(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0014059
(43) 공개일자 2014년02월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *C07K 16/40* (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7003861
(22) 출원일자(국제) 2011년07월15일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2013년02월15일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2011/002350
(87) 국제공개번호 WO 2012/007845
국제공개일자 2012년01월19일
(30) 우선권주장
2010129290 2010년07월15일 러시아(RU)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
엡쉬테인, 올레그 일리치
러시아, 127473, 모스크바, 케이브이. 72, 디.3, 사모테츠트 페르. 4
(72) 발명자
엡쉬테인, 올레그 일리치
러시아, 127473, 모스크바, 케이브이. 72, 디.3, 사모테츠트 페르. 4
(74) 대리인
강명구

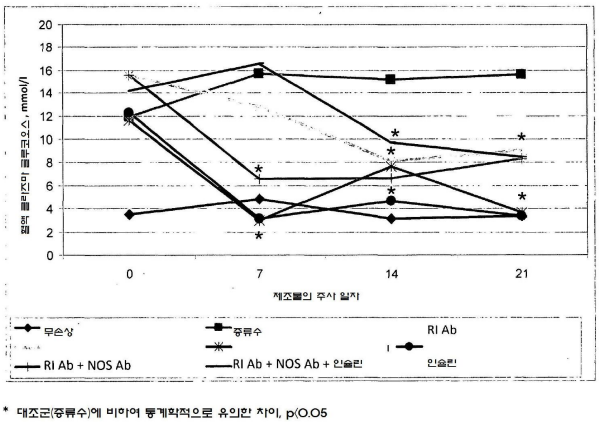
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **활성화되고 강화된 형태의 항체의 효과를 증가시키는 방법**

(57) 요 약

본 발명은 내인성 생물학적 분자를 내피 NO 신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체와 화합시킴으로써 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체의 효과를 증가시키는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 a) 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체, 및 b) NO 신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

대 표 도



* 대조군(중류수)에 비하여 통계학적으로 유의한 차이, p<0.05

(30) 우선권주장

2010129291 2010년07월15일 러시아(RU)
2010129292 2010년07월15일 러시아(RU)
2010129294 2010년07월15일 러시아(RU)
2010129295 2010년07월15일 러시아(RU)
2010129298 2010년07월15일 러시아(RU)
2010130348 2010년07월21일 러시아(RU)
2010130353 2010년07월21일 러시아(RU)
2010130355 2010년07월21일 러시아(RU)
2010130356 2010년07월21일 러시아(RU)
2010130358 2010년07월21일 러시아(RU)
2011110106 2011년03월17일 러시아(RU)
2011127051 2011년07월01일 러시아(RU)
2011127052 2011년07월01일 러시아(RU)
2011127053 2011년07월01일 러시아(RU)
2011127055 2011년07월01일 러시아(RU)
2011127058 2011년07월01일 러시아(RU)
2011127059 2011년07월01일 러시아(RU)

특허청구의 범위

청구항 1

내인성 생물학적 분자를 내피 NO-신타제(endothelial NO-synthase)에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체와 화합함을 포함하여, 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체의 효과를 증가시키는 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 활성화되고 강화된 형태의 항체로 치료하여야 하는 환자에게 화합물을 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체가 S-100 단백질에 대한 항체인 방법.

청구항 4

청구항 2에 있어서, 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체가 전립샘 특이 항원에 대한 항체인 방법.

청구항 5

청구항 2에 있어서, 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체가 인슐린 수용체에 대한 항체인 방법.

청구항 6

청구항 2에 있어서, 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체가 안지오텐신 수용체 II에 대한 항체인 방법.

청구항 7

a) 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체, 및 b) NO 신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 약제학적으로 인정되는 고형 담체를 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 내피 NO-신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체가 고형 담체에 함침된 C12, C30, 및 C200 동종요법 희석액의 혼합물의 형태인 약제학적 조성물.

청구항 10

청구항 7에 있어서, 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체가 모노클로날, 폴리클로날 또는 천연 항체인 약제학적 조성물.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 내인성 생물학적 분자에 대한 항체가 폴리클로날 항체인 약제학적 조성물.

청구항 12

청구항 7에 있어서, 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체가 각각의 모든 희석액의 진탕과 연결된 연속적인 100분의 1 희석액으로 제조되는 약제학적 조성물.

청구항 13

청구항 7에 있어서, 내피 NO-신타제에 대한 항체가 모노클로날, 폴리클로날 또는 천연 항체인 약제학적 조성물.

청구항 14

청구항 8에 있어서, 내피 NO-신타제에 대한 항체가 폴리클로날 항체인 약제학적 조성물.

청구항 15

청구항 9에 있어서, 내피 NO-신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체가 각각의 모든 희석액의 진탕과 연결된 연속적인 100분의 1 희석액으로 제조되는 약제학적 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 활성화되고 강화된 형태의 항체의 효과 및 활성화되고 강화된 형태의 항체의 내인성 생물학적 분자에 대한 효과 및 활성화되고 강화된 형태의 항체를 포함하는 약제학적 제형의 내피 NO-신타제에 대한 효과를 증가시키는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 산화질소(NO)는 상이한 생물학적 과정들의 신호계(signaling)에 작용하는 것으로 밝혀진 가스성 분자이다. 내피-유래 NO는 혈관 긴장도(vascular tone)의 조절에 있어 주요 분자이며 혈관병과 이의 관련성은 오랫동안 인정되어 왔다. NO는 단핵구 부착, 혈소판 응집 및 혈관 평활근 세포 증식을 포함하는, 죽상경화판(atherosclerotic plaque)의 형성에 수반되는 것으로 알려진 많은 과정들을 억제한다. 내피 NO의 다른 중요한 역할은 그 자체의 대사 생성물들 및 지질들과 지단백질들의 산화 생성물들에 의해 유발된 산화성 스트레스로부터 혈관 벽의 보호이다. 내피 기능장애는 죽상경화증의 매우 조기 단계들에서 발생한다. 따라서, 국소 NO 가용성의 결함이 사람들에서 죽상경화증을 가속화시키는 최종적인 일반 경로일 수 있다고 생각할 수 있다. 혈관 내피에서 이의 역할 이외에, NO 가용성은 지단백질들의 대사를 조절하는 것으로 밝혀졌다. 음의 상관관계는 NO 대사 생성물들 및 총 혈장의 혈장 농도들과 저 밀도 지단백질[LDL] 콜레스테롤 수치들 사이에서 보고되었던 반면, 고 밀도 지단백질[HDL]은 고콜레스테롤 피험자들에서 혈관 기능을 개선시킨다. NO의 소실은 질병의 진전에 대하여 상당한 영향을 미친다. 당뇨병은 죽상경화성 질병의 가속화된 진전에 의해 주로 유발된 증가된 이환률 및 사망률들과 연관이 있다. 더욱이, 보고서들은, 당뇨병환자들이, 폐 기능들이 손상되어 있음을 나타낸다. 인슐린 내성은 기도 염증을 초래하는 것으로 보고되었다[참조: Habib et al., Nitric Oxide Measurement From Blood To Lungs, Is There A Link? Pak J Physiol 2007; 3(1)].

[0003] 산화질소는 산화질소 신타제(NO 신타제)에 의해 합성된 L-아르기닌으로부터 내피에 의해 합성된다. NO 신타제는 구성적 형태(cNOS) 및 유도가능 형태(iNOS)를 포함하는, 상이한 이소형들(isoforms)의 형태로 발생한다. 구성적 형태는 일반 내피 세포들, 신경세포들 및 일부 다른 조직들에 존재한다.

[0004] 동종요법 기술(활성화된 강화 형태)에 의해 극도로 희석된 형태(또는 초-저 형태)의 강화된 항체들의 치료학적 효과가 올레그 아이. 엡슈타인(Oleg I. Epshtein) 박사에 의해 발견되었다. 미국 특허 제7,700,096호는 내피 NO-신타제에 대한 동종요법적으로 강화된 형태의 항체들을 공개한다. 내피 NO-신타제에 대한 동종요법적으로 강화된 형태의 항체들은 러시아 연방 및 다른 국가들에서 Impaza®라는 명칭하에 시판되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 활성화되고 강화된 형태의 항체의 효과를 증가시키는 방법이 지속적으로 요구되고 있다.

[0006] 한 측면에 따라서, 본 발명은 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체의 효과를 증가시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 내인성 생물학적 분자를 내피 NO-신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태

의 항체와 화합시키는 것을 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 방법 측면에는 상기 활성화되고 강화된 형태의 항체로 치료하여야 하는 환자에게 상기 화합물을 투여하는 것이 포함된다.

[0007] 하나의 변종에서, 내인성 생물학적 분자에 대한 상기 활성화되고 강화된 형태의 항체는 S-100 단백질에 대한 항체이다. 또 다른 변종에서, 내인성 생물학적 분자에 대한 상기 활성화되고 강화된 형태의 항체는 전립샘 특이 항원에 대한 항체이다. 또 다른 변종에서, 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체는 인슐린 수용체이다. 또 다른 변종에서, 내인성 생물학적 분자에 대한 상기 활성화되고 강화된 형태의 항체는 안지오텐신 수용체 II에 대한 항체이다.

[0008] 또 다른 측면에 따라서, 본 발명은 a) 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체, 및 b) NO 신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 바람직하게는, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 고형 담체를 포함한다. 바람직하게는, 내피 NO 신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체는 고형 담체에 함침된 C12, C30, 및 C200 동종요법 희석액의 혼합물을 함유한다. 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체는 모노클로날, 폴리클로날, 또는 천연 항체일 수 있다. 바람직하게는, 사람 인슐린 수용체에 대한 항체는 폴리클로날 항체이다.

[0009] 약제학적 조성물은 모든 각각의 희석액의 진탕과 연결된 연속적인 100분의 1의 희석액으로 제조된 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체를 포함한다고 생각된다. 또한, 내피 NO-신타제에 대한 항체는 모노클로날, 폴리클로날 또는 천연 항체라고 생각된다. 내피 NO-신타제에 대한 항체가 폴리클로날 항체인 것이 특히 바람직하다. 내피 NO-신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체는 모든 각각의 희석액의 진탕과 연결된 연속적인 100분의 1의 희석액으로 제조된다고 생각된다.

과제의 해결 수단

[0010] 상세한 설명

[0011] 본 발명은 첨부된 특허청구범위를 참조하여 정의된다. 특허청구범위에 관하여, 다음의 용어는 관련 정의들을 제공한다.

[0012] 본원에 사용된 용어 "항체"는 다른 분자에 특이적으로 결합함으로써, 다른 분자와 상보성이고, 특히 공간적이고 극성인 구조로 정의되는 면역글로불린을 의미할 수 있다. 특허청구범위에서 인용된 항체들에는 완전한 면역글로불린 또는 이의 단편을 포함될 수 있으며, 천연의, 폴리클로날 또는 모노클로날 항체일 수 있고, IgA, IgD, IgE, IgG1, IgG2a, IgG2b 및 IgG3, IgM 등과 같은 다양한 부류 및 이소형들이 포함될 수 있다. 이의 단편들에는 Fab, Fv 및 $F(ab')_2$, Fab' 등이 포함될 수 있다. 단수 "항체"에는 다수 "항체들"이 포함된다.

[0013] 본원에 인용된 항체들에 관하여, 용어 "활성화되고 강화된 형태" 또는 "강화된 형태" 각각은 항체들의 어떠한 초기 용액의 동종요법 강화 생성물을 나타낸다. "동종요법 강화"는, 관련 물질의 초기 용액에 동종요법 역가를 부여하는 동종요법의 방법들의 용도를 나타낸다. 비록 그렇게 국한되지 않더라도, "동종요법 강화"는 예를 들면, 외부 처리, 특히 수직(기계적) 진탕으로 화합된 반복된 연속 희석액을 포함할 수 있다. 다시 말해서, 항체의 초기 용액은 연속적으로 반복된 희석이 되어야 하고 동종요법 기술에 따라 수득된 각 용액은 다수의 수직 진탕이 이루어져야 한다. 용매, 바람직하게는 물 또는 물-에틸 알코올 혼합물에서 항체의 초기 용액의 바람직한 농도는, 약 0.5 내지 약 5.0 mg/ml의 범위이다. 각 성분, 즉, 항체 용액을 제조하기 위한 바람직한 처리절차는 100분의 1의 동종요법 희석액(C12, C30, 및 C200)과 동등한, 각각 100^{12}, 100^{30} 및 100^{200}배 희석된 항체들의 일차 매트릭스 용액[모 팅크제(mother tincture)]의 3개의 수성 또는 수성-알코올 희석액의 혼합물의 사용 또는 100분의 1의 동종요법 희석액(C12, C30 및 C50)과 동등한, 각각 100^{12}, 100^{30} 및 100^{50}배 희석된 항체들의 일차 매트릭스 용액의 3개의 수성 또는 수성-알코올 희석액의 혼합물의 사용이다. 동종요법 강화의 예들은 미국 특허 제7,572,441호 및 제7,582,294호에 기술되어 있으며, 이들은, 참고함으로써 그 전문이 기술된 목적을 위해 본원에 포함된다. 용어 "활성화되고 강화된 형태"는 특허청구범위에서 사용되는 한편, 용어 "초-저 용량들"은 실시예에서 사용된다. 용어 "초-저 용량들"은 동종요법적으로 희석되고 강화된 형태의 물질을 연구하고 사용함으로써 창출된 당해 기술 분야의 기술 용어가 되었다. 용어 "초-저 용량" 또는 "초-저 용량들"은 특허청구범위에서 사용된 용어 "활성화되고 강화된" 형태를 충분히 뒷받침하고 그와 일차적으로 같은 뜻이라는 것을 의미한다.

[0014] 달리 말해서, 항체는, 3개 인자들이 존재하는 경우 "활성화되고 강화된" 또는 "강화된" 형태로 존재한다. 첫째, "활성화되고 강화된" 형태의 항체는 동종요법 분야에서 잘 허용되는 제조 과정의 생성물이다. 둘째로, "활성화되고 강화된" 형태의 항체는 현대 약리학에서 잘 인정된 방법들로 측정된 생물학적 활성을 가져야 한다. 그리고

셋째로, "활성화되고 강화된" 형태의 항체가 나타낸 생물학적 활성은 동종요법 프로세스의 최종 생성물에서 분자 형태의 항체의 존재로 설명될 수 없다.

[0015] 예를 들어, 활성화되고 강화된 형태의 항체들은 분자 형태의 초기의 분리된 항체를 기계적 진탕과 같은 외부 충격과 연결된 연속적인 다수의 희석을 시켜 제조할 수 있다. 농도 감소의 과정에서 외부 처리는 또한 예를 들면, 초음파, 전자기, 또는 다른 물리적 요인들에 노출시켜 달성할 수 있다. 그 전문이 참고함으로써 그리고 기술된 목적을 위하여 본원에 포함된 문헌(참조: V. Schwabe "Homeopathic medicines", M., 1967, 미국 특허 제7,229,648호 및 제4,311,897호)은 동종요법 분야에서 잘 인정된 동종요법 강화 방법들인 이러한 과정들을 기술한다. 당해 처리절차는 초기 분자 형태의 항체의 분자 농도의 균일한 감소를 초래한다. 당해 처리절차는, 바람직한 동종요법 역가가 수득될 때까지 반복된다. 개개 항체의 경우, 요구된 동종요법 역가는 바람직한 약리학적 모델에서 중간 희석액을 생물학적 시험을 받게 하여 측정할 수 있다. 비록 그렇게 국한되지 않더라도, "동종요법 강화"는 예를 들면, 외부 처리, 특히 수직적(기계적) 진탕으로 화합된 반복된 연속 희석액을 포함할 수 있다. 달리 말해서, 항체의 초기 용액은 연속으로 반복된 희석아 되어야 하고 동종요법 기술에 따라 수득된 각 용액은 다수의 수직적 진탕이 이루어져야 한다. 용매, 바람직하게는, 물 또는 물-에틸 알코올 혼합물에서 항체의 초기 용액의 바람직한 농도는 약 0.5 내지 약 5.0 mg/ml의 범위이다. 각 성분, 즉, 항체 용액을 제조하기 위한 바람직한 처리절차는 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30 및 C200과 동일한, 각각 100^{12}, 100^{30} 및 100^{200} 배 희석된 항체들의 일차 매트릭스 용액(모 팅크제)의 3개의 수성 또는 수성-알코올 희석액의 혼합물 또는 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30 및 C50과 동등한, 각각 100^{12}, 100^{30} 및 100^{50} 배 희석된 항체들의 일차 매트릭스 용액(모 팅크제)의 3개의 수성 또는 수성-알코올 희석액의 혼합물의 사용이다. 바람직한 역가를 수득하는 방법의 예들이 예를 들면, 미국 특허 제7,229,648호 및 제4,311,897호에 나와 있으며, 이들 특허들은 기술된 목적을 위하여 참고함으로써 본원에 포함된다. 본원에 기술된 "활성화되고 강화된" 형태의 항체들에 적용할 수 있는 처리절차는 하기에 보다 상세히 기술되어 있다.

