을 감소시키므로, 우리 연구들은 렙틴과 인슐린의 유효성을 비교하는 것으로 시작하였다. (도1 그리고 도2). 렙틴은 인슐린이 타우 인산화를 50% 감소시키는 농도 (도 2; IC_{50} = 13.8 μ M) 보다 300 배 더 낮은 농도 (도 1, IC_{50} = 46.9 nM)에서 타우 인산화를 50% 감소시키는 것으로 밝혀졌다.

[0178] 실시 예 3. 복합된 렙틴과 인슐린 처리 그리고 타우 인산화

[0179] RA-SY5Y 세포들은 차선 (suboptimal) 혹은 최대 유효량의 렙틴 그리고/혹은 인슐린 (개별 혹은 복합으로) 4시간 동안 처리되었고, 타우 (Ser^{396}) 인산화를 측정하였다 (도 3A 그리고 도 3B). 각 개별적인 처리와 비교해서, 차선 (suboptimal) 농도의 렙틴 (100 ng/ml) 과 인슐린 (1 μ M)이 함께 처리된 세포들에서 통계적으로 유의미한 인산화의 감소가 발견되었다 (도 3B; 왼쪽에서 첫 번째, 세 번째 그리고 다섯 번째 막대들). 최대 유효량의 렙틴 (1600 ng/ml) 과 최대 유효량의 인슐린 (20 μ M) 으로 함께 처리한 실험은, 플라시보 처리와 비교하였을 때, 가장 통계적으로 유의미한 ($p < 0.01$) 인산화의 감소를 가져왔다 (오른쪽에서 첫 번째 막대). 최대 유효량의 렙틴 과 인슐린의 동시 처리는 각 개별처리와 비교했을 때 통계적으로 유의미한 ($p > 0.05$) 타우 (Ser^{396}) 인산화를 가져오지 못했다.

[0180] 요약

[0181] 차선량의 렙틴 (100 ng/ml) 과 인슐린 (1 μ M) 을 함께 처리하는 실험은 개별적으로 처리했을 때와 비교해서 통계적으로 유의미한 타우 인산화의 감소를 만들어 냈다 (도 3). 이 결과는 렙틴과 인슐린이 부가 효과를 낼 수도 있으므로, 알츠하이머병 치료를 위해서 그들을 함께 처리하는 것의 잠재적 이득이 있다는 것을 증명한다.

[0182] 실시 예 4. 렙틴 그리고 인슐린 으로 유도된 비 인산화의 가역성

[0183] 타우 인산화는 동물에서 추운 온도 스트레스와 함께 증가한다는 것이 보고되었다. 따라서 우리는 렙틴 그리고 인슐린으로 유도된 Ser^{396} 에서의 타우 비 인산화가 가역적인지 여부를 결정하기 위해 비슷한 방법을 이용하였다. RA-SY5Y 는 렙틴 (1600 ng/ml) 과 인슐린 (20 μ M)으로 4시간 동안 함께 처리되거나 플라시보로 처리되었다. 처리 기간의 마지막에, 세포들은 수확되거나 혹은 얼음 정도로 차가운 PBS (pH 7.4)로 10분 동안 혹은 1시간 동안 더 처리되었다 (도 3C 그리고 도 3D). 차가운 PBS로 10분 동안 더 처리된 세포들은 함께 처리된 실험군과 비교했을 때 통계적으로 유의미한 ($p < 0.05$) 타우 인산화의 증가를 보였다 (도 3D; 왼쪽에서 첫 번째와 두 번째 막대들). 차가운 PBS로 1시간 동안 더 처리된 세포들은 처리하지 않은 세포들과 비교했을 때 통계적으로 유의미한 ($p < 0.01$) 타우의 과 인산화를 보였다 (오른쪽에서 첫 번째 막대). 이러한 결과들은 타우 비 인산화에 대한 렙틴과 인슐린의 효과들이 가역적임을 의미한다. 이러한 결과는 타우의 인산화에 대한 항체의 특수성을 또한 증명한다.

[0184] 실시 예 5.1 렙틴, 인슐린 그리고 다른 알츠하이머 사이트에서의 타우 인산화

[0185] 관찰된 렙틴과 인슐린의 Ser^{396} 에서의 타우 인산화에 대한 영향이 다른 알츠하이머 관련 사이트들과 일치하는지를 평가하기 위해서 (도 1 과 도 2), 쌍 나선형 세섬유 (a paired helical filament, PHF) 타우에서 인산화 된다고 알려진 타우 항원결정인자에 대항해서 만들어진 항체를 이용하였다. 쌍 나선형 세섬유 (a paired helical filament, PHF)들은 신경섬유매듭 (NFT) 병리의 주요 성분인데, 이것들은 타우의 과 인산화와 그로 인한 미세소관의 불안정화와 소중합체 (올리고머) 형성으로 야기된다. $Ser^{396/404}$ 과 Ser^{202}/Thr^{205} 에서 인산화된 타우는 각, PHF-1 (생쥐) 그리고 AT8 (생쥐) 항체들에 의해서 인식된다.