[0016] 사람 피험자들의 동종요법 치료와 관하여 상당한 논란이 있어왔다. 본 발명은 "활성화되고 강화된" 형태의 항체들을 수득하기 위해 인정된 동종요법 프로세스들에 의존하지만, 본 발명은 활성의 증거를 위해 사람 피험자들에서 동종요법에만 의존하지 않는다. 그것은 본 발명의 발명자에 의해 놀랍게도 발견되었고 출발 분자 형태의 항체의 연속적인 다수의 희석으로부터 궁극적으로 수득된 용매가 표적 희석시 분자 형태의 항체의 미량의 존재와 관련이 없는 명확한 활성을 가지고 있다는 것이 인정된 약리학적 모델들에서 충분히 입증되었다. 본원에 제공된 "활성화되고 강화된" 형태의 항체는 적절한 시험관내(in vitro) 실험들에 의해, 또는 적합한 동물 모델들에서 생체내(in vivo)내에서, 잘 인정된 약리학적 활성 모델들에서 생물학적 활성에 대해 시험된다. 하기에 추가로 제공된 실험들은 이러한 모델들에서 생물학적 활성의 증거를 제공한다. 사람 임상 연구들은 또한, 동물 모델에서 관찰된 활성이 사람 치료요법으로 잘 옮겨진다는 증거를 제공한다. 사람 연구들은 또한 의학에서 병리학적 상태들로서 잘 인정된 명시된 사람 질병들 또는 질환들을 치료하기 위한, 본원에 기술된 "활성화되고 가공된" 형태들의 가용성의 증거를 제공하였다.

[0017] 또한, 특허청구된 "활성화되고 강화된" 형태의 항체에는, 이의 생물학적 활성이 초기의, 출발 용액으로부터 잔류하는 분자 형태의 항체의 존재로 설명될 수 없는 용액들 또는 고체 제제들만이 포함된다. 다시 말해서, "활성화되고 강화된" 형태의 항체가 초기 분자 형태의 항체의 미량을 함유할 수 있지만, 당해 분야의 숙련가는 연속적인 희석들을 하고 난 후 잔류하는 분자 형태의 항체의 극도로 낮은 농도들로 인하여 인정된 약리학적 모델들에서 관찰된 생물학적 활성의 출처를 잔류하는 분자 형태의 항체로 어떤 정도의 타당성이라도 가지고 추정할 수 없었다. 본 발명은 어떠한 특정 이론으로 국한되지 않지만, 본 발명의 "활성화되고 강화된" 형태의 항체들의 생물학적 활성은 항체의 초기 분자 형태에 기인하지 않는다. 분자 형태의 항체의 농도가 모세관 전기영동 및 고성능 액체 크로마토그래피와 같은 인정된 분석 기술들의 검출 한계 이하인 액체 또는 고체 형태의 "활성화되고 강화된" 형태의 항체가 바람직하다. 분자 형태의 항체의 농도가 아보가드로 수(Avogadro number) 이하인 액체 또는 고체 형태의 "활성화되고 강화된" 형태가 특히 바람직하다. 치료학적 물질들의 분자 형태들의 약리학에서, 약리학적 반응의 수치가 피험자에게 투여되거나 시험관내에서 시험된 활성 약물의 농도에 대해 플롯팅(plotting)된 용량-반응 곡선을 작성하는 것은 일반적 관행이다. 어떠한 검출가능한 반응을 생성하는 약물의 최소 수치는 역치 용량(threshold dose)으로 알려져 있다. "활성화되고 강화된" 형태의 항체들이 존재하는 경우, 제공된 생물학적 모델에서 분자 형태의 항체에 대한 역치 용량 미만의 농도에서 분자 항체를 함유하는 것이 특별히 고려되며 바람직하다.

[0018] 본 발명의 당해 측면에 따른 화합 약제학적 조성물은 액체 형태 또는 고체 형태일 수 있다. 약제학적 조성물에

포함된 활성화되고 강화된 형태의 항체들 각각은 동종요법 분야에서 인정된 프로세스를 통해 초기 분자 형태의 항체로부터 제조된다. 출발하는 항체들은 예를 들면, 문헌[참조: Immunotechniques, G. Frimel, M., "Meditsyna", 1987, p. 9-33; "Hum. Antibodies. Monoclonal and recombinant antibodies, 30 years after" by Laffly E., Sodoyer R. - 2005 - Vol. 14. - N 1-2. P.33-55, 이들 문헌 둘 모두는 참고함으로써 본원에 포함된다]에 기술된 바와 같이, 공지된 프로세스들에 따라 제조된 모노클로날, 또는 폴리클로날 항체들일 수 있다.

[0019] 모노클로날 항체들은 예를 들면, 하이브리도마 기술을 이용하여 수득될 수 있다. 당해 프로세스의 초기 단계에는 폴리클로날 항혈청 제조의 과정 중에 이미 개발된 원칙들을 기초로 하는 면역화가 포함된다. 작업의 추가의 단계들에는, 특이성이 동일한 항체들의 하이브리드 세포들을 생성하는 클론들의 생성이 포함한다. 이들의 별도 분리는 폴리클로날 항혈청 제조의 경우에서와 동일한 방법들을 사용하여 수행한다.

[0020] 폴리클로날 항체들은 동물들의 활성 면역화를 통해 수득될 수 있다. 이러한 목적을 위해, 예를 들면, 적합한 동물들(예를 들면, 토끼들)에게 적절한 항원, 예를 들면, NO 신타제의 일련의 주사들을 투여한다. 동물들의 면역계는 상응하는 항체들을 생성하며, 이는 동물들로부터 공지된 방식으로 수집된다. 당해 처리절차에 의하여 모노-특이 항체가 풍부한 혈청의 조제가 가능하도록 한다.

[0021] 바람직한 경우, 항체들을 함유하는 혈청을 예를 들면, 친화성 크로마토그래피, 염 침전에 의한 분획화, 또는 이온-교환 크로마토그래피를 사용하여 정제할 수 있다. 수득되는 정제된, 항체가 풍부한 혈청을 활성화되고 강화된 형태의 항체들의 제조를 위한 출발물질로서 사용할 수 있다. 용매, 바람직하게는 물 또는 물-에틸 알코올 혼합물에서 항체의 수득되는 초기 용액의 바람직한 농도는 약 0.5 내지 약 5.0 mg/ml의 범위이다.

[0022] 본 발명에 따른 화합 약물의 각 성분을 제조하기 위한 바람직한 처리절차는 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30, 및 C50과 동등한, 각각 100^{12}, 100^{30} 및 100^{50} 배 희석되거나 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30 및 C200과 동등한, 각각 100^{12}, 100^{30} 및 100^{200} 배 희석된 항체들의 일차 매트릭스 용액의 3개의 수성-알코올 희석액의 혼합물의 사용이다. 고체 용량 형태를 제조하기 위하여, 고형 담체를 동종요법 프로세스를 통해 수득한 바람직한 희석액으로 처리한다. 본 발명의 고체 단위 용량 형태의 화합물을 수득하기 위하여, 담체 덩어리를 희석액 각각에 함침시킨다. 함침의 순서들 둘 모두 바람직한 화합 용량 형태를 제조하는데 적합하다.

[0023] 바람직한 구현예에서, 본 발명의 화합물을 포함하는 활성화되고 강화된 형태의 제조를 위한 출발 물질은 상응하는 항원, 즉, NO 신타제 및 내인성 생물학적 분자에 대한 폴리클로날, 동물-유래 항체이다. NO 신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 폴리클로날 항체들을 수득하기 위해, 바람직한 항체를 면역원으로서 실험 동물, 바람직하게는 토끼들에게 주사할 수 있다. NO 신타제에 대한 폴리클로날 항체들은 다음 서열의 소(bovine) NO 신타제의 전분자를 사용하여 수득할 수 있다:

[0024] 서열번호: 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
```

[0025]

```
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
```

[0026]

```
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
```

[0027]

```
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
```

[0028]

[0029] NO 신타제에 대한 폴리클로날 항체들은 다음 서열의 인간 NO 신타제의 전체 분자를 사용하여 수득할 수 있다:

[0030] 서열번호: 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
```

[0031] 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

[0032]

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

[0033]

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

[0034]

```
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
```

[0035]

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

[0036]

```
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
```

[0037]

[0038] NO 신타제에 대한 폴리클로날 항체들을 수득하기 위하여, 예를 들면, 다음 서열들로부터 선택된 NO 신타제의 단편도 또한 사용할 수 있다:

[0039] 서열번호: 3

```
Pro Trp Ala Phe
1192        1195
```

[0040]

[0041] 서열번호: 4

```
Gly Ala Val Pro
1189        1192
```

[0042]

[0043] 서열번호: 5

```
                                                          Arg
                                                         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
```

[0044]

[0045] 서열번호: 6

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

[0046]

[0047] 서열번호: 7

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

[0048]

[0049] 서열번호: 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
```

[0050]

[0051] NO 신타제에 대한 출발 폴리클로날 항체들의 제조를 위한 예시적인 과정은 다음과 같이 기술될 수 있다. 혈액 시료채취 전 7일 내지 9일째에, 바람직한 항원의 1회 내지 3회 정맥내 주사들을 토끼들에게 투여하여 토끼 혈액 흐름에서 폴리클로날 항체들의 수치를 증가시킨다. 면역화시, 혈액 시료들을 취하여 항체 수치를 시험한다. 통상적으로, 가용성 항원의 면역 반응의 최대 수치는 항원의 1차 주사 후 40일 내지 60일 내에 달성된다. 1차 면역화 주기의 완료시, 토끼들은 30일의 회복 기간을 가진 후, 재-면역화를 또 다른 1회 내지 3회 정맥내 주사들을 투여하여 수행한다.

[0052] 바람직한 항체들을 함유하는 항혈청을 수득하기 위하여, 면역화된 토끼의 혈액을 토끼들로부터 수집하여 50ml 원심분리관내에 둔다. 관 측면들에 형성된 생성물 응괴(clot)들을 나무 주걱(wooden spatula)으로 제거하고 막대를 관 중심내 응괴 내에 둔다. 이후에, 혈액을 냉장실에 하룻밤 동안 약 40℃의 온도에 둔다. 다음날, 주걱에 있는 응괴를 제거하고, 잔류하는 액체를 10분 동안 분당 13,000회 회전으로 원심분리한다. 상층액 유액이 표적 항혈청이다. 수득된 항혈청은 통상적으로 황색이다. 20%의 NaN_3(중량 농도)를 항혈청에 0.02%의 최종 농도로 가하고 사용 전에 -20℃의 온도에서 동결된 상태로 또는 -70℃의 온도에서 NaN_3의 부재하에 저장한다. 항혈청에서 감마 인터페론에 대한 표적 항체들을 분리하기 위하여, 다음의 고체상 흡착 서열이 적합하다:

[0053] 토끼들의 10 ml의 항혈청을 0. 5 M의 NaCl로 2배 희석한 후, 6.26g의 Na_2SO_4를 가하고, 혼합하며 12시간 내지 16시간 동안 4℃에서 저장한다. 침강물을 원심분리로 제거하고, 10ml의 인산염 완충액에 희석하고 동일한 완충액에 대해 하룻밤 동안 주위 온도에서 투석한다. 침강물을 제거한 후, 용액을 인산염 완충액으로 균형을 맞춘 DEAE-셀룰로오스 칼럼에 바른다. 항체 분획은 280 nm에서 용출물의 광학 밀도를 측정함으로써 측정한다.

[0054] 분리된 조(crude) 항체들은 크로마토그래피 매질의 불용성 매트릭스 위에 위치한 NO 신타제에 대해 수득된 항체들에 부착시키고 농축된 염 수용액으로 후속적으로 용출하는 친화성 크로마토그래피를 사용하여 정제한다.

[0055] 수득되는 완충액 용액을 활성화되고 강화된 형태의 항체들을 제조하기 위해 사용된 동종요법 희석 프로세스용 초기 용액으로서 사용한다. NO 신타제에 대한 항원-정제된 폴리클로날 토끼 항체들의 초기 매트릭스 용액의 바람직한 농도는 0.5 내지 5.0 mg/ml, 바람직하게는, 2.0 내지 3.0 mg/ml이다.

[0056] 내인성 생물학적 분자에 대한 폴리클로날 항체들은 또한 부형제를 사용하여 내피 NO 신타제 항체들에 대해 기술된 방법과 유사한 방법으로 수득할 수 있다.

[0057] 수득되는 완충액 용액을 활성화되고 강화된 형태의 항체들을 제조하기 위해 사용된 동종요법 희석 프로세스용 초기 용액으로서 사용한다.

[0058] 활성화되고 강화된 형태의 화합물 각 성분은 동종요법 강화에 의해, 바람직하게는, 약 0.5 내지 약 5.0 mg/ml

범위의, 용매, 바람직하게는, 물 또는 물-에틸 알코올 혼합물에서 항체의 초기 용액의 농도로 출발하여 중성 용매의 9 부분들(10분의 1 희석의 경우), 또는 99 부분들(100분의 1 희석의 경우), 또는 999 부분들(1,000분의 1 희석의 경우) 중 각각의 이전의 용액(초기 용액으로 시작하여)의 1 부분의 연속 희석에 의해, 외부 충격과 연결시켜, 바람직하게는 비례적인 농도 감소 방법을 사용하여 초기 용액으로부터 제조할 수 있다. 바람직하게는, 외부 충격은 각각의 희석액의 다수의 수직 진탕(활성화)을 포함한다. 바람직하게는, 별도의 용기들을 각각의 후속 희석을 위해 요구된 역가 수치, 또는 희석 인자까지 사용한다. 당해 방법은 동종요법 분야에서 잘 인정된다(참조: 예를 들면, 기술된 목적을 위해 본원에서 참고문헌으로 편입된, V. Schwabe "Homeopathic medicines", M., 1967, p. 14-29).

[0059] 예를 들면, 12-100분의 1 희석액(C12로 나타냄)을 제조하기 위하여, 농도가 3.0mg/ml인 NO 신타제에 대한 항체들의 초기 매트릭스 용액의 1 부분을 중성의 수성 또는 수성-알코올 용매(바람직하게는, 15%-에틸 알코올) 99 부분들에 희석한 후 다수 회(10회 이상) 수직으로 진탕하여 제1의 100분의 1의 희석액(C1으로 나타냄)을 생성시킨다. 제2의 100분의 1 희석액(C2)은 제1의 100분의 1 희석액 C1으로부터 제조한다. 당해 처리절차를 11회 반복하여 제12의 100분의 1 희석액 C12를 제조한다. 따라서, 제12의 100분의 1 희석액 C12는 상이한 용기들에서 중성 용매의 99 부분들 중 농도가 3.0 mg/ml인 항체들의 초기 매트릭스 용액의 1 부분의 12회 연속 희석액에 의해 수득된 용액을 나타내며, 이는 100분의 1의 동종요법 희석액 C12와 동등하다. 관련 희석 인자를 사용한 유사한 처리절차들을 수행하여 바람직한 희석액을 수득한다. 중간 희석액은 활성을 점검하기 위해 바람직한 생물학적 모델에서 시험할 수 있다. 본 발명의 화합물을 포함하는 항체들에 대한 바람직한 활성화되고 강화된 형태들은 각각의 활성화되고 강화된 형태에 대한 C12, C30 및 C200 희석액이다. 생물학적으로 활성인 액체 성분으로서 활성 물질의 다양한 동종요법 희석액(주로 100분의 1)의 혼합물을 사용하는 경우, 조성물의 각각의 성분(예를 들면, C12, C30, C50, C200)은, 끝에서 두 번째 희석액(next-to-last dilution)이 수득될 때까지(예를 들면, 각각 C11, C29, 및 C199까지) 상기 처리절차에 따라 별도로 제조한 후, 각각의 성분의 1 부분을 혼합물 조성에 따라 하나의 용기에 가하고 필요한 양의 용매(예를 들면, 100분의 1 희석액에 대해 97 부분들을 사용)와 혼합한다.

[0060] 활성 물질을 각종 동종요법 희석액, 예를 들면, 10분의 1 및/또는 100분의 1(D20, C30, C100 또는 C12, C30, C50 또는 C12, C30, C200 등)의 혼합물로서 사용하는 것이 가능하며, 이의 역가는 희석액을 적합한 생물학적 모델, 예를 들면, 본원의 실시예에서 기술된 모델들에서 시험하여 실험적으로 측정한다.

[0061] 강화 및 농도 감소의 과정에서, 초음파, 전자기장 또는 동종요법 분야에서 인정된 어떠한 유사한 외부 충격 과정을 수직 진탕으로 대체할 수 있다.

[0062] 본 발명의 고체 단위 용량 형태의 약제학적 조성물은 고체, 약제학적으로 인정된 담체를, 주로 1:1의 비로 혼합되고 액체 용량 형태로 사용된 활성 성분들의 활성화되고 강화된 형태의 수성 또는 수성-알코올 용액들의 혼합물에 함침시킴으로써 제조할 수 있다. 대안적으로, 담체는 각각의 필수적인 희석액에 연속적으로 함침시킬 수 있다.

[0063] 바람직하게는, 고체 단위 용량 형태의 약제학적 조성물은 활성화되고 강화된 형태의 항체들의 수성 또는 수성-알코올 희석액으로 이미 포화시킨 약제학적으로 인정된 담체의 과립으로부터 제조된다. 고체 용량 형태는 정제, 캅셀제, 로젠지제(lozenge), 및 기타들을 포함하는, 약제학적 분야에서 공지된 어떠한 형태일 수 있다. 불활성 약제학적 성분들로서, 당, 슈크로즈, 말토즈, 아밀룸, 이소말토즈, 이소말트(isomalt) 및 약제들을 제조하는데 사용된 다른 모노-, 올리고- 및 폴리사카라이드, 및 또한 상기 불활성의 약제학적 성분들과 윤활제, 붕해제, 결합제 및 착색제를 포함하는, 다른 약제학적으로 수용할 수 있는 부형제들, 예를 들면, 이소말트, 크로스포비돈, 나트륨 사이클라메이트, 나트륨 사카린, 무수 시트르산 등의 기술적 혼합물들을 사용할 수 있다. 바람직한 담체들은 락토오스 및 이소말트이다. 약제학적 용량 형태에는 표준 약제학적 부형제들, 예를 들면, 미세결정성 셀룰로오스, 스테아르산마그네슘 및 시트르산이 추가로 포함될 수 있다.

[0064] 고체 단위 용량 형테의 제제의 예는 하기에 명시되어 있다. 고체 경구 형태를 제조하기 위하여, 100 내지 300㎛ 과립의 락토오스를, 1 kg의 항체 용액 대 5 또는 10 kg의 락토오스의 비율(1:5 내지 1:10)로, 히스타민에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들, NO 신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 그리고 내인성 생물학적 분자에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들의 수성 또는 수성-알코올 용액들에 함침시킨다. 함침을 수행하기 위하여, 락토오스 과립들을 비등하는 층 플랜트(예를 들면, "Huttlin Pilotlab", 제조원: Hiittlin GmbH) 내 유동화된 비등층에서 포화 관류(saturation irrigation)에 노출시키고 후속적으로 40℃ 미만의 온도에서 가열된 공기 유동을 통한 후속 건조에 노출시킨다. 활성화되고 강화된 형태의 항체들로 포화되고 건조된 과립들의 추정

된 양(10 내지 34 중량부분들)을 혼합기 속에 두고, 25 내지 45 중량부분들의 "포화되지 않은" 순수한 락토오스(비용 감소 및 단순화 및 처리 역가를 감소시키지 않으면서 기술 과정의 가속화의 목적을 위해 사용됨)와, 0.1 내지 1 중량부분의 스테아르산마그네슘, 및 3 내지 10 중량부분의 미세결정성 셀룰로오스와 함께 혼합한다. 수득된 정제 덩어리를 균일하게 혼합하고, 직접적인 건조 프레싱(예를 들면, Korsch - XL 400 타정기)으로 타정하여 150 내지 500 mg의 환형 알약들(pills), 바람직하게는, 300 mg을 형성시킨다. 타정 후, 활성화되고 강화된 형태의 항체들의 화합물의 수성-알코올 용액(3.0 내지 6.0 mg/알약)으로 포화된 300mg의 알약들을 수득한다. 담체를 함침시키는데 사용된 화합물의 각각의 성분은 100분의 1의 동종요법 희석액, 바람직하게는, C12, C30 및 C200의 혼합물의 형태이다.

[0065] 본 발명이 어떠한 특정한 이론에 국한되는 것은 아니지만, 본원에 기술된 활성화되고 강화된 형태의 항체들은 이러한 분자 형태에 기인하는 생물학적 활성을 가지기에 충분한 양의 분자 형태의 항체를 함유하지 않는다고 생각된다. 본 발명의 화합 약물(화합물, 약제학적 조성물)의 생물학적 활성은 첨부된 실시예에서 충분히 입증된다.

[0066] 바람직하게는, 치료 목적을 위해, 본 발명의 화합물은 1일에 1회 내지 1일에 4회, 바람직하게는 1일에 2회 투여되며, 각각의 투여는 1개 또는 2개의 화합물 단위 용량 형태들을 포함한다.

[0067] 본 발명은 첨부된 비-제한적인 실시예를 참고하여 추가로 예시된다.

도면의 간단한 설명

[0068] 도면에 관한 설명

도 1은 스트렙토조토신-유발 당뇨병이 있는 쥐들의 혈장 당 수치에 대하여 시험한 제제들의 효과를 예시한다.

도 2는 스트렙토조토신-유발 당뇨병이 있는 쥐들에서 당 내성 시험에서 농도-시간 곡선 아래 영역(AUC)의 지표들에 대하여 주사 14일째에 시험한 제제들의 효과를 예시한다.

도 3은 자발적인 비-인슐린-의존성 당뇨병이 있는 쥐들의 혈장 당 수치에 대하여 시험한 제제들의 효과를 예시한다.

도 4는 자발적인 비-인슐린-의존성 당뇨병이 있는 쥐들에서 당 내성 시험시 농도-시간 곡선 아래 영역의 지표들에 대하여 주사 28일째에 시험한 제제들의 효과를 예시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0069] 실시예

[0070] 실시예 1

[0071] 사람 재조합 σ1 수용체에 대한 표준 리간드 [^{3}H]펜타조신의 결합에 대한 복합 제제 및 그 성분의 효과에 대한 연구를 방사선-리간드 방법을 사용하여 평가하였으며, 이 복합 제제는 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물(비: 1:1)(초저용량(ULD)의 항-S100+항-eNOS))과 동등한, 초기 매트릭스 용액(농도: 2.5 mg/ml)을 시험관내에서 초-희석(100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배)시켜 수득한, 뇌-특이 단백질 S-100에 대한 폴리클로날 친화성 정제된 토끼 항체들(항-S100) 및 내피 NO-신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 폴리클로날 친화성 정제된 토끼 항체들(항-eNOS)의 초저용량(ULD)들을 함유하며, 아울러 이 복합 제제의 성분은 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물과 동등한, 초기 매트릭스 용액을 초-희석(100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배)시켜 수득한, 항원상에서 정제된, 초저용량의 뇌-특이 단백질 S-100에 대한 활성화되고 강화된 형태의 폴리클로날 친화성 정제된 토끼 항체들(항-S100) 및 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물과 동등한, 초기 매트릭스 용액을 초-희석(100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배)시켜 수득한, 초저용량의 내피 NO-신타제에 대하여 활성화되고 강화된 형태의 폴리클로날 토끼 항체들(항-eNOS의 ULD)이다. 강화된 증류수(동종요법 희석액의 혼합물 C12+C30+C200)를 시험 제제들 대조군으로 사용하였다.

[0072] 시그마-1(σ1) 수용체 - 중추 신경계의 세포들에 소재하는 세포내 수용체, 말초 조직들 및 면역 성분 세포들 대부분의 세포들. 수용체들은 많은 정신작용 약물들 투약에 의해 유발되는 고유의 전위 능력을 나타낸다. 시그마-1 수용체들의 역학은 시그마-1 수용체들에 대해 작용하는 제제들이 수행하는 다양한 영향들과 직접적으로 연결되어 있다. 이들 효과들에는 활성 채널들의 조절, 에코사이토시스(ecocytosis), 신호 전달, 혈장막의 리모델링

(래프트들(rafts)의 형성) 및 지질 수송/대사가 포함된다. 이들 모두는 뇌에서 신경들의 가소성에 기여할 수 있다. 시그마-1 수용체들이 모든 주요 신경매개인자 시스템들: 노르아드레날린성, 세로토닌성, 도파민성, 콜린성 시스템들에서 조절 효과 및 NMDA - 조절가능한 글루타메이트 효과들을 가진다는 증거가 존재한다. 시그마-1 수용체는 신경변성 질병들[예를 들면, 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 파킨슨병(Parkinson)], 정신질환 및 정동 장애들 및 발작의 병태생리학에 있어 중요한 역할을 담당하며; 이는 또한 학습 및 기억 과정들에서 일부분을 차지한다. 이와 관련하여, 리간드들과 시그마-1 수용체의 상호작용의 역가에 영향을 미치는 약물들의 능력은 이들 약물들을 특히 뇌혈관 질병들의 치료를 위한 효과적인 제제들로서 고려하도록 하는 이의 약리학적 활성의 스펙트럼에 있어서 신경보호제, 항-허혈제, 항불안제, 항우울제 및 항아스테닉 성분들(antiastenic components)의 존재를 나타낸다.

[0073] 시험(총 결합을 측정하기 위한) 동안 항-S100 + 항-eNOS의 ULD의 복합체 제제 20㎕ 또는 S100에 대한 AB의 ULD 10㎕ 또는 NOS에 대한 AB의 ULD 10㎕를 배양 배지로 옮겼다. 따라서, 복합 제제를 시험하는 동안 시험 용기(test basin)로 옮긴 항-S100 + 항-eNOS의 ULD의 양은 제제의 역가를 이의 별도의 성분들과 비교할 수 있게 하는, 단독 제제들로서 시험한 S100에 대한 AB의 ULD 및 NOS에 대한 AB의 ULD의 양과 동일하였다. 20㎕ 및 10㎕의 강화수를 배양 배지로 옮겼다.

[0074] 추가로, 160㎕(약 200㎍의 단백질)의 저켓 세포주(Jurkat cell line) 막들의 균질물(사람 백혈병 T-림프구 세포주), 및 최종적으로, 20㎕의 트리튬-표지된 방사선-리간드[^{3}H]펜타조신(15 nm)을 옮겼다.

[0075] 비-특이 결합을 측정하기 위하여, 20㎕의 표지되지 않은 리간드-할로페리돌(10㎛M)을 제제들 또는 강화수 대신에 배양 배지로 옮겼다.

[0076] 50 mM의 트리스-HCl 완충액(pH = 7,4)에서 22℃에서 120분 이내 배양하고 섬유유리 여과기(GF/B, Packard)를 사용하여 여과를 한 후 신틸레이션미터(scintillometer)(Topcount, Packard) 및 신틸레이션 블렌드(Microscint 0, Packard)를 사용하여 방사능을 측정하였다. 특이 결합(시험 또는 대조군 시험 동안)을 총 결합(시험 또는 대조군 시험 동안)과 비-특이 결합 사이의 차이로서 계산하였다.

[0077] 결과들을 대조군(증류수를 대조군으로 사용하였다)에서 특이 결합 억제의 퍼센트로 나타낸다(표 1).

표 1

[0078]

시험군	시험 용기당 수량	대조군에서 방사선 리간드 특이 결합의 %			대조군에서 방사선 리간드 결합 억제의 %
		1번째 시험	2번째 시험	평균	
ULD의 항-S100+항-eNOS	20 ㎕	48,4	35,5	42,0	58,0