[0186] RA-SY5Y 세포들은 도 3A와 도 3B에서 보여지듯이 렙틴 그리고/혹은 인슐린으로 처리되었고, 특정 타우 사이트들에서의 인산화가 측정되었다 (표 1)

[0187] [표 1]

[0188] 처리된 신경 세포 배양에서 보여지는 상대적인 타우의 인산화

세포 타입	인산화 사이트	처리							
		비 처리	렙틴 100 ng/ml	렙틴 800 ng/ml	렙틴 1600 ng/ml	인슐린 1μM	인슐린 20 μM	렙틴 100 ng/ml + 인슐린 1 μM	렙틴 1600 ng/ml + 인슐린 20 μM
RA- SY5Y	pSer ³⁹⁶	0	- 26±6*	ND	- 51±5*	- 23±4*	47±14 ±	58±10 ±	69±12 ±
	PHF-1	0	- 20±19	ND	- 67±4*	- 37±11 ±	- 80±7*	- 72±3*	- 84±6*
	AT8	0	- 10±5	ND	- 60±19 ±	- 40±13 ±	- 57±14 ±	- 61±17 ±	- 66±21 ±
NT2N	pSer ³⁹⁶	0	- 27±6*	ND	- 27±5*	- 23±6*	- 53±10 ±	- 42±7*	- 48±1*
쥐 (rat) 1 차 신경세 포	PHF-1	0	ND	- 75±18*	ND	ND	ND	ND	ND
	AT8	0	ND	5±23	ND	ND	ND	ND	ND

[0189]

[0190] 간단히, RA로 유도된 SY5Y 와 NT2N 세포들은 낮은 그리고 높은 농도의 렙틴 (100 ng/ml or 1600 ng/ml) 그리고/혹은 인슐린 (1 μM or 20 μM) 으로 4시간동안 처리되거나 혹은 비 처리되었다 (플라시보). 일차 쥐(rat) 대뇌 신경세포들은 렙틴으로 24시간 동안 처리되거나 플라시보로 처리되었다. 전체 세포 추출물을 준비하여 인산화된 타우를 특정적으로 인식하는 항체들 (pSer³⁹⁶, PHF-1 or AT8)을 이용하여 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. 표준화를 위해서 사용된 막들은 벗겨내어 항 타우 (전체) 항체로 재검사하였다. 표준화된 밴드 밀도들은 밀도계로 분석하였고 결과들은 비 처리 샘플 (인위적으로 값어치 0으로 지정된) 과 비교해서 평균 ± 표준편차 (퍼센트 배의 변화) 로 나타내었다. (ND- 결정되지 않음).

[0191] 렙틴 그리고/혹은 인슐린 처리는 PHF-1 그리고 AT-8 항체들로 탐지된 실험들에서 보여지듯이, 타우의 인산화에 비슷한 영향을 끼치는 것으로 관찰되었다 (표 1). 단 한가지 관찰 가능한 차이는 pSer³⁹⁶ 항체를 사용한 실험에서 관찰된 것과 달리, 100 ng/ml 농도의 렙틴이 통계적으로 유의미한 (p>0.05) 타우 인산화의 감소를 유도할 수 없었다는 것이었다. 이러한 발견들은 렙틴과 인슐린 모두 RA-SY5Y 세포들을 처리했을 때 적어도 두 개의 다른 알츠하이머병 관련 타우 사이트들의 인산화를 감소시킨다는 것을 증명한다.

[0192] 실시 예 5.2. 렙틴, 인슐린, 그리고 다른 신경세포들에서의 타우 인산화

[0193] 우리는 다음 타우 인산화에 대한 렙틴 그리고/혹은 인슐린의 효과가 RA-SY5Y 세포들에만 유일한 것인지 혹은 다른 신경세포들에서도 한결 같은지를 결정하였다. 이를 위해서, 우리는 인간 NT2 세포들을 이용하였는데, 이것들은 RA로 처리하면 쥐 일차 대뇌 신경세포들과 같은 신경세포로 분화를 하게 된다.

[0194] 도 3A 와 도3B 에서 보여지듯이, NT2N 세포들은 렙틴 그리고/혹은 인슐린으로 처리되었고Ser³⁹⁶ 에서의 타우의 인산화가 측정되었다. 인슐린과 복합된 인슐린/렙틴 처리는 RA-SY5Y 세포들에서 관찰되던 것과 비슷한 영향을 나타내는 것을 관찰하였다 (표 1).

[0195] 쥐(rat) 일차 신경세포에서, 우리는, PHF-1 와 AT8 항체들을 이용, 24 시간 렙틴으로 처리했을 때의 타우 인산화에 대한 효과를 결정하였다 (표 1). 중간 범위 량의 렙틴 (800 ng/ml)이 선택되었는데, 이는 이 농도가 RA-SY5Y 세포들 내에서 타우 인산화의 50% 감소 (ID₅₀) 를 일으키기 때문이다 (도 1). 렙틴은 PHF-1 항체로 탐지되었을 때 플라시보로 처리된 세포들에 비해 통계적으로 유의미한 (p<0.05) 타우 인산화의 감소를 만들어냈다 (표 1). 하지만, 그러한 렙틴에 의해 유도된 타우 인산화의 감소는 AT8항체를 이용하였을 때는 탐지되지 않았다 (표 1).

[0196] 요약하자면, 여러 가지 신경세포들에서 렙틴은 Ser^{396/404} 에서 타우 인산화의 감소를 유래하였다 (PHF-1 항체로 탐지되듯이). 더 나아가서, 모든 세포들이 아닌 대부분의 신경세포 타입들에서 렙틴은 Ser²⁰²/Thr²⁰⁵ 에서 타우

인산화의 감소를 유도한다 (AT8 항체로 탐지되듯이).

[0197] **요약**

[0198] 인간 NT2N세포들과 쥐(rat) 일차 대뇌 신경세포들에서의 타우 인산화는 (표1) 검사결과 렘틴의 효과들이 다른 신경세포들에서도 한결같다는 것이 증명되었다. RA-SY5Y 세포들에서와 비슷한 결과들이 관찰되었는데 예외는 렘틴이 쥐 대뇌 신경세포에서 통계적으로 유의미할 만큼 Ser²⁰²/Thr²⁰⁵ (AT8 쥐 단일클론항체)의 인산화를 변화 시키지 않았다는 것이다. 이론에 한정됨이 없이, 이러한 결과는 아마도 항체들의 종 특성과도 관련이 있을 수 있다.