ULD의 항-S100	10 ㎕	67,3	63,1	65,2	34,8
ULD의 항-eNOS	10 ㎕	147,5	161,1	154,3	-54,3
강화수	20 ㎕	98,1	75,8	86,9	13,1
강화수	10 ㎕	140,1	106,2	123,2	-23,2

[0079] 사람 재조합 σ1 수용체에 대한 표준 리간드 [^{3}H]펜타조신의 결합에 대한 강화수 및 제제들의 효과

[0080] 주: 대조군에서 특이 결합 % = (시험 동안의 특이 결합/대조군에서의 특이 결합) * 100%;

[0081] 대조군에서 특이 결합 억제의 % = 100% - (시험 동안의 특이 결합/대조군에서의 특이 결합) * 100%).

[0082] 50% 초과의 억제를 반영하는 결과들은 시험된 화합물들의 유의한 효과들을 나타내고; 25% 내지 50%의 억제는 경도 내지 중등도의 효과들을 입증하며; 25% 미만의 억제는 시험한 화합물의 유의하지 않은 효과인 것으로 간주되며 배경 수치 내에 있다.

[0083] 따라서, 당해 시험 모델의 상태들은, 항-S100 + 항-eNOS의 ULD의 복합 제제가 사람 재조합 σ1 수용체에 대한 표준 방사선-리간드 [^{3}H]펜다조신의 결합을 억제하는데 있어서 그의 별도 성분들(항-S100의 ULD 및 항-eNOS의 ULD)보다 더 효과적임을 나타내었으며; 시험 용기 내로 옮긴 항-S100의 ULD, 즉 10㎕는 사람 재조합 σ1 수용체에 대한 표준 방사선-리간드 [^{3}H]펜타조신의 결합을 억제하지만, 효과 강도는 항-S100 + 항-eNOS의 ULD의 복합 제제의 효과 강도보다 열등하고; 시험 용기로 옮긴 항-eNOS의 ULD, 즉 10㎕는 사람 재조합 σ1 수용체에 대한 표준 방사선-리간드 [^{3}H]펜타조신의 결합에 대하여 효과가 없었고; 시험 용기 내로 옮긴 강화수, 즉 10㎕ 또는 20㎕는 사람 재조합 σ1 수용체에 대한 표준 방사선-리간드[^{3}H]펜타조신의 결합에 대하여 효과가 없었다.

[0084] 실시예 2.

[0085] 알츠하이머병(AD)은 인지 기능들의 저하, 기억력 감퇴, 의식 혼란, 및 감정 변화들을 특징으로 하는 신경변성병이다. 비록 당해 병리학의 주요 원인이 지금까지 뇌 조직들에서 베타-아밀로이드 플라크들 및 신경원섬유매듭들을 형성하는 베타 아밀로이드의 축적으로 간주되고 있더라도; AD는 또한 콜린 시스템의 결함을 동반한다. 이것이 스코폴라민의 콜린 시스템의 길항제의 도움을 받아 동물들에서 AD의 모델링을 시행하는 가장 일반적인 방법의 근거이다. 스코폴라민을 실험 동물들(일반적으로 쥐들 또는 마우스들)에게 주사하면 학습 능력을 차단하고 기억력 감퇴를 초래한다.

[0086] 수중 미로 시험(Morris water maze)을 포함하는 각종 방법들을 사용하여 쥐들 및 마우스들의 인지 기능들을 평가하였다. 당해 시험의 핵심은, 동물들을 상이한 지점들로부터 혼탁한 물이 담긴 용기 내로 방출시켜 숨겨진 고정 플랫폼을 찾게 하는 것이다. 당해 방법의 장점은, 연구자가 동물 훈련(동물이 물속에 있던 경우에도 플랫폼의 공간 정렬에 대한 생각의 형성)의 과정을 모니터링할 수 있게 함으로써 기억 강도를 평가한다는 것이다(이를 위해 플랫폼이 제거된 때 시험을 수행한다).

[0087] 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30, C200[항-S100 + 항-eNOS의 초 저 용량(ULD)]과 동등한, 저장 보존 용액(2.5mg/ml의 농도)을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배 초-희석시켜 수득된, ULD의 토끼 뇌-특이 단백질들 S-100(항-S100)의 항원 및 내피 NO-신타제들(항-eNOS)에 대해 정제된 활성화되고 강화된 형태들의 폴리클로날 친화성을 함유하는 본 발명의 화합 약제학적 조성물의 효과를 스코폴라민 건망증이 있는 쥐들에서 연구한다.

[0088] 스코폴라민 건망증이 있는 쥐들(알츠하이머병의 모델)에서 약물 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 효과에 대한 연구에서, Rj의 수컷 쥐들: 위스타(Wistar)(Han) 주(체중: 180 내지 280g) 48마리를 사용하였다. 4일 동안 쥐들에게 정상 염수(n = 12, 무손상) 또는 스코폴라민을 0.5 mg/kg(n = 36)(스코폴라민-유도된 건망증)의 용량으로 피하 주사하였다. 스코폴라민-유발 건망증이 있는 쥐들을 3개 군들로 나누어 증류수(7.5 ml/kg, n = 12, 대조군 제1군), 또는 ULD 항-S100(7.5 ml/kg, n = 12, 제2군) 또는 ULD 항-S100 + 항-eNOS(7.5 ml/kg, n = 12, 제3군)를 위장 내로 9일(스코폴라민의 주사 전 4일, 스코폴라민의 배경에 대해 4일 및 최종 스코폴라민 주사 후 1일) 동안 투여하였다.

[0089] 모리스 수중 미로 시험에서 트레이닝 세션은 시험한 약물들의 투여 후 60분 및 스코폴라민의 투여 후 30분을 통해 스코폴라민 주사 4일내에 수행하였다(60초의 간격으로 4회 연속 시험들). 모리스 미로는 물(26 내지 28℃)로 30cm 높이 채워진 환형 저장기(직경 - 150 cm, 높이 - 45 cm)이다. 용기의 가장자리로부터 18cm에 물 수치의 1.5cm 미만에 묻힌 숨겨진 플랫폼(직경 - 15 cm)이 존재한다. 무독성 염료(예를 들면, 우유 분말)을 가하여 제조한 혼탁한 물로 플랫폼을 보이지 않게 한다. 각각의 시험을 위해, 동물을 숨겨진 플랫폼으로부터 동일한 거리에 있는 초기 지점들의 한쪽에서 미로 내에 두고 동물이 플랫폼을 찾도록 하였다. 동물이 120초내에 플랫폼을 발견할 수 없었던 경우, 동물을 플랫폼 위에서 꺼내어 60초 동안 두고 시험을 재시작하였다. 무작위적인 순서의 4회 시험을 실시하는 동안 동물들은 각각의 출발 지점으로부터 미로를 통해 2회 걷기 시작하였다. 시험들을 비디오-테이프에 기록한 후 각각의 시도 및 플랫폼을 조사하는 잠복 기간(latent period)내에 플랫폼 조사를 극복하는 거리에 대해 분석하였다. 5일째에 시험을 수행하였다: 플랫폼을 미로로부터 제거하고 쥐들에게 60초 동안

자유 부유하도록 하였다. 사용된 플랫폼이 존재하는 위치에서 소비한 시간을 기록하였다.

[0090] 스코폴라민의 투여는 동물들의 학습 능력을 유의적으로 악화시켰다. 대조군에서 플랫폼들을 찾는 동물들이 소비한 시간 및 플랫폼을 찾기 위해 동물들이 수영한 거리는 유의적으로 증가하였다(표 2, 3). 시험은, 대조군에서 동물들의 기억력이 악화되었으며: 당해 군에서 동물들이 무손상 동물들보다 사용된 플랫폼이 위치하는 장소에서 시간을 거의 소비하지 않았음을 나타낸다(표 4). ULD의 항-S100의 투여는 연구된 매개변수들의 개선을 초래하지 않았다(표 2, 3, 4). ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 투여는 플랫폼 조사 시간의 잠복 시간(표 2) 및 트레이닝 4일 내 포함된 거리(표 3)의 단축을 가져오는 학습에 있어서의 일부 개선, 및 사용된 플랫폼이 위치하는 장소에서 소비한 시간의 증가로 반영된 것으로서 기억의 개선(표 4)을 초래하는 학습에서 일부 개선을 가져왔다.

표 2

플랫폼 조사의 잠복 기간, 초

군	트레이닝			
	1 일째	2 일째	3 일째	4 일째
무손상, n=12	54.7±6.2	30.8±2.8	26.9±5.1	20.5±3.6
대조군, n=12	100.1±6.8***	92.4±9.3***	81.4±10.7***	77.7±9.4***
ULD 항 -S100, n=12	106.8±7.0	99.3±7.8	95.6±9.0	80.4±11.1
ULD 항 -S100 + 항 - eNOS, n=12	94.4±7.2	90.7±8.2	78.3±8.6	60.1±10.2

*** - 무손상 군과의 차이는 유의적이다, p<0.05

[0091]

표 3

플랫폼을 찾기 위해 극복한 거리, cm

군	트레이닝			
	1 일째	2 일째	3 일째	4 일째
무손상, n=12	1055.7±94.6	659.5±62.2	564.8±119.3	406.1±61.2
대조군, N=12	2587.1±217.2***	2559.6±250.5***	2397.9±312.6	2366.1±293.8***
ULD 항 - S100, n=12	2797.2±208.9	2865.2±255.1	2857.0±300.8	2457.4±344.4
ULD 항 -S100 + 항 -eNOS, n=12	2434.3±222.8	2529.9±282.7	2344.2±283.0	1905.1±343.7

*** - 무손상 군과의 차이는 유의적이다, p<0.05

[0092]

표 4

사용된 플랫폼이 위치한 장소에서 소비한 시간, 초

군	시험		
	0-30 sec.	30-60 sec.	0-60 sec.
무손상, n=12	40.8±4.1	36.8±3.6	38.5±2.6
대조군, n=12	18.4±2.8***	18.8±1.9***	18.8±1.7***
ULD 항 -S100, n=12	13.3±2.1	21.5±2.6	17.6±1.3
ULD 항 -S100 + 항 -eNOS, n=12	19.1±4.8	23.8±2.2	21.2±2.5

*** - 무손상 군과의 차이는 유의적이다, p<0.05

[0093]

[0094] 따라서, 알츠하이머 병의 모델에서, ULD의 복합 항-S100 + 항-eNOS의 투여는 ULD의 항-S100 및 매개체의 투여와 비교하여 보다 효과적이었다.

[0095] 실시예 3

[0096] 전임상 조사를 통하여 쥐들에서 이마엽 뇌피층 광혈전증(prefrontal cerebrocortical photothrombosis)에 의해 유발된 허혈성 뇌졸중을 치료하는데 있어서 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물(비: 1:1)(ULD 항-S100+항-eNOS) 과 동등한 초기 매트릭스 용액(농도: 2.5mg/ml)을 초-희석(100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배)하여 수득된, 항원상에서 정제된, 뇌-특이 단백질 S-100(항-S100), 및 내피 NO-신타제(항-eNOS)에 대한 활성화되고 강화된 형태의 폴리클로날 친화성 정제된 토끼 항체들의 초저용량(ULD)들을 연구하였다.

[0097] 급성 뇌혈관병(뇌졸중)은 개발도상국들에서 치명적인 원인들 중 3번째 및 사람들에서 장애의 주요 원인들 중 하나로 자리 잡았다(참조: Gusev E.I., 2003; Janardhan V., Qureshi A.I., 2004).

[0098] 광-유발 혈전증 모델은 초점 뇌성 허혈(focal cerebral ischemia)의 실험 모델에 대한 거의 모든 요건들을 충족시킨다. 왓슨(Watson)이 개발한 방법(참조: Watson B. et ai, 1985)은 혈류 내로 도입된 감광성 색소 월계화(Bengal rose)에 대한 560nm의 파장을 지닌 광의 효과를 기초로 한다. 활성 산소 형태들이 생성되어 내피 세포들 및 혈소판들의 점착성의 증가 및 혈관을 폐쇄시키는 응괴의 형성을 유발한다. 광-유발 혈전증을 사용하여 허혈성 뇌 병변을 유발하는 방법은 기술적으로 단순하며 허혈성 뇌 뇌졸중의 임상 형태들과 밀접하다. 당해 모델의 큰 장점은 비-침습성이라는 것, 즉, 개두술이 필요하지 않으므로, 뇌 혈전증의 임상 사진을 보다 정밀하게 재현한다는 것이다.

[0099] 37마리의 위스타 쥐들(체중: 150-180 g; 연령: 2-3 개월)을 전두엽 대뇌피질 광혈전증(prefrontal cerebrocortical photothrombosis)에 의해 유발된 허혈성 뇌졸중이 있는 쥐들에 대한 ULD의 항-S100+항-eNOS의 활성 연구에 포함시켰다. 쥐들에서 전두엽 대뇌 피질내 양측성 초점 허혈성 손상(bilateral focal ischemic injury)을 아이. 브이. 빅토로브(I.V. Viktorov)(참조: Romanova G.A. et al, 1998)에 의해 변형된 것으로서 왓슨의 광화학적 혈전증 방법(참조: Watson B. D. et ai, 1985)을 사용하여 유발시켰다. 월계화(3% 용액)를 마취된 쥐들(n=37)의 경정맥내에 주사하였다(마취: 클로랄 하이드레이트 300 mg/kg, 복강내). 섬유 광다발(직경 3 cm)을 사용하여 할로겐 램프(24 V, 250 W)로부터 광 빔을 좌측 및 우측 대뇌 반구의 전두엽 피질 위의 두개골 표면에 전달하여 광혈전증을 유도하였다. 겉보기 수술된 쥐들(sham-operated rats)(n=6)을 월계화의 투여 및 할로겐 램프 광에 대한 노출을 제외하고는 동일한 처리절차를 거치게 하였다. 무손상군에는 6마리의 쥐들이 포함되었다.

[0100] 뇌졸중 유발 5일 전 및 9일 후 다음 제제들을 광혈전증이 있는 쥐들에 투여하였다: 증류수(대조군-광혈전증, 5 ml/kg으로 매일, n=12), ULD의 항-S100 (5 ml/kg으로 매일, n=7) 또는 ULD의 항-S 00+항-eNOS (5 ml/kg으로 매일, n=6). 수술(또는 겉보기 수술) 후 8일째에 조건화된 수동적 회피 반응(passive avoidance reflex)(CPAR)

시험을 수행하여 쥐들에서 학습능력 및 기억력을 평가하였다. 쥐들은 조명된 부위 및 연결된 암실로 이루어진 장치 속에 두었으며, 여기서 동물들을 0.45 mA의 전기적 발-쇼크에 노출시켜 이로 인해 일반적으로 바람직한 암실이 위험하게 되도록 하였다. 조건화된 수동적 회피 반응의 진전은 다음날 시험하였다. 이때, 쥐들을 조명된 암실에 두었다. 암실의 최초 입장의 잠복 기간을 기록하였다. 쥐가 장시간 동안 암실을 회피한 경우, 이는 위험성(전기적 쇼크)을 기억하는 것으로 결론지었다. 암실 입장의 잠복기가 길수록, 기억력이 더 우수하다.

[0101] 뇌졸중 병변의 용적은 9일째에 실험군들의 쥐들의 비율에서 형태학적으로 평가되었다.

[0102] 대조군 쥐들에서 광혈전증은 큰 뇌졸중 부위의 형성을 유발하였으므로, 기억력 손상을 초래하였다: CPAR 재생은 무손상 쥐들과 비교하여 9.6% 악화하였으며 겉보기-수술된 것과 비교하여 22.9%까지 악화되었다(표 5). ULD의 항-S100의 투여는 뇌졸중 용적을 42.2%까지 감소시켰고 대조군-광혈전증 군과 비교하여 기억력을 14.0%까지 개선시켰다. ULD의 항-S100+항-eNOS의 투여가 더 효과적이었으며: 대조군-광혈전증 군과 비교하여 뇌졸중 용적은 44.0%까지 감소되었고, 조건화된 재생 반응은 33.4%까지 감소되었다.

[0103] 따라서, ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 복합 제제의 투여는 ULD의 항-S100의 단일성분 제제보다 더 효율적이었다.

표 5

[0104]

	국소 뇌졸중의 용적 (mm^3); 동물의 수	CPAR의 잠복 기간(초), 동물의 수
무손상	-	135.8 ± 28.8; n=6
겉보기 수술됨	-	159.3 ± 18.7; n=6
대조군-광혈전증	3.41 ± 0.5; n=9	122.8 ± 20.9; n=12
광혈전증 +ULD의 항-S100	1.97 ± 0.6; n=4	140.0 ± 26.5; n=7
광혈전증 +ULD의 항-S100 + 항-eNOS	1.91 ± 0.5; n=4	163.8 ± 16.2; n=6

[0105] 실시예 4

[0106] 고혈압의 모델의 SHR 쥐들에서, C12, C30, C200의 동종요법 희석액의 혼합물 중 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단 단편에 대한 "활성화되고" 강화된 형태들의 항체들과, C12, C30, C200의 동종요법 희석액의 혼합물 중 내피 NO-신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들의 화합물의 연구

[0107] C12, C30, C200의 동종요법 희석액의 혼합물 중 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단 단편에 대한 "활성화되고" 강화된 형태의 항체들 및 C12, C30, C200의 동종요법 희석액의 혼합물 중 내피 NO-신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들의 화합물을 SHR 쥐 고혈압 모델에서 용액 형태로 연구하였다. 조사들은 각각 10마리들의 4개 군들로 나눈, 고혈압이 있는 40 마리 SHR 계열 수컷 쥐들(체중 350+50 g, 연령 4.5 - 5 개월)에 대하여 수행하였다.

[0108] 28일 동안, 동물들을 다음과 같이 처리하였다. 제1군 - 2.5 ml/kg의 증류수와 함께 사람 안지오텐신 II 수용체(수성 희석액 C12, C30, C200의 혼합물)의 C-말단 단편 AT1에 대한 강화되고 활성화된 형태의 항체들 2.5 ml/kg, 제2군 - 2.5 ml/kg의 증류수와 함께 내피 NO-신타제(수성 희석액 C12, C30, C200의 혼합물)에 대한 강화되고 활성화된 형태의 항체 2.5 ml/kg, 제3군 - 5 ml/kg의 화합 약제학적 조성물(각각의 성분에 대한 수성 희석액 C12, C30, C200의 혼합물), 및 제4군 - 5 ml/kg의 증류수.

[0109] 깨어있는 쥐들의 수축기 혈압(SBP)을 약물들의 최종 투여 후 1주일 및 9시간째에 1회 꼬리 동맥[커프(cuff) 사

용]내에서 간접적인 방법의 도움으로 측정하였다.

[0110] 모든 시험한 조성물들은 혈압강하 효과($p<0.05$)를 입증하였다: 28일째까지, 수축기 혈압(SBD)은 초기 수치과 비교하여 제1군에서 - 20.6%까지; 제2군에서 14.4%까지; 제3군에서 27.6%까지 감소하였다. 대조군 제4군에서, SBD 변화들은 초기 값들과 비교하여 1.6%이었다. 당해 결과들은, 화합 약제학적 조성물의 명백한 상승적인 혈압강하 효과를 입증한다.

[0111] 실시예 5.

[0112] 고혈압 모델인 NISAG 쥐들에서 C12, C30, C200의 동종 요법 희석액의 혼합물 중에서 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단 단편에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들과, C12, C30, C200의 동종 요법 희석액의 혼합물 중에서 내피 NO-신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들의 화합물의 연구.

[0113] C12, C30, C200의 동종 요법 희석액의 혼합물 중에서 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단 단편에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들과, C12, C30, C200의 동종 요법 희석액의 혼합물 중에서 내피 NO-신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들의 화합물의 용액 형태를 NISAG 쥐 고혈압 모델에서 연구하였다. 시험들은 각각 10 마리씩 5개 군들로 나눈, 유전성의 규정된 스트레스-민감성 동맥 고혈압이 있는 50 마리의 NISAG 계열 수컷 쥐들(체중 300 g, 연령 4 개월)에서 수행하였다.

[0114] 동물에게 경구적으로 1일 1회로 28일 동안 다음 약물들을 투여하였다: 제1군 - 2.5 ml/kg의 증류수와 함께 사람 안지오텐신 II 수용체(희석액 C12, C30, C200의 혼합물)의 C-말단 단편 AT1에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들 2.5 ml/kg; 제2군 - 2.5 ml/kg의 증류수와 함께 내피 NO-신타제(희석액 C12, C30, C200의 혼합물)에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들 2.5 ml/kg; 제3군 - 5 ml/kg의 화합 약제학적 조성물(각각의 성분의 동종 요법 수성 희석액 C12, C30, C200의 혼합물); 제4군 - 5 ml/kg (10 ml/kg dose)의 비교 약물(로사르탄); 및 군 5 - 5 ml/kg의 증류수.

[0115] 주당 2회, VSD 항체들 및 로사르탄의 투여 후 2 내지 6시간째에, 수축기 혈압(SBP)을 꼬리 동맥[커프(cuff) 사용]에서 간접적인 방법으로 측정하였다. 표 6은 간접적인 방법으로 측정된, NISAG 계열 쥐들에서 수축기 혈압에 있어서의 변화들의 역학을 나타낸다.

표 6

[0116]

지표	초기 SBP(mmHg)	의약 투여 28일 후 SBP(mmHg)	초기 수치와의 비교시 Ä (mmHg)	초기 수치 %
사람 안지오텐신 II 수용체의 C-말단 단편AT1에 대한 VSD 항체들	176	150	-26	-14.7%
내피 NO-신타제에 대한 VSD 항체들	175	164.5	-10.5	-6%
사람 안지오텐신 II 수용체의 C-말단 단편AT1 및 내피 NO-신타제에 대한 VSD 항체들을 기초로 한 병용 제제	179.5	140	-39.5	-22%
로자르탄	173.5	140.5	-33	-19%
대조군 (증류수)	181	178	-3	-1.6%

[0117] 실시예 6.

[0118] 본 실험 연구는 초기 매트릭스 용액을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배[초저용량(ULD)의 항-IR] 초-희석시켜 수득한 항원에 대해 친화성 정제된 인슐린 수용체 β-소단위에 대한 C-말단 단편에 대한 ULD의 항체들의 초기 매트릭스 용액을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배(ULD의 항-ULD 항-eNOS) 초-희석시켜 수득한 항원에 대해 친화성 정제된 내피 NO-신타제에 대한 ULD의 항체들, 및 또한 인슐린 수용체 β-소단위에 대한 C-말단 단편에 대한 초저용량의 항체들 및 내피 NO-신타제에 대한 초저용량의 항체들의 화합물(ULD의 항-IR + ULD의 항-eNOS)의 효과들을 시험하였다.

[0119] 당해 연구에서, 150마리의 수컷 위스터를 사용하였다(연구 초기 체중: 250-300 g, 연령 3.5-4 개월). 10마리의 쥐들은 무손상이었다. 나머지에게 스트렙토조토신을 50 mg/kg(당뇨병의 시험 모델)의 용량으로 정맥내 주사하였다. 스트렙토조토신의 주사 후 72시간째에, 12 mmol/l 미만의 혈장 당이 있는 쥐들을 7개 군들(각각 20마리의 쥐들)로 나누고, 21일에 걸쳐 증류수(5 ml/kg/day, 1일 1회 위내로), insulin®(8 단위/kg/일, 피하), Rosiglitazone®(8 mg/kg/일, 1일 2회 위내로), ULD의 항-IR(5 ml/kg/일의 용적 중 2.5 ml/kg/일, 1일 1회 위내로), ULD의 항-IR + ULD의 항-eNOS(5 ml/kg/일, 1일 1회 위내로), 및 또한 Rosiglitazone® 및 Insulin®을 함께 또는 ULD의 항-IR + ULD 항-eNOS 및 Insulin®을 각각의 제제에 상응하는 섭생(위에서 기술한 바와 같은)에 따라 투여하였다. 무손상 쥐들에게는 동일한 용적의 증류수를 투여하였다. 쥐들에게 제제들을 주사한 지 7, 14 및 21일째에, 절식 혈장 당 수치를 "글루코오스 FKD" 키트(제조원: Russia)를 이용하여 효소적 방법(당 옥시다제 방법)으로 측정하였다.

[0120] 경구 당 내성 시험(OGTT)을 연구 14일째(제제의 투여 후 14일째)에 표준 방법(참조: Du Vigneaud and Karr, 1925)에 따라 수행하였다. 쥐들을 물에서 18시간 동안 절식시켰다. 시험 60분 전에 이들에게 시험 물질들을 마지막으로 투여하였다. 무손상 쥐들에게 동일한 용적의 증류수를 투여하였다. 당을 50% w/w 물 당 용액(1g/kg의 쥐 체중)으로 경구 투여하였다. 꼬리 정맥으로부터 혈액 시료의 혈청 당을 "글루코오스 FKD" 키트(참조: OOO "Pharamaceutical and clinical diagnostics, Russia, www.fkd.ru)를 사용하여 0, 30, 60, 90, 120분째에 측정하였다. 시간에 따른 혈액 당의 평균 곡선하 면적(AUC) 농도를 계산하였다.

[0121] 스트렙토조토신의 주사는 무손상 동물들과 비교하여 쥐들의 혈장 당을 실질적으로 증가시켰다(18 mmol/l 대 3.5 mmol/l, $p<0.05$). ULD의 항-IR 군에서, 제제의 주사 후 7, 14 및 21일째에, 당 수치는 대조군에서 보다 평균 22 내지 28% 낮았지만; 차이들은 실질적으로 유의한 수치에 이르지 못하였다. ULD의 항-IR과 항-eNOS의 화합물이 보다 효율적이었으며; 실험 14 및 21일째에 당 수치에서의 감소는 각각 47% 및 42%(대조군에 비해 $p<0.05$)이었다. 참고 제제인, 로지글리타존은 또한 실험의 14 및 21일까지 당 수치를 강하시켰으며; 이 경우 효과는 실험 14일째에만 통계학적 유의성에 도달하였다(36%, 대조군에 비해 $p<0.05$).

[0122] 유효 용량(예비 연구에서 선택된)의 ½로 주사된 인슐린은 모든 관찰 기간들에서 당 수치를 가장 효과적으로 강하시켰다(무손상 대조군 수치까지 강하)(도 1). 단시간 작용하는 인슐린이 본 연구에 사용되었으며 혈장 당은 이의 주사 후 1시간째에 측정되었으며, 이는 또한 혈액 당 수치에 있어서 ½ 인슐린 용량의 효과에 영향을 미쳤던 것으로 간주하여야 한다. 이러한 배경에 대해 인슐린과 로지글리타존의 화합된 사용 또는 인슐린과 복합제 ULD의 항-IR + 항-eNOS의 효과가 어떤지는 완전히 측정할 수 없었다.

[0123] 당 내성 장애(신체에 의한 당 이용에 있어서의 감소)는 당뇨병의 진단 및 치료시 가장 중요한 지침들 중 하나이다. 무손상 동물들에서, 경구 당 내성 시험(제제들의 주사 후 14일째)에서, 복합 제제인, ULD의 항-IR + ULD의 항-eNOS와 인슐린은 단독 투여한 경우 당 내성을 가장 효과적으로 증가시켰다. 로지글리타존은 또한 시간 농도 곡선 아래 면적(증가된 당 내성)을 감소시켰지만; 이의 역가는 대조군에 비해 통계적으로 비유의적이었다(도 2).

[0124] 실시예 7.

[0125] 본 실험 연구는 초기 매트릭스 용액을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배로 초-희석시켜 수득한 항원에서 정제된 인슐린 수용체 β-소단위 친화성에 대한 C-말단 단편에 대한 초저용량(ULD의 항-IR)의 항체들, 초기 매트릭스 용액을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배로 초-희석시켜 수득한 항원에서 정제된 내피 NO-신타제 친화성에 대한 초저용량(ULD의 항-eNOS)의 항체들, 및 또한 인슐린 수용체 β-소단위 친화성에 대한 C-말단 단편에 대한 초저용량의 항체들과

내피 NO-신타제에 대한 초저용량의 항체들의 화합물(ULD의 항-IR + ULD의 항-eNOS)의 효과들을 시험하였다.

[0126] 본 연구에서, 36마리의 수컷 코토-가키자키(Goto-Kakizaki) 쥐들을 사용하였다(연구 초기 체중: 250 내지 280 g, 연령 10 내지 12주). 당해 계열의 쥐들은 비-인슐린-의존성 당뇨병들의 자발적인 진전을 특징으로 한다. 동물들을 3개 군들(각각 12마리의 쥐들)로 나누어 증류수(5 ml/kg, 1일 1회 위내로), 또는 ULD의 항-IR(2.5 ml/kg, 1일 1회 위내로), 또는 ULD의 항-IR + ULD의 항-eNOS(5 ml/kg, 1일 1회 위내로) 28일 동안 투여하였다. 혈장 당 수치를 당 분석기(제조원: Beckman, 미국 캘리포니아 풀러톤 소재)의 도움으로 제제들의 주사 시작 전 및 제제들의 주사 후 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28일째에 측정하였다. 28일째에, 당 내성 시험을 수행하였다(당 경구 투여, 1 g/kg).

[0127] ULD 항-IR의 주사는 쥐들의 혈장 당 수치에 있어서 유의한 ($p<0.05$) 강하를 가져왔지만, 복합제인 ULD의 항-IR + ULD 항-eNOS의 사용이 보다 효율적이었다(대조군에 비해 $p<0.001$)(도 3).

[0128] 결과들은 제제들의 주사 후 28일째에 수행된 당 내성 시험 데이터에 의해 입증되었다(도 4). ULD의 항-IR의 주사는 당 내성에 있어서의 증가를 가져왔다(대조군에 비해 44%까지 AUC의 통계적으로 유의하지 않은 강하). 동시에, 복합제인 ULD의 항-IR + ULD의 항-eNOS의 주사에 의해 유발된 이러한 매개변수(AUC)의 감소는 62%이었으며 대조군에 비해 통계적으로 유의적이었다($p<0.05$).

[0129] 실시예 8.

[0130] 다음 제제를 사용하였다: 100분의 1의 동종 요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물과 동등한, 초기 용액(2.5mg/ml의 농도)을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배로 초-희석시켜 수득한, 항원에서 정제된, 폴리클로날 토끼 뇌-특이 단백질들 S-100에 대한 활성화되고 강화된 형태의 초저용량의 항체들(ULD의 항-S100)을 수성-알코올 용액(3 mg/정제)에 함침시킨 300mg의 정제들; 100분의 1의 동종 요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물과 동등한, 초기 용액(2.5mg/ml의 농도)을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배로 초-희석시켜 수득한 뇌-특이 단백질 S-100에 대한 활성화되고 강화된 형태의 초저용량(ULD)의 폴리클로날 친화성 정제된 토끼 항체들(항 S-100)과 eNOS에 대한 초저용량(ULD)의 폴리클로날 친화성 정제된 토끼 항체들(항-eNOS)(ULD의 항-S100+항-eNOS)을 수성-알코올 용액(6 mg / 정제)을 함유한 약제학적 조성물에 함침시킨 300mg의 정제들; 100분의 1의 동종 요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물과 동등한, 초기 용액(2.5mg/ml의 농도)을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배로 초-희석시켜 수득한, 항원에서 정제된, 활성화되고 강화된 형태의 초저용량의 폴리클로날 토끼 eNOS 항체들(ULD의 항-eNOS)의 수성-알코올 용액(3 mg/정제)에 함침시킨 300mg의 정제들; 및 부형제들: 락토오스(락토오스 일수화물) - 267 mg, 미세결정성 셀룰로오스 -30 mg, 스테아르산마그네슘 - 3 mg을 함유하는 위약 300 mg의 정제들.

[0131] 현기증(현훈: vertigo) 및 멀미(멀미)의 다른 증상들의 치료시 연구된 약물들의 효과를 멀미 모델(kinetosis model) 또는 다양한 전정 자율신경 장애들에 의해 발생하는 운동 질병들/멀미들에 기초하여 평가하였다. 현기증은 전정 신경 및 달팽이 관 시스템의 기능장애, 추골뇌저 동맥계에서 순환 곤란, 중추신경계(CNS)의 병리학 등을 포함하는 다양한 발생의 전정 분석인자의 대표적인 병변 징후이다. 멀미의 증상으로서 현기증은 3개 유형들의 반응: 전정-운동(눈떨림 및 편위의 반응), 전정-감각(현기증 외에, 눈떨림(또는 회전 후 반응)은 방어 운동들이다) 및 편위(오심, 구토, 발한, 두근거림, 발열 느낌, 맥박 및 혈압 변동들)가 포함되는 다른 전정-편위 장애들을 함께 동반하였다.

[0132] 이중 맹검 위약 대조 비교 연구를 15명의 신체적으로 건강한 피험자 - 낮은(n=5; 33%) 또는 중간(n=10; 67%) 정도의 멀미 내성을 가진 15 내지 60세(평균 연령 33.3 ±0.75세)의 남성 및 여성으로 이루어진 평행군들에서 수행하여 다양한 조성물들의 항 멀미 특성들을 시험하였다. 제1군에게는 ULD의 항-S100+항-eNOS을 투여하였고, 제2군에게는 ULD의 항-S100을 투여하였으며 제3군에게는 항-eNOS를 투여하였다.

[0133] 멀미 상태를 자극시키고 연구된 약물들의 효과를 평가하기 위하여 코리올리에 의한 가속화의 연속된 누적 효과(continuous cumulative effect of accelerations by Coriolis: CCEAC)를 사용한 시험을 사용하였다. 모든 연구 피험자들에서 CCEAC 시험의 초기 내성은 5분 이하였다. 역학적 효과(CCEAC)에 의해 촉진된 전정-편위 장애들은 피험자의 시험, 전정-편위 민감성의 장애들의 정량적 평가[할레 척도(Halle scale)], 심박수(HRV)의 분석, 및 기능적 상태의 자가-평가(WBAM - 웰빙, 활성 및 분위기)를 포함하는 진단 방법들을 복합적으로 사용하여 등록하였다. 수행된 치료요법의 효율의 기준으로서 내성의 동력 및 역학적 영향에 있어서 회복 기간의 정도, 및 또는 감각-운동 반응들(눈떨림)의 지표 증거의 변화, HRV 지표들(AWS, International Standard of European Cardiologists Association and North American Electrophysiology Association에 따르는 LLC에 의해 개발된

Biocom Wellness Scan system 사용) 및 WBAM 데이터를 평가하였다. 안전성 기준은 약물 섭취와 관련된 치료 기간에 가능한 부작용(AE)의 출현의 특성, 증거 및 기간들; 중추신경계(CNS)(운동 대상에서 반응: RMO), 단순한 운동 반응의 시간(TSMR)의 기능을 특징화하는 지표들에 대해 연구된 약물들의 영향; 물리적 및 기능적 인자들(심박수: HR), 수축기 및 이완기 혈압(SBP, DBP), 스탄지 시험(Stange's test)의 역학; 운동 내성[하바드 스텝-시험의 지표(index of Harvard step-test)]이다. 안전성은 ULD의 항-S-100 및 ULD의 항-eNOS의 화합물의 7일 코스 투여 후 및 단일 용량 투여 후 평가하였다.

[0134] 연구에 포함시키기 전 1개월 동안 피험자들 모두에게 어떠한 약물들도 투여하지 않았다. 선별 후에 피험자들을 4개 군들(제1군 - ULD의 항-S100 + 항-eNOS, 제2군 - ULD의 항-S100, 제3군 - ULD의 항-eNOS, 및 제4군 - 위약)으로 무작위 배정하였다.