[0199] **실시 예 6. AMPK 신호전달 그리고 RA-SY5Y세포들에서의 타우 인산화**

[0200] 렘틴과 인슐린의 타우 인산화 조절에 끼치는 영향을 연구하기 위해, 에너지 항상성 효소인 AMP-activated protein kinase (AMPK)를 세포 투과력이 있는 활성화 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR) 로 자극하였다.

[0201] 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR) 처리는 pThr¹⁷² AMP-활성 단백질 키나아제 알파 (AMPK α) 밴드 밀도의 큰 증가를 만들어 냈는데 (도 4A, 제일 꼭대기열), 이것은 AMP-활성 단백질 키나아제 알파 (AMPK α)의 효과적인 활성화를 증명한다. 우리는 다음으로 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR)의 타우 인산화에 대한 영향을 결정하였다. RA-SY5Y 세포들은 다양한 시간 동안 1 mM의 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR)로 처리되거나 혹은 플라스미보로 처리되었다 (도 4B 그리고 도 4C). 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR)로 10분에서 4시간까지 처리된 세포들에서, 플라스미보와 대비, 통계적으로 유의미한 (p<0.05) Ser³⁹⁶ 인산화의 감소가 관찰되었다 (도 4C; 회색 막대들).

[0202] 용량-반응 관계를 설정하기 위해 RA-SY5Y 세포들은 1시간 동안 다양한 농도의 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR)로 처리되었다 (도 4D 그리고 도 4E). 우리는 1 mM의 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR)로 처리된 세포들에서 통계적으로 유의미한 (p<0.05) Ser³⁹⁶ 인산화의 감소를 관찰하였다 (도 4E; 오른쪽에서 세 번째 막대). Ser³⁹⁶ 인산화의 감소는, 최대한 효과를 나타낸, 2 mM 농도의 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR) (오른쪽에서 두 번째 막대) 까지 관찰되었다. 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR)의 타우 (Ser³⁹⁶)에 대한 예상 50% 억제 농도 (IC₅₀)는 2.7 mM의 값으로 주어졌다.

[0203] 종합적으로, 관찰된 결과들은 렘틴 혹은 인슐린에 의한 AMP-활성 단백질 키나아제 알파(AMPK α)의 활성화가 타우의 알츠하이머 관련 사이트들의 인산화에 비슷한 영향을 나타낼 수 있다는 것을 의미한다.

[0204] 타우 인산화 중에서 수용체 이후 신호 전달 체계들이 집중되는 점을 조사하였다. AMP-활성 단백질 키나아제 (AMPK) (도 4)는 인슐린과 렘틴에 의해 활성화 되는 것으로 알려져 있고 또한 글리코겐 합성효소 키나아제-3 베타 (glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β) 와도 상호작용을 한다고 알려져 있다. 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드-리보사이드(AICAR)을 이용한 AMP-활성 단백질 키나아제 (AMPK) 활성화는 10 분내에 주목할만한 타우 인산화의 변화를 만들었다. 이러한 발견들은 AMP-활성 단백질 키나아제 (AMPK)가 알츠하이머병과 관련 있는 타우 인산화를 감소시키는데 새로운 치료 목표를 제공할 수도 있다는 것을 제시한다. 우리는 AMP-활성 단백질 키나아제 (AMPK)의 활성화가 렘틴/인슐린 효과와 흡사하다는 것을 증명한다.

[0205] **실시 예 7. 임상시험들**

[0206] 인간에서 렘틴의 임상개발이 연구된다. 예비시험 (플라스미보로 조절된 이중맹검법을 적용한)에서, 초기단계 알츠하이머병을 진단받은 같은 환자수의 세 그룹은 16 주 동안 하루에 한번씩 0 mg (플라스미보), 5 mg, 혹은 10 mg의 렘틴을 피하주사를 통해 받게 된다. 뇌척수액 (CSF)과 혈청 샘플들은 시작 시, 중간에, 그리고 시험 마지막에 얻고, 아밀로이드 베타 40 (Aβ40), 아밀로이드 베타 42(Aβ42), 그리고 타우의 인산화가 측정된다. 환자들은 그 임상시험의 초기와 말기에 신경심리학적 검사들을 또한 받는다. 이 임상시험은 임상전의 발견들을 확인하며, 선택적으로 두 알츠하이머병 병리학을 목표로하는 렘틴의 가치를 증명한다.

[0207] 임상 전 자료와 함께, 그러한 임상시험 자료는 렘틴이 Aβ와 타우 모두와 연관된 병리들을 향상시킨다는 것을 증명한다. 렘틴의 약학적 특성들과 함께, 이러한 데이터들은 알츠하이머병을 위한 새로운 치료제로서의 렘틴의 사용을 지지한다.