[0135] 연구 1일째에(방문 1) 피험자들의 초기 기능적 및 정신적-생리학적 상태를 기록하고, 이후에, 피험자들에게 각각의 ULD의 항체들 5개 정제들을 투여한 후 CCEAC 시험약을 투여하였다. 시험 기간을 등록하고; 멀미와 관련된 전정-편위 장애들 및 AE들을 복합 진단 실험의 도움으로 검출하였다. 다음 2 내지 6일째에 피험자에게 처방된 약물을 1일 3회 1개 정제를 투여하였다. 7일째에(방문 2) 피험자들에게 동일한 용량을 최초일(방문 1)에서와 같이 투여하였다. 복합적인 진단 연구들을 CCEAC 시험 전 및 후에 수행하였다. 연구는, 연구원이 오직 1명의 피험자를 담당하는 방식으로 구성하였다. 연구는 평행이었으며 일반적으로 1일에 4명의 참여로, 약물 또는 위약을 1명의 개인에게 하루 중 오전에 수행하였다. 다음 3주는 세척 기간(washout period)이었으며, 이의 말기에 신규 약물 또는 위약을 각각의 군의 피험자들에게 처방하였으며; 연구 주기를 반복하였다(방문 1, 약물의 섭취 과정; 방문 2). 따라서, 연구를 하는 동안 각 피험자는 연구의 4개 주기들에 참여하였다. 즉, 각 피험자는 각 주기 사이에 3주의 세척 기간을 갖는 각 군에 참여하였다. 이렇게 함으로써, 연구원은 치료 효과에 대한 피험자의 개개 특성들의 영향의 정도를 측정할 수 있었다. 약물 효능의 분석은, 연구 프로토콜에 따라 연구된 약물 섭취의 전 과정을 완료한 피험자들 모두의 데이터에 대하여 실시되었다(n=15).

[0136] 연구된 약물들의 1일 섭취의 배경에 대해 역학적 영향(CCEAC) 후 멀미(현훈, 오심, 비활성, 피부 창백함, 발한 등)의 증상들의 증거 인자들은, 주치의-연구원에 의한 할레 척도의 편위 기능장애의 평가된 증상들의 증거가 모든 군들에서 유의적으로 상이하지 않는 한 연구 피험자들 모두가 거의 동일한 상태의 멀미를 겪었음을 입증하였다(표 7, 방문 1). 그러나, 멀미의 유사한 증상들을 유발하는 역학적 효과가 4개 군들에서 상이하였지만 연구의 피험자들에 의해 섭취된 약물에 의존적이었다(표 8, 방문 1). ULD의 항-S100 + 항-eNOS 제제의 1일 섭취는 CCEAC 시험의 유의적으로 보다 많은 시간(104.10 ± 13.14초 대 68.50 ± 6.57초 - ULD의 항-S100 군에서; 75.00 ± 6.79 초 - ULD의 항-eNOS 군에서 및 61.30 ± 3.15초 - 위약 군에서) 뿐만 아니라 적어도 그 이상의 눈떨림 시간(9.90 ± 1.20초 대 각각 13.50 ± 1.51; 16.10 ± 1.68 및 13.30 ± 1.12초) 및 최대 신속한 회복(96.90 ± 13.54초 대 각각 194.20 ± 18.45; 202.50 ± 21 .72 및 241.70 ± 38.41초)에서도 자가 입증된 가장 명백한 항멀미 효과를 가져왔다.

[0137] 대략 유사한 지표들이 한 코스의 약물들을 투여받은 후 방문 2에서 기록되었다. 멀미의 유사한 증상들을 달성하기 위해(표 7, 방문 2), 가장 긴 시간의 역학적 충격을 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물을 투여받은 피험자들(표 8, 방문 2)에 7일 동안 적용시켰다. ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물의 가장 현저한 항 멀미 효과는 유의적으로 거의 없는 눈떨림 시간(9.50 ± 1.38 초, $p < 0.01$) 및 회복 기간의 길이(117.90 ± 15.65 초; $p < 0.01$)로 나타났다. 단일성분 제제인 ULD의 항-S100은 입증된 위약군 보다 CCEAC 시험의 내성, 항 멀미, 눈떨림의 회복 시간 및 회복에 대한 더 나은 지표로서 항 멀미 작용을 가졌지만(표 8, 방문들 1 및 2), ULD의 항-S100의 효능은 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물보다 열등하였다. 단일성분 제제인 ULD의 항-eNOS는, CCEAC 시험들의 결과들 및 후속 회복 기간이 위약군과 유의한 차이가 없으므로 항 멀미 효과를 나타내지 않았다(표 8, 방문들 1 및 2). 약물들의 1일 섭취시 ULD의 항-S100 + 항-eNOS 및 ULD의 항-S100의 군들에서 CCEAC 시험의 지표들의 비교 분석은, ULD의 항-eNOS의 첨가가 역학적 효과의 내성을 52%로 증가시키며 눈떨림 시간을 27%로 감소시키고 49%에서 현기증의 기간을 포함하는 역학적 효과의 종결 후 회복 기간의 50% 감소에 기여하였다. 그러나, ULD의 항-eNOS의 성분의 최대 기여는 역학적 효과 및 눈떨림 기간의 내성(매개변수들 각각에서)의 인자들에 의해 ULD의 항-S100의 군에서 달성된 결과의 30% 초과로 발현된 약물의 섭취 과정에서 화합 제제(ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물들)의 효과를 가져온 것이었다. 또한, 단일성분 제제인 ULD의 항-S100과 비교하여 ULD의 항-S100 + 항-eNOS 조성물을 섭취하는 경우 방문 1의 데이터와 비교하여 눈떨림의 기간 및 CCEAS 시험의 내성의 지표들에 의해 방문 2에서 효과의 성장이 30% 및 4%(ULD의 항-S100 군에서 21% 및 0%에 대해)로 이들 지표들의 변경에 의해 확인된 바와 같이 보다 큰 정도로 표시되었다. 약물들의 항 멀미 특성들의 효과의 평가시 자율신경계(ANS)의 안정성, 특히 이의 교감신경과 부교감신경 갈래들 사이에서 균형의 이동에 대한 약물들의 가능한 영향에

대해 특별한 관심을 기울였다. 이러한 목적을 위해, 각각의 방문에서 HRV 매개변수들을 나머지 조건에서 및 기능적 시험들(호흡 및 기립 시험들)을 수행할 시 분석하였다.

표 7

CCEAC 시험의 수행 후 적용된 제제에 따른 할레스 척도의 지표들

[0138]

제제	할레스 척도 (점수)	
	방문 1 (1일 섭취) (n=15; M±SE)	방문 2 (코스 섭취) (n=15; M±SE)
ULD 항-S100 + 항-eNOS	12.00±0.63	12.30±0.59
ULD 항-S100	13.30±0.65	12.30±0.46
ULD 항-eNOS	13.10±0.78	12.00±0.55
위약	13.40±0.77	13.30±0.45

표 8

적용된 제제에 따른 CCEAC 시험의 지표들의 역학들

제제	방문 1 (1일 섭취)		
	CCEAS 시험의 내성 (초) (n=15; M±SD)	눈떨림 시간 (초) (n=15; M±SD)	회복 시간 (초) (n=15; M±SD)
ULD 항-S100 + 항-eNOS	104.10±13.14 **	9.90±1.20 *	96.90±13.54 ***
ULD 항-S100	68.50±6.57 ×	13.50±1.51	194.20±18.45 ×××
ULD 항-eNOS	75.00±6.79	16.10±1.68	202.50±21.72 ×××
위약	61.30±3.15	13.30±1.12	241,70±38,41
크루스칼-왈리스 시험에서 P값	0.0182	0.0658	0,0001
	방문 2 (코스 섭취)		
ULD 항-S100 + 항-eNOS	134,70±20,24 **	9,50±1,38 **	117,90±15,65 **
ULD 항-S100	82,70±10,33	13,50±1,69	167,50±14,72 ×
ULD 항-eNOS	74,30±9,49 ×	17,30±2,40 ×××	209,20±21,62 ××
위약	63,70±3,91	15,00±1,47	199,60±31,19
크루스칼-왈리스 시험에서 P값	0,0341	0,0244	0,0061

1군들 사이의 유의적인 차이를 측정하기 위해 크루스칼-왈리스 시험(Kruskal-Wallis test)을 사용하였다. 나타낸 시험이 서로에 대해 군들 사이에서 비교시 p <0.05의 유의적인 차이를 나타낸 경우 만-휘트니 시험(Mann-Whitney test)을 사용하였다.
*위약과 비교시 유의적인 차이, p<0.05;
**위약과 비교시 유의적인 차이, p<0.01;
***위약과 비교시 유의적인 차이, p<0.001.
*ULD 항-S100 + 항-eNOS과 비교시 유의적인 차이, p<0.05;
**ULD 항-S100 + 항-eNOS과 비교시 유의적인 차이, p<0.01;
***ULD 항-S100 + 항-eNOS과 비교시 유의적인 차이, p<0.001.

[0139]

[0140] CCEAC 시험 전 후 휴식 상태(앉은 위치)에서 HRV의 분석 결과, 연구 약물들을 투여받은 피험자들이 심장 박동에 있어서 부교감신경 영향으로 인하여 심박수 가변성에 있어서의 증가를 나타내는 SDNN의 증가율에 대한 경향성이 있음이 탐지되었다. 모든 치료군들에서 역학적 효과에 대한 반응시 자율적 조절의 부교감 성분의 활성을 특징으로 하는 RMS-SD의 값이 증가하였다. ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물 및 ULD의 항-S100을 투여받는 군들에서 부교감 연결에 대한 자율적 균형에 있어서 이동을 또한 나타낸 HF의 증가가 나타났다. 따라서, 모든 군들에서 CCEAC 시험들을 수행한 후 심박수에 있어 부교감신경 효과들이 증진되었다.

표 9

역학적 작용 전 및 후 휴식 상태에서 연구 참여자들의 HRV 매개변수들

매개변수	방문 1 (섭취 1일째)		방문 2 (섭취 과정)	
	약물 섭취 후	CCEAC 시험 후	약물 섭취 후	CCEAC 시험 후
ULD 항 -S100 + 항 -eNOS 군 (M±SD)				
SDNN, msec.	57.7±5.51	68.2±7.42	59.4±5.03	65.6±4.66
RMSSD, msec.	43.1±6.77	51.4±9.22	47.0±6.21	47.6±5.33
TP, msec.^{2}	979.0±186.06	1678.3±397.11#	1067.2±167.24	1381.0±166.30
LF, msec.^{2}	437.5±709.6	709.6±178.72	391.9±75.61	588.5±87.48
HF, msec.^{2}	171.5±51.08	228.4±76.79	206.5±58.32	218.5±43.96
LF/HF, c.u.	4.2±0.82	4.9±0.83	3.3±0.83	4.2±0.91
ULD 항 -S100 군 (M±SD)				
SDNN, msec.	60.9±4.62	70.9±5.90	59.1±4.80	68.8±4.87
RMSSD, msec.	44.3±5.39	50.6±6.56	42.4±4.63	47.8±5.57
TP, msec.^{2}	832.2±124.93*	1342.8±217.09	841.4±149.93	1288.0±163.52#
LF, msec.^{2}	315.2±52.38*	550.9±72.44#	313.6±66.71	540.7±87.57#
HF, msec.^{2}	151.4±41.19	247.0±69.53#	138.3±38.42	187.1±39.80
LF/HF, c.u.	3.0±0.54	4.0±0.72	2.8±0.53	4.0±0.52
ULD 항 -eNOS 군 (M±SD)				
SDNN, msec.	67.4±7.73	78.6±6.14	65.8±8.68	69.0±5.23

[0141]

RMSSD, msec.	53.0±8.86	58.4±7.68	59.6±12.45	52.2±5.30
TP, msec.^{2}	1307.8±324.24	1841.1±359.79#	1232.3±292.51	1275.4±172.47
LF, msec.^{2}	576.5±167.07	849.9±194.2#	527.2±167.07	562.1±89.38
HF, msec.^{2}	313.3±139.90	285.3±65.92	218.9±74.78	216.3±63.72
LF/HF, c.u.	3.6±0.87	3.9±0.82	3.7±1.14	3.8±0.58
위약 군 (M±SD)				
SDNN, msec.	64.6±6.10	75.7±6.42	61.1±6.72	70.8±6.79
RMSSD, msec.	50.9±7.74	53.1±6.62	44.6±6.63	44.3±5.31
TP, msec.^{2}	1062.2±150.02	1917.8±318.96#	898.8±169.62	1418.5±227.59#
LF, msec.^{2}	440.6±77.30	832.4±181.15	334.8±75.94	611.4±113.64#
HF, msec.^{2}	253.9±59.95	266.7±61.94	166.0±48.14	174.1±44.96
LF/HF, c.u.	3.4±0.72	5.0±1.33	3.4±0.93	4.8±0.83

주: *위약과 비교하여 유의적인 차이, $p \leq 0.05$);
기준 매개변수들과 비교하여 유의적인 차이, $p \leq 0.05$.

[0142]

[0143] 전이 상태에서 HRV의 분석 결과, ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물의 1일 섭취가 ULD의 항-S100 및 위약과 비교하여 반응 시간(13.9 ± 1.14; p= 0.05) 및 안정화 시간(24.2 ± 1.28; p= 0.05)을 증가시켰음을 나타났다. 동일한 인자들이 위약군의 값을 초과하였으며 역학적 효과 후 이는 ANS의 반응성(신체 위치에서 변화들에 대한 내성의 증가)에 있어서 화합된 약물의 양성 효과를 입증하였다. 호흡 시험에서 최대 심박수와 최소의 심박수 사이의 가장 작은 차이는 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물을 1일 투여받은 후 ANS의 2개의 갈래들의 보다 우수한 균형을 입증하였다(25.1 ± 2.66 박동수(beat)/분, p= 0.05). 치료요법의 주 코스의 말기까지 CCEAC 시험(기립성 및 호흡 시험 사용) 후 ANS의 균형에 대한 안정화 효과가 또한 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물을 투여받은 군에서 나타난다(표들 10 및 11).

표 10

역학적 작용 전 및 후에 기립성 시험시의 연구 참여자들의 HRV 매개변수들

매개변수	방문 1 (섭취 1일째)		방문 2 (코스 섭취)	
	약물 섭취 후	CCEAC 시험 후	약물 섭취 후	CCEAC 시험 후
ULD의 항-S100 + 항-eNOS 군 (M±SD)				
운동 반응, c.u.	1.30±0.06	1.40±0.04	1.30±0.06	1.40±0.06
반응 시간 (초)	13.9±1.14*×	12.7±1.24*	11.8±0.57	11.7±1.09
안정화 시간 (초)	24.2±1.28*×	21.9±1.44*	20.6±0.74	22.4±1.44*×
ULD의 항-S100 (M±SD) 군				
운동 반응, c.u.	1.40±0.04	1.30±0.04	1.30±0.04	1.30±0.05
반응 시간 (초)	7.60±1.05	10.6±1.55	9.7±1.21	10.0±1.73
안정화 시간 (초)	15.1±1.16*	18.3±1.43	18.0±1.18	18.0±1.80
ULD의 항-eNOS (M±SD) 군				
운동 반응, c.u.	1.30±0.04	1.30±0.04	1.50 ± 0.12	1.30±0.04
반응 시간 (초)	8.20±0.94	9.10±1.12	9.2 ± 0.77	8.3±0.70
안정화 시간 (초)	16.5±1.02	17.1±1.33	19.0 ± 2.04	16.7±0.98
위약 군 (M±SD)				
운동 반응, c.u.	1.30±0.04	1.30±0.04	1.40 ± 0.06	1.30±0.06
반응 시간 (초)	9.5±1.28	8.1±0.90	10.4 ± 1.58	8.8±1.09
안정화 시간 (초)	18.3±0.94	16.8±1.09	18.0 ± 1.37	16.5±1.11

주: *위약과 비교하여 유의적인 차이, $p \leq 0.05$;
×ULD의 항-S100과 비교하여 유의적인 차이, $p \leq 0.05$.

[0144]

표 11

역학적 작용 전 및 후에 호흡 시험에서 연구의 참여자들의 HRV 매개변수들

매개변수	방문 1 (1일 섭취)		방문 2 (코스 섭취)	
	약물 섭취 후	CCEAC 시험 후	약물 섭취 후	CCEAC 시험 후
ULD의 항-S100 + 항-eNOS (M±SD) 군				
상관관계 최대 HR-최소 HR c.u.	1.5 ± 0.05*	1.5 ± 0.06	1.5 ± 0.05	1.5 ± 0.05
차이 최대 HR - 최소 HR 박동/분	25.1 ± 2.66*	26.5 ± 2.77	26.5 ± 2.37	24.9 ± 2.24*
ULD의 항 -S100 (M±SD) 군				
상관관계 최대 HR - 최소 HR, c.u.	1.5±0.06	1.6±0.05	1.5±0.04	1.6±0.06
차이 최대 HR - 최소 HR, 박동/분	27.7±2.68	27.2±2.40	25.7±2.24	26.9±2.67
ULD의 항 -eNOS (M±SD) 군				
상관관계 최대 HR - 최소 HR, c.u.	1.5±0.05	1.5±0.04	1.5±0.06	1.6±0.05
차이 최대 HR - 최소 HR, 박동/분	26.7±2.44	26.2±2.04	27.7±2.47	27.3±2.12
위약 군 (M±SD)				
상관관계 최대 HR - 최소 HR, c.u.	1.6±0.07	1.6±0.06	1.5±0.05	1.6±0.05
차이 최대 HR - 최소 HR, 박동/분	31.2±3.06	28.2±2.50	27.7±2.37	29.2±2.44

주: *위약군과 비교하여 유의적인 차이, $p \leq 0.05$

[0145]

[0146] 치료요법의 개시 및 말기에 멀미(CCEAC 시험들)의 자극 후 연구의 참여자들이 수행하였던 피험자들의 기능적 상태(웰빙, 활성, 분위기)의 자가-평가의 결과들은, 모든 군들의 피험자들이 매개변수들 각각에 대한 '평균' 점수들을 주었다는 것을 나타내었다(표 12). 따라서, 약물 섭취의 배경에서 CCEAC 내성은 만족스러웠다. 섭취의 7일째 말기까지 위약군의 데이터와 비교한 최대 성장 비율들(10% 이상)이 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물의 군에서 관찰되었다.

표 12

연구 참여자들의 기능적 상태(웰-빙-활성-분위기)의 자가-평가의 매개변수들의 역학률

매개변수	방문 1 (1일 섭취)	방문 2 (코스 섭취)
ULD의 항 **-S100** + 항 **-eNOS** (M±SE) 군		
웰빙	4.3±0.26	4.6±0.27