[0208] 실시 예 8. 렙틴 혹은 인슐린으로 처리된, RA로 유도된 SY5Y 와 NT2N

[0209] 레티노산(RA)로 유도된 SY5Y 와 NT2N는 낮은 혹은 높은 농도의 렙틴 (100 ng/ml 혹은 1600 ng/ml, 각각) 그리고/혹은 인슐린 (1 μ M 혹은 20 μ M, 각각) 으로 4시간 동안 처리되거나 혹은 비처리되었다 (플라시보) (표 1) 일차 쥐 (rat) 대뇌 신경세포들은 렙틴으로 24시간 동안 혹은 비처리(플라시보)되었다. 전체 세포 추출물을 준비하여 인산화된 타우에 특징적인 항체들 (pSer396, PHF-1 or AT8)을 이용하여 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다. 표준화를 위해서 막들은 벗겨낸후 다시 항-타우 (전체) 항체로 재검사 되었다. 표준화된 밴드 밀도들은 밀도계를 이용 분석하였고, 그 결과들은 비처리된 샘플들 (인위적으로 값 0으로 지정된) 과 비교해서 평균 \pm 표준편차 (퍼센트 배의 변화) 로 나타내었다. (ND- 결정되지 않음). * $p < 0.05$ 비처리 대비.

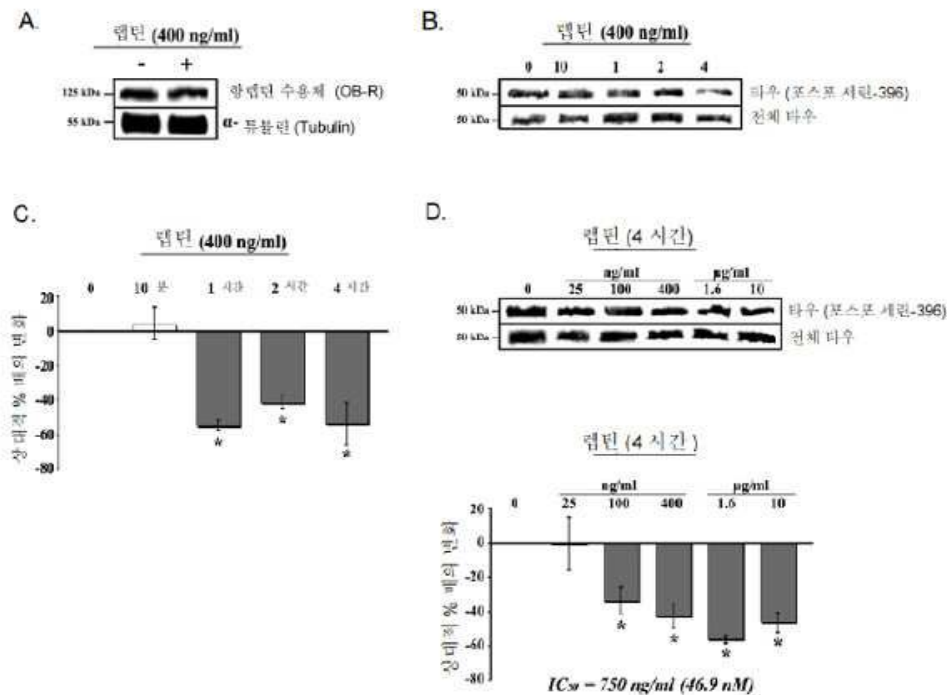
[0210] 비록 본 발명이 특정 참조문헌의 실시 예들을 참조하여 기술되었으나, 동종업자는 본 발명에 다양한 변화가 이루어질 수 있고 동등물들은 본 발명의 기본 정신과 범위에서 이탈하지 않고 대체될 수도 있다고 이해하여야 한다. 부가적으로, 특정 상황, 재료, 물질 조성, 과정, 과정 스텝 혹은 스텝들을 본 발명의 객관적인 정신과 범위에 적응시키기 위해 많은 변형이 이루어질 수 있다. 그러한 모든 변형들은 여기에 첨부된 청구항들의 범위 안에서 이루어지도록 의도된다.