활성	4.2±0.20	4.2±0.22
분위기	5.0±0.16	5.2±0.13
ULD의 항 **-S100** (M±SE)군		
웰빙	3.7±0.21	4.3±0.22
활성	3.6±0.17	4.0±0.19
분위기	4.5±0.16	4.9±0.19
ULD의 항 **-eNOS** (M±SE) 군		
웰빙	3.9±0.25	4.1±0.26
활성	3.8±0.25	3.9±0.23
분위기	4.4±0.19	4.6±0.19
위약 군 (M±SE)		
웰빙	4.0±0.24	4.0±0.24
활성	3.8±0.20	3.7±0.26
분위기	4.3±0.20	4.7±0.24

[0147]

[0148] 안전성 분석에는 연구에 참여한 피험자들 모두로부터 수집한 데이터가 포함되었다. 관찰 기간 동안 연구한 제제들의 우수한 내성이 관찰되었다. 약물 투여와 관련된 부작용은 확인되지 않았다. 연구된 군들의 피험자들 모두는 연구 프로토콜에 의해 정해진 기간들 동안에 치료를 완료하였으며; 조기 중지한 개인들은 없었다.

[0149] 심박수, 수축기 및 확장기 혈압의 지표들을 포함하는 물리적 실험의 결과들에 따라서 그리고 하바드 스텝 시험 (Harvard step test) 데이터에 따라서 피험자들은 연구 기간 동안 어떠한 비정상 지표들을 가진 것으로 기록되지 않았다(표 13). 모든 확인된 변화들은 정상 범위를 초과하지 않았다. 이 경우에, 주관적으로 모든 피험자들을 만족스러운 웰빙으로 기록하였다.

표 13

운동 작용 전 및 후에 연구 참여자들의 물리적 매개변수들 및 운동 내성의 역학률

[0150]

매개변수	방문 1 (1일 섭취)		방문 2 (코스 섭취)	
	약물 섭취 후	CCEAC 시험 후	약물 섭취 후	CCEAC 시험 후
ULD의 항 **-S100 +** 항 **-eNOS** (M±SE) 군				
HR (박동/분)	74.6±3.36	68.4±3.67	74.1±3.10	67.7±2.62
수축기 혈압 (mmhg.)	123.4±2.83	125.9±4.08	121.8±2.65	128.3±4.25
이완기 혈압 (mmhg.)	74.0±3.09	79.3±2.62	76.2±2.43	80.3±3.30
스텝-시험 지표	–	53.6±2.60	–	52.3±2.09
ULD의 항 **-S100** (M±SE) 군				
HR (박동/분)	73.5±2.57	69.7±2.78	72.1±2.84	67.7±2.39
수축기 혈압 (mmhg.)	127.5±2.55	133.5±4.77	127.1±2.55	129.9±5.06
이완기 혈압 (mmhg.)	75.5±2.65	82.6±3.31	74.9±2.41	82.3±3.19
스텝-시험 지표	–	50.6±1.71	–	53.0±1.63
ULD 항 **-eNOS** (M±SE) 군				
HR (박동/분)	76.5±2.59	67.3±1.98	77.3±2.02	70.1±3.23
수축기 혈압 (mmhg.)	127.3±3.14	131.5±5.16	123.5±3.06	129.3±4.13
이완기 혈압 (mmhg.)	75.2±2.24	80.3±2.66	73.9±2.83	81.0±3.22
스텝-시험 지표	–	51.8±2.12	–	51.2±2.21
위약 군 (M±SE)				
HR (박동/분)	74.5±2.78	68.9±3.46	73.9±3.23	72.3±3.58
수축기 혈압 (mmhg.)	125.3±3.30	133.3±4.73	124.3±2.83	126.9±3.95
이완기 혈압 (mmhg.)	76.2±2.15	81.7±2.83	75.4±1.86	79.7±3.03
스텝-시험 지표	–	50.0±2.03	–	50.1±1.99

[0151]

[0152] 혈류역학적 매개변수들 외에, 연구된 약물들의 안전성 및 중추 신경 기능들에 대한 이의 가능한 음성적 영향을 평가하기 위해, 다음의 생리학적 매개변수들을 피험자들에서 시험하였다: (RMO(움직이는 대상에 대한 반응),

SMRT(단순한 운동 반응 시간), RA(주의의 범위), 주의 지속시간(AS), 및 주의 안정성 인자(ASF)). 또한, 스탄지 시험(Stange's test)을 수행하여 저산소증에 대한 내성을 평가하였다.

[0153] 수득된 결과들(표 9)에 따라서 약물 섭취 1일째 또는 코스는 추정된 매개변수들에 있어서 유의한 효과를 갖지 않았다. 감각 운동 협응의 지표들(SMRT, RMO)은 방문들 둘 모두에서 CCEAC 시험 전 및 후에 위약군의 결과들과는 상이하지 않았다. 주의의 정도 및 안전성과 같은 이러한 복잡한 기능들의 연구 데이터는, CCEAC 시험 전 및 후 둘 모두에서 연구된 약물들이 위약군과 상이하지 않은 주의 집중도 및 주의 전환도를 변화시키지 않았음을 나타내었다.

[0154] 호흡 정지를 사용한 표준 운동 시험들의 분석 결과, 피험자들은 저산소증의 내성의 증가 경향을 나타내었다(표 14). 호흡을 정지하는 경우 스탄지 시험의 지속기간은 모든 연구 약물들을 섭취한 후 길어졌다. 그러나, ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 화합 조성물의 섭취만이 역학적 효과 후 호흡의 정지에 있어서 유의적으로 보다 긴 시간을 나타내었다(기준에서 68.1±18.8초 및 CCEAC 시험 후 91.7±27.4 초; p <0.05). 저산소증의 내성의 증가는, 또한 겐치 시험(Gench's test)(스탄지 시험)(만료시 호흡 정지, P> 0.05)을 사용하였을 때도 주의를 끌었다.

표 14

운동 작용 전 및 후에 연구 참여자들의 정신-생리학적 상태의 매개변수들의 역학들

[0155]

매개변수	방문 1 (섭취 1일째)		방문 2 (섭취 과정)	
	약물 섭취 후	CCEAC 시험 후	약물 섭취 후	CCEAC 시험 후
ULD의 항-S100 + 항 -eNOS (M±SE) 군				
SMRT	257.5±8.67	268.9±10.18	269.6±9.75	279.9±12.24
RMO, c.u.	50.1±3.92	49.5±4.50	47.3±4.86	47.0±3.54
RMO, 표적 히트의 %	3.0±0.95	4.5±1.15	5.3±1.58	4.0±1.11
AS, 초.	5.2±0.34	5.2±0.35	5.2±0.41	5.1±0.40
주의의 범위 (초)	41.7±2.36	39.9±2.38	38.1±2.17	37.5±2.04
ASF	17.4±1.66	17.2±1.51	18.0±1.71	18.8±1.72
스탄지 시험	68.1±4.85	91.7±7.07*	71.8±6.02	85.5±9.36

겐치 시험	47.1±4.03	50.1±3.94	46.7±3.28	48.1±4.52
ULD의 항-S100 (M±SE) 군				
SMRT	258.9±9.95	282.4±13.56	268.4±11.37	279.1±9.20
RMO, c.u.	58.1±6.40	57.5±6.34	55.1±5.06	53.8±5.02
RMO, 표적 히트의 %	3.7±1.50	2.0±0.82	2.3±0.83	5.0±1.69
AS, 초.	±0.40	6.4±0.52	6.2±0.42	6.0±0.41
주의의 범위 (초)	42.6±2.68	42.1±2.27	42.7±2.30	41.9±2.52
ASF	14.5±1.16	14.9±1.26	15.3±1.13	15.4±1.18
스탄지 시험	59.0±4.09	72.6±6.19	64.5±4.93	75.9±5.67
겐치 시험	47.1±4.48	49.4±4.69	48.3±4.30	48.8±4.14
ULD의 항 -eNOS (M±SE) 군				
SMRT	257.7±8.49	279.4±14.23	266.7±13.19	275.5±11.44
RMO, c.u.	48.3±3.67	51.9±4.39	52.5±4.79	49.6±4.22
RMO, 표적 히트의 %	2.3±0.83	2.0±0.82	3.3±1.26	5.7±1.68
AS, 초.	5.9±0.25	6.0±0.34	5.5±0.24	5.9±0.33
주의의 범위 (초)	41.9±2.10	43.8±2.39	41.3±2.00	42.5±2.22
ASF	13.7±1.34	14.8±1.31	15.6±1.24	14.1±1.40
스탄지 시험	62.5±5.49	69.5±5.09	56.7±3.34	73.1±7.98
겐치 시험	43.1±3.51	45.7±3.15	43.4±3.77	45.8±4.03
위약 군 (M±SE)				
SMRT	267.6±7.64	290.1±11.33	281.1±9.78	263.3±6.85
RMO, c.u.	60.7±8.31	54.1±5.57	51.1±3.69	52.6±5.38
RMO, 표적 히트의 %	3.7±1.03	3.7±1.24	3.3±0.93	4.3±1.61
AS, 초.	6.1±0.71	5.7±0.36	5.5±0.32	5.9±0.71

[0156]

주의의 범위 (초)	41.9±2.09	42.4±2.81	41.3±2.18	39.6±2.26
ASF	14.5±1.64	14.5±1.79	15.3±1.55	15.9±1.58
스탄지 시험	63.7±4.71	67.9±6.90	64.8±5.94	83.0±12.24
겐치 시험	44.7±2.52	47.1±3.30	43.7±2.71	47.8±3.78

[0157]

[0158] 따라서, 실험적 멀미를 사용한 연구는, ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 화합 조성물 및 단일성분 제제 ULD-S100의 효과를 입증하였다. 연구된 약물들은 멀미의 보다 약한 임상 과정 및 치료를 중지한 후 피험자들의 조기 회복에 기여하는 멀미의 임상 및 생리학적 효과들의 자극 후 운동 효과에 대한 피험자들의 안전성을 증가시킨다. 또한, 화합 조성물(ULD의 항-S100 + 항-eNOS 조성물)의 항 멀미 효과는 개개 성분들의 효능을 증가시키는 것으로 밝혀졌다. 실험적 멀미에서 신체의 전정-자율 및 감각 반응들의 조절시 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 화합 조성물의 효과는 섭취 과정에서 증가된다. 단독 제제의 형태의 ULD의 항-eNOS는 멀미에 대해 보호 효과를 가지지 않지만, ULD의 항-S100과 화합되는 경우 1일에서와 같이 약물의 짧은 섭취 과정에서 자체로 나타나는 ULD의 항-S100의

항 멀미 효과를 유의적으로 향상시킨다. 일시적 프로세스들을 조절하는 가장 우수한 능력은 ANS의 부교감 및 교반 신경 부분들의 반응성에 대해 영향을 미치는 것이며 또한 멀미 상태에서 ANS의 적합한 능력들(신체 위치의 급격한 변화들에 대한 내성을 증가시키는)은 약물의 항 멀미 특성들의 중요 성분인 ULD의 항-S100 + 항-eNOS 조성물에서 관찰되었다. ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물 및 단독성분 제제인 ULD의 항-S100은 이들을 조작 기능들을 수행하는 경우를 포함하는 항 멀미 제제로서 사용하는 경우 안전하며 물리적 및 정신-생리학적 매개변수들에 있어 부정적으로 영향을 미치지 않는다.

[0159] ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 화합 조성물 및 ULD의 항-S100은 낮은 정도 및 중간 정도의 안정성을 지닌 개인들에 대한 운동 질병(배 멀미, 비행기 멀미 및 자동차 멀미)에서 멀미의 예방 및 완화를 위해 권장될 수 있다. 화합 조성물은 매우 안전하며 전문 활동의 질에 부정적인 효과들을 갖지 않는다.

[0160] 실시예 9

[0161] 정신 유기학적 증후군(psychoorganic syndrome)의 치료를 위한 본 출원의 화합 약제학적 조성물의 특성들을 연구하기 위해, 중량이 300 mg인 정제들을 사용하였다. 정제들을 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30, C200의 동일한 혼합물인, 초기 용액(농도 2.5mg/ml)을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200}배 초 희석시켜 수득한, 초 저 용량(ULD)의 폴리클로날 친화성 정제된 토끼 뇌-특이 단백질 항체들 S-100(항-S100) 및 내피 NO-신타제에 대한 폴리클로날 친화성 정제된 토끼 뇌-특이 단백질 항체들(항-eNOS)의 활성화되고 강화된 형태들("ULD의 항-S100 + 항-eNOS")의 수성-알코올 용액들(6 mg/정제)를 함유하는 약제학적 조성물로 함침시켰다.

[0162] 대조군 환자들에게 초기 용액(농도 2.5mg/ml)을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200}배로 초 희석시켜 수득한, 초 저 용량들(ULD)의 폴리클로날 친화성 정제된 토끼 뇌-특이 단백질 항체들 S-100(항-S100)의 활성화되고 강화된 형태들의 수성-알코올 용액들(6 mg/정제)를 함유하는 약제학적 조성물로 함침시킨 300mg의 정제들을 제공하였다.

[0163] 연구는 외상후 기원의 정신유기 증후군으로 진단된 환자들을 포함하였다. 정신유기 증후군은 다음의 3개의 징후들을 특징으로 한다: 기억, 지능의 고리(loop), 영향의 불연속의 약화[왈터 부엘 트리아드(Walther Buel triad)].

[0164] 연구는 외상후 기원의 정신유기학적 증후군을 지닌 환자들에서 치료요법의 역가 및 안전성의 개방-표지된 무작위처리된 비교 평행 군 임상 시험이었다(환자들의 제1 군은 ULD의 항-S100을, 환자들의 제2 군은 ULD의 항-S100+항-eNOS 제제들을 섭취하였다).

[0165] 연구는, 정신유기학적 증후군으로 진단된 35 내지 90세(평균 연령 70.83±21 .95)의 환자들 6명을 포함하였다.

[0166] 다음의 포함 및 제외 기준들에 대한 환자들의 순응도를 점검하였다:

[0167] 포함 기준들:

[0168] 1. 병력, 신경학적 실험들 및 의학적 기록들에 의해 확인된, 정신유기학적 증후군을 지닌 외상후 뇌병 또는 정신유기학적 증후군을 지닌 복잡한 병인론(혈관, 외상 후)의 뇌병으로 진단된 환자들.

[0169] 2. 방문 1 전 적어도 1개월 내에 동시 치료요법에서 변화가 없던 환자.

[0170] 3. 전체 관찰 기간 동안 동시 치료요법에서 변화가 요구되지 않음.

[0171] 4. 다음 6개월 동안 면역조절 약물들 처방이 요구되지 않음.

[0172] 5. 연구원 및 연구 협력자와 적절히 소통하기에 충분한 교육 수준을 가진 환자들.

[0173] 6. 신뢰할 수 있고 연구원이 계획한 모든 임상 방문들, 시험들 및 프로토콜에서 규정된 처리절차들을 수행할 준비가 된 것으로 평가된 환자들.

[0174] 7. 확실한 집 주소를 가진 환자들.

[0175] 제외 기준:

[0176] 1. 병력에서 어떠한 뇌 수술.

[0177] 2. 급성 심근 경색.

[0178] 3. 출혈성 뇌졸중

[0179] 4. 병력에 있는 정신병, 양극성 장애 또는 분열정동병의 진단.

[0180] 5. 국제 신경병리학적 미니-인터뷰(international neuropsychiatric mini-interview: MINI)의 우울증 모듈의 기준에 따른 주요 우울병.

[0181] 6. 연구원의 의견에 따르면 연구시 환자들에 대한 시험 결과들에 영향을 미칠 수 있는 의학적 또는 다른 특징의 인자들/조건들.

[0182] 7. 우울증 설문지(Beck Depression questionnaire: 특별한 계획없이 때때로 움직일 의도가 있는 능동적인 자살 사고, 또는 구체적인 계획 및 의도를 가진 능동적인 자살 사고)의 단락 "I"에서 답변들 "2A", "2B", "2C" 또는 "3".

[0183] 8. 병력에 있는 자가면역병.

[0184] 9. 간의 급성 손상 또는 심각한 간경화증[차일드-푸흐(Child-Pugh)에 의해 C 등급].

[0185] 10. 갑상샘 기능의 교정되지 않은 질환.

[0186] 11. 병력에 있는 대상부전된 동맥 고혈압.

[0187] 12. 심각하거나 대상부전된 심혈관병, 간 질병, 신장병, 대사, 호흡기 또는 혈액학적 질병, 증상성 말초 혈관병 또는 연구원의 의견에 따라 연구시 환자의 참여에 영향을 미칠 수 있거나 연구 기간 동안 연장된 입원 또는 재-입원을 초래할 수 있는 다른 의학적 또는 정신의학적 상태.

[0188] 13. 연구원의 의견에 따라 연구시 참여로부터 환자를 예방할 수 있는 질병들 및 상태들.

[0189] 14. 연구에 포함 전 ULD의 항-eNOS를 함유하는 약물 또는 ULD의 항-S100을 함유하는 약물의 섭취.

[0190] 15. 식물 및 동종요법적 제제들을 포함하는 어떠한 군의 항우울제들의 섭취.

[0191] 16. 식물 및 동종요법적 제제들을 포함하는 특정 군의 항불안제들의 섭취.

[0192] 17. 식물 및 동종요법적 제제들을 포함하는 면역조절인자들의 섭취.

[0193] 18. 방문 0 이전 1개월내 전신계 스테로이드들을 사용한 치료.

[0194] 19. 환자들이 적어도 1회 용량의 제제를 섭취한 경우 ULD의 항-eNOS를 함유하는 약물 또는 ULD의 항-S100을 함유하는 약물에 대한 연구의 참여.

[0195] 20. 당해 연구에 포함되기 전 1개월 내에 다른 임상 연구들의 참여.

[0196] 21. 연구 기간 동안 및 연구된 약물의 최종 섭취 후 1개월 내 임신, 수유, 적절한 피임의 사용에 대한 불가능성.

[0197] 22. 락토오스 과민증을 포함하는 약물들의 어떠한 성분의 알레르기/과민증의 존재.

[0198] 23. 마약 약물들 및 신경이완제들을 섭취하는 환자들, 환자들에서 알코올 의존성, 정신 질환들.

[0199] 24. 수행된 연구와 직접 관련된 연구 센터의 직원이고/이거나 진행중인 연구와 직접 관련된 연구 센터 직원의 가족 구성원들인 환자들. "가족 구성원들"은 남편(부인), 부모들, 아이들, 형제들(자매들)이다.