[0211] * * *

도면

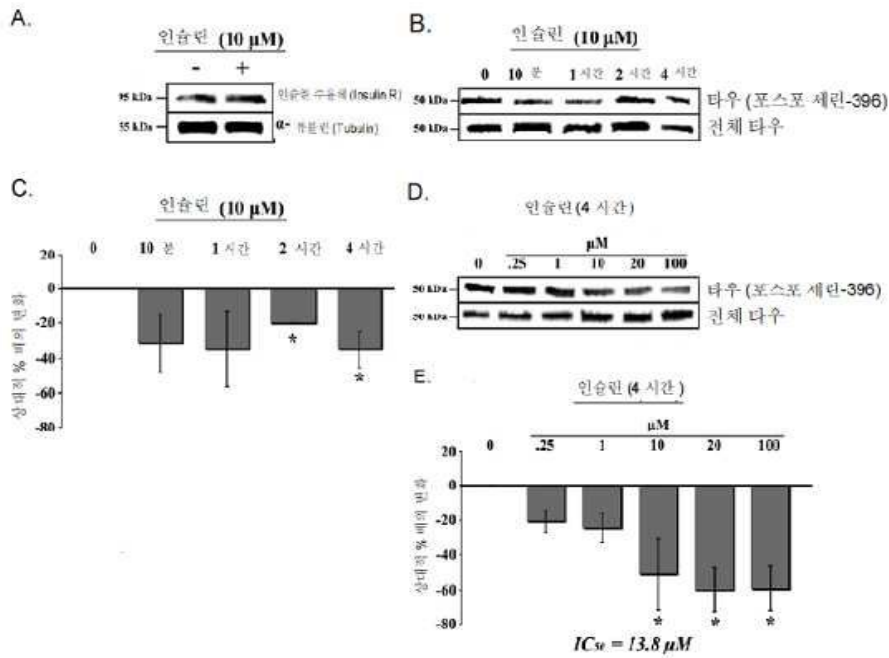
도면1

도 1



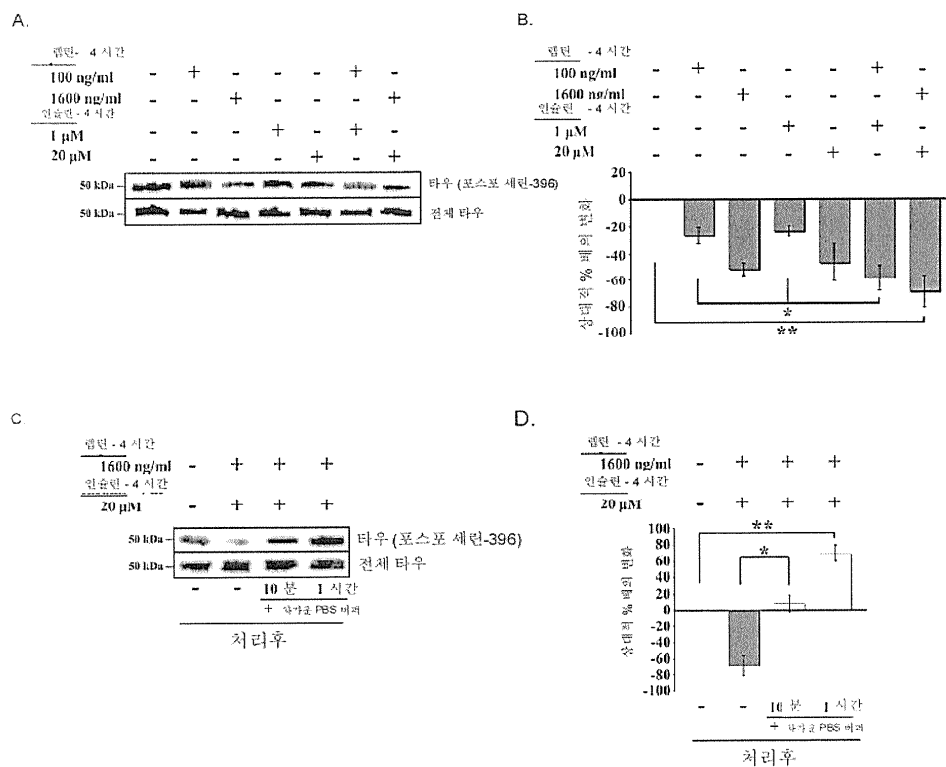
도면2

도 2



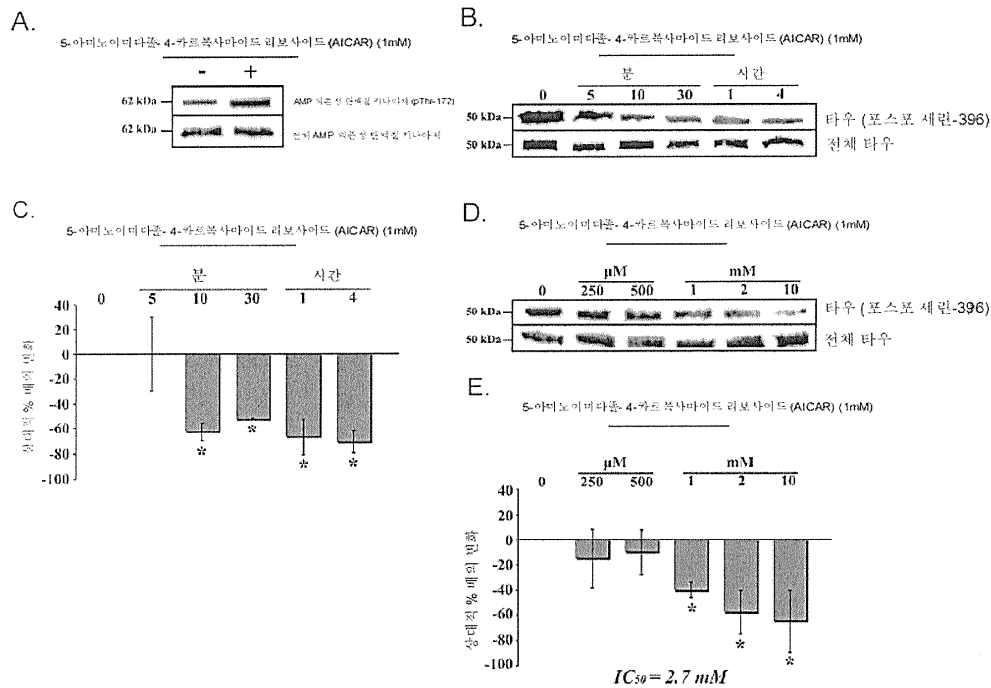
도면3

도 3



도면4

도 4



서열 목록

- <110> Tezapsidis, Nikolaos
- Greco, Steven
- Smith, Mark
- <120> Methods for Treating Progressive Cognitive Disorders Related to Neurofibrillary Tangles
- <130> 117468.010201
- <150> US 61/055,009
- <151> 2008-05-21
- <160> 6
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 770
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 1

Met Leu Pro Gly Leu Ala Leu Leu Leu Ala Ala Trp Thr Ala Arg

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

 Lys Ser Thr Asn Leu His Asp Tyr Gly Met Leu Leu Pro Cys Gly Ile
 165 170 175
 Asp Lys Phe Arg Gly Val Glu Phe Val Cys Cys Pro Leu Ala Glu Glu
 180 185 190
 Ser Asp Asn Val Asp Ser Ala Asp Ala Glu Glu Asp Asp Ser Asp Val
 195 200 205
 Trp Trp Gly Gly Ala Asp Thr Asp Tyr Ala Asp Gly Ser Glu Asp Lys
 210 215 220
 Val Val Glu Val Ala Glu Glu Glu Glu Val Ala Glu Val Glu Glu Glu

 225 230 235 240
 Glu Ala Asp Asp Asp Glu Asp Asp Glu Asp Gly Asp Glu Val Glu Glu
 245 250 255

Glu Ala Glu Glu Pro Tyr Glu Glu Ala Thr Glu Arg Thr Thr Ser Ile
 260 265 270
 Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Glu Ser Val Glu Glu Val Val Arg
 275 280 285
 Glu Val Cys Ser Glu Gln Ala Glu Thr Gly Pro Cys Arg Ala Met Ile
 290 295 300

 Ser Arg Trp Tyr Phe Asp Val Thr Glu Gly Lys Cys Ala Pro Phe Phe
 305 310 315 320
 Tyr Gly Gly Cys Gly Gly Asn Arg Asn Asn Phe Asp Thr Glu Glu Tyr
 325 330 335
 Cys Met Ala Val Cys Gly Ser Ala Met Ser Gln Ser Leu Leu Lys Thr
 340 345 350
 Thr Gln Glu Pro Leu Ala Arg Asp Pro Val Lys Leu Pro Thr Thr Ala
 355 360 365
 Ala Ser Thr Pro Asp Ala Val Asp Lys Tyr Leu Glu Thr Pro Gly Asp

 370 375 380
 Glu Asn Glu His Ala His Phe Gln Lys Ala Lys Glu Arg Leu Glu Ala
 385 390 395 400
 Lys His Arg Glu Arg Met Ser Gln Val Met Arg Glu Trp Glu Glu Ala
 405 410 415
 Glu Arg Gln Ala Lys Asn Leu Pro Lys Ala Asp Lys Lys Ala Val Ile
 420 425 430
 Gln His Phe Gln Glu Lys Val Glu Ser Leu Glu Gln Glu Ala Ala Asn
 435 440 445

 Glu Arg Gln Gln Leu Val Glu Thr His Met Ala Arg Val Glu Ala Met
 450 455 460
 Leu Asn Asp Arg Arg Arg Leu Ala Leu Glu Asn Tyr Ile Thr Ala Leu
 465 470 475 480
 Gln Ala Val Pro Pro Arg Pro Arg His Val Phe Asn Met Leu Lys Lys
 485 490 495
 Tyr Val Arg Ala Glu Gln Lys Asp Arg Gln His Thr Leu Lys His Phe
 500 505 510

Glu His Val Arg Met Val Asp Pro Lys Lys Ala Ala Gln Ile Arg Ser

515 520 525

Gln Val Met Thr His Leu Arg Val Ile Tyr Glu Arg Met Asn Gln Ser

530 535 540

Leu Ser Leu Leu Tyr Asn Val Pro Ala Val Ala Glu Glu Ile Gln Asp

545 550 555 560

Glu Val Asp Glu Leu Leu Gln Lys Glu Gln Asn Tyr Ser Asp Asp Val

565 570 575

Leu Ala Asn Met Ile Ser Glu Pro Arg Ile Ser Tyr Gly Asn Asp Ala

580 585 590

Leu Met Pro Ser Leu Thr Glu Thr Lys Thr Thr Val Glu Leu Leu Pro

595 600 605

Val Asn Gly Glu Phe Ser Leu Asp Asp Leu Gln Pro Trp His Ser Phe

610 615 620

Gly Ala Asp Ser Val Pro Ala Asn Thr Glu Asn Glu Val Glu Pro Val

625 630 635 640

Asp Ala Arg Pro Ala Ala Asp Arg Gly Leu Thr Thr Arg Pro Gly Ser

645 650 655

Gly Leu Thr Asn Ile Lys Thr Glu Glu Ile Ser Glu Val Lys Met Asp

660 665 670

Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys Leu

675 680 685

Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile Gly

690 695 700

Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala Thr Val Ile Val Ile Thr Leu

705 710 715 720

Val Met Leu Lys Lys Lys Gln Tyr Thr Ser Ile His His Gly Val Val

725 730 735

Glu Val Asp Ala Ala Val Thr Pro Glu Glu Arg His Leu Ser Lys Met

740 745 750

Gln Gln Asn Gly Tyr Glu Asn Pro Thr Tyr Lys Phe Phe Glu Gln Met

	755					760					765				
Gln	Asn														
	770														
<210>	2														
<211>	751														
<212>	PRT														
<213>	Homo sapiens														
<400>	2														
Met	Leu	Pro	Gly	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Ala	Ala	Trp	Thr	Ala	Arg
1				5					10					15	
Ala	Leu	Glu	Val	Pro	Thr	Asp	Gly	Asn	Ala	Gly	Leu	Leu	Ala	Glu	Pro
			20					25					30		
Gln	Ile	Ala	Met	Phe	Cys	Gly	Arg	Leu	Asn	Met	His	Met	Asn	Val	Gln
		35					40					45			
Asn	Gly	Lys	Trp	Asp	Ser	Asp	Pro	Ser	Gly	Thr	Lys	Thr	Cys	Ile	Asp
	50					55					60				
Thr	Lys	Glu	Gly	Ile	Leu	Gln	Tyr	Cys	Gln	Gln	Val	Tyr	Pro	Glu	Leu
65				70					75					80	
Gln	Ile	Thr	Asn	Val	Val	Glu	Ala	Asn	Gln	Pro	Val	Thr	Ile	Gln	Asn
			85						90				95		
Trp	Cys	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Gln	Cys	Lys	Thr	His	Pro	His	Phe	Val
		100					105					110			
Ile	Pro	Tyr	Arg	Cys	Leu	Val	Gly	Glu	Phe	Val	Ser	Asp	Ala	Leu	Leu
		115					120					125			
Val	Pro	Asp	Lys	Cys	Lys	Phe	Leu	His	Gln	Glu	Arg	Met	Asp	Val	Cys
	130					135					140				
Glu	Thr	His	Leu	His	Trp	His	Thr	Val	Ala	Lys	Glu	Thr	Cys	Ser	Glu
145				150						155				160	
Lys	Ser	Thr	Asn	Leu	His	Asp	Tyr	Gly	Met	Leu	Leu	Pro	Cys	Gly	Ile
			165					170					175		
Asp	Lys	Phe	Arg	Gly	Val	Glu	Phe	Val	Cys	Cys	Pro	Leu	Ala	Glu	Glu
			180					185					190		

Ser Asp Asn Val Asp Ser Ala Asp Ala Glu Glu Asp Asp Ser Asp Val
195 200 205

Trp Trp Gly Gly Ala Asp Thr Asp Tyr Ala Asp Gly Ser Glu Asp Lys
210 215 220

Val Val Glu Val Ala Glu Glu Glu Glu Val Ala Glu Val Glu Glu Glu
225 230 235 240

Glu Ala Asp Asp Asp Glu Asp Asp Glu Asp Gly Asp Glu Val Glu Glu
245 250 255

Glu Ala Glu Glu Pro Tyr Glu Glu Ala Thr Glu Arg Thr Thr Ser Ile
260 265 270

Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Glu Ser Val Glu Glu Val Val Arg
275 280 285

Glu Val Cys Ser Glu Gln Ala Glu Thr Gly Pro Cys Arg Ala Met Ile
290 295 300

Ser Arg Trp Tyr Phe Asp Val Thr Glu Gly Lys Cys Ala Pro Phe Phe
305 310 315 320

Tyr Gly Gly Cys Gly Gly Asn Arg Asn Asn Phe Asp Thr Glu Glu Tyr
325 330 335

Cys Met Ala Val Cys Gly Ser Ala Ile Pro Thr Thr Ala Ala Ser Thr
340 345 350

Pro Asp Ala Val Asp Lys Tyr Leu Glu Thr Pro Gly Asp Glu Asn Glu
355 360 365

His Ala His Phe Gln Lys Ala Lys Glu Arg Leu Glu Ala Lys His Arg
370 375 380

Glu Arg Met Ser Gln Val Met Arg Glu Trp Glu Glu Ala Glu Arg Gln
385 390 395 400

Ala Lys Asn Leu Pro Lys Ala Asp Lys Lys Ala Val Ile Gln His Phe
405 410 415

Gln Glu Lys Val Glu Ser Leu Glu Gln Glu Ala Ala Asn Glu Arg Gln
420 425 430

Gln Leu Val Glu Thr His Met Ala Arg Val Glu Ala Met Leu Asn Asp
435 440 445

Arg Arg Arg Leu Ala Leu Glu Asn Tyr Ile Thr Ala Leu Gln Ala Val

450

455

460

Pro Pro Arg Pro Arg His Val Phe Asn Met Leu Lys Lys Tyr Val Arg

465

470

475

480

Ala Glu Gln Lys Asp Arg Gln His Thr Leu Lys His Phe Glu His Val

485

490

495

Arg Met Val Asp Pro Lys Lys Ala Ala Gln Ile Arg Ser Gln Val Met

500

505

510

Thr His Leu Arg Val Ile Tyr Glu Arg Met Asn Gln Ser Leu Ser Leu

515

520

525

Leu Tyr Asn Val Pro Ala Val Ala Glu Glu Ile Gln Asp Glu Val Asp

530

535

540

Glu Leu Leu Gln Lys Glu Gln Asn Tyr Ser Asp Asp Val Leu Ala Asn

545

550

555

560

Met Ile Ser Glu Pro Arg Ile Ser Tyr Gly Asn Asp Ala Leu Met Pro

565

570

575

Ser Leu Thr Glu Thr Lys Thr Thr Val Glu Leu Leu Pro Val Asn Gly

580

585

590

Glu Phe Ser Leu Asp Asp Leu Gln Pro Trp His Ser Phe Gly Ala Asp

595

600

605

Ser Val Pro Ala Asn Thr Glu Asn Glu Val Glu Pro Val Asp Ala Arg

610

615

620

Pro Ala Ala Asp Arg Gly Leu Thr Thr Arg Pro Gly Ser Gly Leu Thr

625

630

635

640

Asn Ile Lys Thr Glu Glu Ile Ser Glu Val Lys Met Asp Ala Glu Phe

645

650

655

Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys Leu Val Phe Phe

660

665

670

Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met Val

675

680

685

Gly Gly Val Val Ile Ala Thr Val Ile Val Ile Thr Leu Val Met Leu

690 695 700
 Lys Lys Lys Gln Tyr Thr Ser Ile His His Gly Val Val Glu Val Asp
 705 710 715 720
 Ala Ala Val Thr Pro Glu Glu Arg His Leu Ser Lys Met Gln Gln Asn
 725 730 735
 Gly Tyr Glu Asn Pro Thr Tyr Lys Phe Phe Glu Gln Met Gln Asn

 740 745 750
 <210> 3
 <211> 695
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 Met Leu Pro Gly Leu Ala Leu Leu Leu Leu Ala Ala Trp Thr Ala Arg
 1 5 10 15
 Ala Leu Glu Val Pro Thr Asp Gly Asn Ala Gly Leu Leu Ala Glu Pro
 20 25 30
 Gln Ile Ala Met Phe Cys Gly Arg Leu Asn Met His Met Asn Val Gln
 35 40 45
 Asn Gly Lys Trp Asp Ser Asp Pro Ser Gly Thr Lys Thr Cys Ile Asp

 50 55 60
 Thr Lys Glu Gly Ile Leu Gln Tyr Cys Gln Glu Val Tyr Pro Glu Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Thr Asn Val Val Glu Ala Asn Gln Pro Val Thr Ile Gln Asn
 85 90 95
 Trp Cys Lys Arg Gly Arg Lys Gln Cys Lys Thr His Pro His Phe Val
 100 105 110
 Ile Pro Tyr Arg Cys Leu Val Gly Glu Phe Val Ser Asp Ala Leu Leu
 115 120 125

 Val Pro Asp Lys Cys Lys Phe Leu His Gln Glu Arg Met Asp Val Cys
 130 135 140
 Glu Thr His Leu His Trp His Thr Val Ala Lys Glu Thr Cys Ser Glu
 145 150 155 160

Lys Ser Thr Asn Leu His Asp Tyr Gly Met Leu Leu Pro Cys Gly Ile
 165 170 175
 Asp Lys Phe Arg Gly Val Glu Phe Val Cys Cys Pro Leu Ala Glu Glu
 180 185 190
 Ser Asp Asn Val Asp Ser Ala Asp Ala Glu Glu Asp Asp Ser Asp Val
 195 200 205
 Trp Trp Gly Gly Ala Asp Thr Asp Tyr Ala Asp Gly Ser Glu Asp Lys
 210 215 220
 Val Val Glu Val Ala Glu Glu Glu Glu Val Ala Glu Val Glu Glu Glu
 225 230 235 240
 Glu Ala Asp Asp Asp Glu Asp Asp Glu Asp Gly Asp Glu Val Glu Glu
 245 250 255
 Glu Ala Glu Glu Pro Tyr Glu Glu Ala Thr Glu Arg Thr Thr Ser Ile
 260 265 270
 Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Glu Ser Val Glu Glu Val Val Arg
 275 280 285
 Val Pro Thr Thr Ala Ala Ser Thr Pro Asp Ala Val Asp Lys Tyr Leu
 290 295 300
 Glu Thr Pro Gly Asp Glu Asn Glu His Ala His Phe Gln Lys Ala Lys
 305 310 315 320
 Glu Arg Leu Glu Ala Lys His Arg Glu Arg Met Ser Gln Val Met Arg
 325 330 335
 Glu Trp Glu Glu Ala Glu Arg Gln Ala Lys Asn Leu Pro Lys Ala Asp
 340 345 350
 Lys Lys Ala Val Ile Gln His Phe Gln Glu Lys Val Glu Ser Leu Glu
 355 360 365
 Gln Glu Ala Ala Asn Glu Arg Gln Gln Leu Val Glu Thr His Met Ala
 370 375 380
 Arg Val Glu Ala Met Leu Asn Asp Arg Arg Arg Leu Ala Leu Glu Asn
 385 390 395 400
 Tyr Ile Thr Ala Leu Gln Ala Val Pro Pro Arg Pro Arg His Val Phe

405 410 415
 Asn Met Leu Lys Lys Tyr Val Arg Ala Glu Gln Lys Asp Arg Gln His
 420 425 430
 Thr Leu Lys His Phe Glu His Val Arg Met Val Asp Pro Lys Lys Ala
 435 440 445
 Ala Gln Ile Arg Ser Gln Val Met Thr His Leu Arg Val Ile Tyr Glu
 450 455 460
 Arg Met Asn Gln Ser Leu Ser Leu Leu Tyr Asn Val Pro Ala Val Ala
 465 470 475 480
 Glu Glu Ile Gln Asp Glu Val Asp Glu Leu Leu Gln Lys Glu Gln Asn

 485 490 495
 Tyr Ser Asp Asp Val Leu Ala Asn Met Ile Ser Glu Pro Arg Ile Ser
 500 505 510
 Tyr Gly Asn Asp Ala Leu Met Pro Ser Leu Thr Glu Thr Lys Thr Thr
 515 520 525
 Val Glu Leu Leu Pro Val Asn Gly Glu Phe Ser Leu Asp Asp Leu Gln
 530 535 540
 Pro Trp His Ser Phe Gly Ala Asp Ser Val Pro Ala Asn Thr Glu Asn
 545 550 555 560

 Glu Val Glu Pro Val Asp Ala Arg Pro Ala Ala Asp Arg Gly Leu Thr
 565 570 575
 Thr Arg Pro Gly Ser Gly Leu Thr Asn Ile Lys Thr Glu Glu Ile Ser
 580 585 590
 Glu Val Lys Met Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val
 595 600 605
 His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys
 610 615 620
 Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala Thr Val

 625 630 635 640
 Ile Val Ile Thr Leu Val Met Leu Lys Lys Lys Gln Tyr Thr Ser Ile
 645 650 655

His His Gly Val Val Glu Val Asp Ala Ala Val Thr Pro Glu Glu Arg
660 665 670

His Leu Ser Lys Met Gln Gln Asn Gly Tyr Glu Asn Pro Thr Tyr Lys
675 680 685

Phe Phe Glu Gln Met Gln Asn
690 695

<210> 4

<211

> 39

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
1 5 10 15

Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Asn Gly
20 25 30

Leu Met Val Gly Gly Val Val
35

<210> 5

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 5

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
1 5 10 15

Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Asn Gly
20 25 30

Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala
35 40

<210> 6

<211> 42

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Asn Gly
 20 25 30
 Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala Thr
 35 40