[0200] 25. 사법 절차에 있는 시험에 참여 또는 연구원의 의견에 따라 사법 절차에 있는 보상의 수령 가능성, 또는 사법 절차에 참여 중.

[0201] 포함 및 제외 기준에 대한 환자 순응도의 측정 후 환자들을 2개의 연구 군들: ULD의 항-S100을 투여받는 환자들의 군(3명의 환자들, 여성 - 33.33%, 남성 - 66.66%, 평균 연령 - 71.33 ± 16.25세), ULD의 항-S100 + 항-eNOS를 투여받는 환자들의 군(3명의 환자들, 여성 - 66.66 % 남성 - 33.33 %, 평균 연령 - 70.33 ± 30.66세)로 무작위 배정하였다.

[0202] 당해 연구 기간 동안 5회의 방문들이 수행되었다. 치료 단계는 평균 84 ± 5일 동안 방문 1 내지 방문 4로 지속되었다. 방문 4(84 ± 5일)는 후속 관찰을 수반하는 연구의 제1 종점이었다. 후속 단계는 방문 4 내지 방문 5에서 지속하였다(평균 168±5일).

[0203] 안전성 분석에 연구에 참여하는 모든 환자들(n = 6)의 데이터를 포함시켰다. 연구 기간 동안 약물의 우수한 내성을 기록하였다. 부작용들은 등록하지 않았다. 연구한 군들의 모든 환자들은 프로토콜에 따라 치료를 완료하였다; 조기 중지는 없었다.

[0204] 환자로 참여하는 개인의 수반된 고통의 강도(NPI 신경정신병학 인벤토리, 고통 절) 및 또한 환자의 인지 기능들[최소 정신 상태 검사(The Mini Mental State Examination), MMSE]에 대한, 그리고 정신 유기학적 증후군의 주요 임상 징후들 및 증상들(NPI 신경정신병학 인벤토리, 강도 절)에 대한 ULD의 항-S100 + 항-eNOS 제제의 효과를 평가하였다. 방문 4에서 NPI 신경정신병학 인벤토리의 강도 절의 유의한 감소(91.0±15.13으로부터 69.0±6.24로, $p<0.05$), NPI 신경정신병학 인벤토리의 고통 절 점수의 감소(44.33±17.78로부터 36.33±3.21로, $p<0.05$)와 같은 정신 유기학적 증후군의 주요 증상들에 있어서 개선이 발견되었다(표 15).

[0205] ULD의 항-S100 만을 투여받은 환자들의 군에서는 임상적 개선이 기록되지 않았다.

[0206] 여기서, 치료요법의 말기에 NPI 신경전신병학 인벤토리의 강도 절의 총 점수에 있어서 환자들의 군들 사이의 차이는 $p<0.05$에서 통계적으로 유의하였다.

표 15

	NPI (강도)	NPI (고통)	ADS-ADL	MMSE
치료 전 ULD의 항-S100 + 항-ENOS	91.0+15.13	44.33+17.78	42.66+4.93	22.33+3.21
치료 후 ULD의 항-S100 + 항-eNOS	69.0+6.244*#	36.33+3.21*	52.0+5.57	22.66+2.08
치료 전 ULD의 항-S100	114.0+25.53	45.66+14.47	33.0+13.89	22.33+4.16
치료 후 ULD의 항-S100	99.66+18.0	49.0+17.05	31.66+10.69	23.0+4.36

* 기준과 비교시 p <0.05; # 대조군과 비교시 p <0.05

[0207]

[0208] 따라서, 수행된 임상 연구에서, 정신 유기학적 증후군의 주요 임상 징후들 및 증상들 및 정신 유기학적 증후군과 함께 인지 기능들을 발휘하는 경향성에 대한 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 화합된 약제학적 조성물의 양성 효과가 존재하였다. 또한, 우수한 약물 내성이 확인되었다. 약물-관련된 부작용들은 등록되지 않았다.

[0209] 실시예 10.

[0210] 알츠하이머병(Alzheimer's disease)의 치료를 위한 본 출원의 화합 약제학적 조성물의 특성들을 연구하기 위해, 중량이 300 mg인 정제들을 사용하였다. 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물과 동등한, 초기 용액(농도 2.5mg/ml)을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200}배로 초-희석시켜 수득한 활성화되고 강화된 형태의 내피 NO-신타제에 대한 초저용량(ULD)의 폴리클로날 친화성 정제된 토끼 뇌-특이 단백질 항체들 S-100(항-S100) (비: 1:1)("ULD의 항-S100 + 항-eNOS")의 수성-알코올 용액들(6 mg/정제)를 함유하는 약제학적 조성물에 정제들을 함침시켰다.

[0211] 대조군 환자들에게 100분의 1의 동종 요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물과 동등한, 초기 용액(농도 2.5mg/ml)을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200}배로 초-희석시켜 수득한 활성화되고 강화된 형태들의 초저용량들(ULD)의 폴리클로날 친화성 정제된 토끼 뇌-특이 단백질 항체들 S-100(항-S100)의 수성-알코올 용액들(3 mg/정제)을 함유하는 약제학적 조성물에 함침시킨 300mg의 정제들을 투여하였다.

[0212] 연구에는 알츠하이머병으로 진단된 환자들이 포함되었다. 알츠하이머병은 치매(후천성 치매, 이미 습득한 지식 및 실전 기술들을 특정하게 상실하는 인지 활동의 안정한 손상, 새로운 지식을 획득하는데 어려움 또는 불가능)를 특징으로 한다.

[0213] 연구는 약한 내지 중간의 알츠하이머병이 있는 환자들의 치료시 2개의 평행한 군들(ULD의 항-S100 및 ULD의 항-S100+항-eNOS의 제제들)에서 치료요법의 효능 및 안전성에 대한 공개-표지, 무작위 배정된 비교 임상 시험이었다.

[0214] 연구는, 경도 내지 중등도의 알츠하이머병으로 진단된 55 내지 64세(평균 연령 59.0±3.58)의 환자들 6명을 포함하였다.

[0215] 다음의 포함 및 제외 기준들에 대한 환자들의 순응도를 점검하였다:

[0216] 포함 기준들은 다음과 같다:

[0217] 1. 병력, 신경학적 실험들 및 의학적 기록들에 의해 확인된, 약한 내지 중간의 알츠하이머병을 지닌 환자들.

[0218] 2. 방문 1 전 적어도 1개월 내에 동시 치료요법에서 변화가 없는 환자.

[0219] 3. 전체 관찰 기간 동안 동시 치료요법에서 변화가 요구되지 않음.

[0220] 4. 다음 6개월 동안 면역조절 약물들 처방이 요구되지 않음.

[0221] 5. 연구원 및 연구 협력자와 적절히 소통하기에 충분한 교육 수준을 가진 환자들.

[0222] 6. 신뢰할 수 있고 연구원이 계획한 모든 임상 방문들, 시험들 및 프로토콜에서 규정된 처리절차들을 수행할 준비가 된 것으로 평가된 환자들.

[0223] 7. 확실한 집 주소를 가진 환자들.

[0224] 제외 기준들은 다음과 같다:

[0225] 1. 병력에 있는 어떠한 뇌 수술.

[0226] 2. 급성 심근 경색.

[0227] 3. 출혈성 뇌졸중.

[0228] 4. 병력에 있는 정신병, 양극성 장애 또는 분열정동병의 진단.

[0229] 5. 국제 신경병리학적 미니-인터뷰(MINI)의 우울증 모듈의 기준들에 따른 주요 우울병.

[0230] 6. 연구원의 의견에 따른 연구시 환자들에 대한 시험 결과들에 영향을 미칠 수 있는 의학적 또는 다른 특징의 인자들/조건들.

[0231] 7. 우울증 설문지(특별한 계획없이 때때로 움직일 의도가 있는 능동적인 자살 사고, 또는 구체적인 계획 및 의도를 가진 능동적인 자살 사고)의 절 "I"에서 답변들 "2A", "2B", "2C" 또는 "3".

[0232] 8. 병력에서 자가면역병.

[0233] 9. 간의 급성 손상 또는 심각한 간경화증[차일드-푸흐에 의해 C 등급].

[0234] 10. 갑상샘 기능의 교정되지 않은 질환.

[0235] 11. 병력에 있는 대상부전된 동맥 고혈압.

[0236] 12. 심각하거나 대상부전된 심혈관병, 간 질병, 신장병, 대사, 호흡기 또는 혈액학적 질병, 증상성 말초 혈관병 또는 연구원의 의견에 따라 연구시 환자의 참여에 영향을 미칠 수 있거나 연구 기간 동안 연장된 입원 또는 재-입원을 초래할 수 있는 다른 의학적 또는 정신의학적 상태.

[0237] 13. 연구원의 의견에 따라 연구 참여로부터 환자를 예방할 수 있는 질병들 및 상태들.

[0238] 14. 연구에 포함 전 ULD의 항-eNOS를 함유하는 약물 또는 ULD의 항-S100을 함유하는 약물의 섭취.

[0239] 15. 식물 및 동종요법적 제제들을 포함하는, 어떠한 군의 항우울제들의 섭취.

[0240] 16. 식물 및 동종요법적 제제들을 포함하는, 특정 군의 항불안제들의 섭취.

[0241] 17. 식물 및 동종요법적 제제들을 포함하는 면역조절인자들의 섭취.

[0242] 18. 방문 0 이전 1개월내 전신계 스테로이드들을 사용한 치료.

[0243] 19. 환자들이 적어도 1회 용량의 제제를 섭취한 경우 ULD의 항-eNOS를 함유하는 약물 또는 ULD의 항-S100을 함유하는 약물에 대한 연구의 참여.

[0244] 20. 당해 연구에 포함되기 전 1개월 내에 다른 임상 연구들의 참여.

[0245] 21. 연구 기간 동안 및 연구된 약물의 최종 섭취 후 1개월 내 임신, 수유, 적절한 피임의 사용에 대한 불가능성.

[0246] 22. 락토오스 과민증을 포함하는 약물들의 어떠한 성분의 알레르기/과민증의 존재.

[0247] 23. 마약 약물들 및 신경이완제들을 섭취하는 환자들, 환자들에서 알코올 의존성, 정신 질병들.

[0248] 24. 환자들은 수행된 연구와 직접 관련된 연구 센터의 직원이고/이거나 진행중인 연구와 직접 관련된 연구 센터 직원의 가족 구성원들이다. "가족 구성원들"은 남편(부인), 부모들, 아이들, 형제들(자매들)이다.

[0249] 25. 사법 절차에 있는 시험에 참여 또는 연구원의 의견에 따라 사법 절차에 있는 보상의 수령 가능성, 또는 사법 절차에 참여 중.

[0250] 포함 및 제외 기준들에 대한 환자 순응도의 측정 후 환자들을 2개의 연구 군들: ULD의 항-S100을 투여받는 환자들의 군(3명의 환자들, 여성 - 100%, 남성 - 0%, 평균 연령 - 59.0 ± 3.6세), ULD의 항-S100 + 항-eNOS를 투여받는 환자들의 군(3명의 환자들, 여성 -66.66 % 남성 - 33.33 %, 평균 연령 - 59.0 ± 4.36세)로 무작위 배정하였다.

[0251] 당해 연구 동안 5회의 방문들이 수행되었다. 치료 단계는 평균 84 ± 5일 동안 방문 1 내지 방문 4로 지속되었다. 방문 4(84 ± 5일)는 후속 관찰을 수반하는 연구의 제1 종점이었다. 후속 단계를 방문 4 내지 방문 5에서 지속하였다(평균 168±5일).

[0252] 안전성 분석에 연구에 참여하는 모든 환자들(n = 6)의 데이터가 포함되었다. 연구 기간 동안 약물의 우수한 내성을 기록하였다. 부작용들은 등록하지 않았다. 연구한 군들의 모든 환자들은 프로토콜에 따라 치료를 완료하였다; 조기 중지는 없었다.

[0253] 환자로 참여하는 개인의 수반된 고통의 강도(NPI 신경정신병학 인벤토리, 고통 절) 및 또한 환자의 인지 기능들(미니 정신 상태 실험, MMSE)에 있어서, 알츠하이머병의 주요 임상 징후들 및 증상들(NPI 신경정신병학 인벤토리, 강도 절)에서 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 효과를 평가하였다. 방문 4에서 NPI 신경정신병학 인벤토리의 강도 절의 통계적으로 유의한 감소(24.33±4.73으로부터 12.0±3.46으로, $p<0.05$)와 같은 알츠하이머병의 주요 증상들에 있어서 개선이 발견되었다(표 16).

[0254] 환자로 참여하는 개인의 고통의 감소 및 치료요법 말기에 환자의 매일 생활의 활동에 대한 감소 경향성(그러나 어떠한 통계적으로 유의한 차이는 없으며, 이는 가능하게는 연구에 포함된 환자들의 작은 수에 기인한다)이 또한 발견되었다.

[0255] 게다가, 인지 기능들의 개선 경향성이 발견되었으며 MMSE 점수가 23.66±3.21로부터 26.66±1.53 점들까지 증가로 나타났으나, 차이는 또한 치료요법의 말기에 통계적으로 유의한 값들을 도출하는데 실패하였고, 이는 또한 작은 샘플 크기와 관련될 수 있다.

[0256] ULD의 항-S100을 제공받은 환자들의 군에서 동일한 종점들은, MMSE 점수가 22.66±0.58로부터 23.33±0.58 점들로 통계적인 명백하게 개선된 것 외에는, 개선 경향을 나타내지 않았다.

[0257] 여기서, 치료요법의 말기에 총 MMSE 점수에 있어서 환자들의 군들 사이의 차이는 $p<0.05$에서 통계적으로 유의적이었다.

표 16

	NPI (강도)	NPI (고통)	ADCS-ADL	MMSE
치료 전 ULD의 항-S100 + 항-eNOS	24.33±4.73	9.66±1.53	71.0±6.56	23.66±3.21
치료 후 ULD의 항-S100 + 항-eNOS	12.0±3.46 *	5.0±3.61	74.33±2.51	26.66±1.53#
치료 전 ULD의 항-S100	35.66±5.50	22.33±5.50	61.66±5.13	22.66±0.58
치료 후 ULD의 항-S100	38.33±8.5	23.0±5.0	61.33±5.86	23.33±0.58

* 기준과 비교시 p < 0.05; # 대조군과 비교시 - p <0.05

[0258]

[0259] 따라서, 수행된 임상 연구에서 알츠하이머병의 임상 징후들 및 증상들 및 알츠하이머 병으로 인지 기능들을 발휘하는 경향성에 대하여 ULD 항-S100 + 항-eNOS의 배합 약제학적 조성의 양성 효과가 존재하였다. 또한, 우수한 약물 내성이 확인되었다. 약물-관련된 부작용들은 등록되지 않았다.

[0260] 실시예 11.

[0261] 제1군 - 활성 약물 군에게 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물과 동등한, 초기 용액(농도 2.5mg/ml)을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200}배로 초-희석시켜 수득한, 항체에서 정제된, 뇌-특이 단백질 S-100에 대한 폴리클로날 토끼 항체들(항-S100) 및 내피 NO-신타제에 대한 폴리클로날 토끼 항체들(항-eNOS)의 활성화되고 강화된 형태들의 초저용량("ULD의 항-S100 + ULD의 항-eNOS")의 알코올 수용액들(6 mg/정제)에 함침시킨 300mg의 정제들을 투여하였다;

[0262] 제2군 - 비교군에게 동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물과 동등한, 초기 용액을 100^{12}, 100^{30}, 100^{50}배 초-희석시켜 수득한, 항원에서 정제된, 뇌-특이 S-100 단백질에 대한 활성화되고 강화된 형태들의 폴리클로날 토끼 항체들의 초저용량(ULD의 항-S100)의 수성-알코올 용액들(3 mg/정제)에 함침시킨 300mg의 정제들을 투여하였다.

[0263] 제3군- 대조군(위약)에게 부형제들(락토오스 일수화물 - 267 mg, 미세결정성 셀룰로오스 - 30 mg, 스테아르산마그네슘 - 3 mg)을 함유한 300mg의 정제들을 투여하였다.

[0264] 주의력 결핍 증후군 및 과다활성 장애(ADHD)를 지닌 환자들의 치료시 활성 약물인 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 효과를 처방된 치료요법에 따라 3개군들로 무작위 배정한 6 내지 12세(평균 연령 9.3±0.24세)의 146명 어린이에서 비교 이중 맹검 위약-대조 연구에서 평가하였다. 12주 내에 제1군의 환자들(n = 46)에게 ULD의 항-S100 + 항-eNOS 조성물을, 1일 2회 2개 정제로 투여하고; 비교 제2군 구성원들(n = 50)에게 ULD의 항-S100을, 1일 2회 2개 정제로 투여하며; 대조군 제3군 구성원들(n = 50)에게 1일 2회 2개 정제를 투여하였다. 연구에 포함된 환자들 모두는 ADHD 증상들 평가 척도(ADHD symptoms assessing scale)(ADHDRS-IV-Home Version)에서 높은 점수들로 확인된 ADHD의 표상을 임상적으로 표시하였다: 제1군에서 33.8±0.92; 제2군에서 32.5±1.14 및 제3군에서 33.6±0.91. 대부분의 어린이들은 CGI-ADHD-중증도 설문지에 따라 ADHD의 중증도가 중간 정도인 것을 특징으로 하였다. 당해 척도에서 총 점수는 제1군에서 4.0±0.02 점들이었고 제2군에서 4.0±0.03 점들이었으며, 제3군에서 4.0±0.00 점들이었다. 따라서, 3개군들의 환자들은 초기에 ADHD의 중증도를 비교할 수 있는 지표들을 가졌다. 연구에 포함되는 시기에 신경학적, 임상-실험실 및 장치 실험의 결과들에 따라 어떠한 환자에서도 비정상은 탐지되지 않았다. 치료 12주에 걸쳐 환자들을 의사가 6회 관찰하였다. 이 기간 동안 주치의-연구원은 ADHD의 임상적 표상들의 강도(척도 ADHDRS-IV-Home Version에서 총 점수) 및 질병 중증도(CGI-ADHD-중증도에 있어서)의 역학을 기록하고, 치료의 처방들 및 투여를 관리하고 치료의 안전성을 평가하였다.

[0265] 3개군들에서 치료요법의 12주의 효과의 분석은 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물로 치료한 어린이들 중 75%(n = 36)에서; ULD의 항-S100으로 치료한 환자들중 66% (n = 33)에서 및 위약을 투여받은 어린이들중 56% (n =

28)에서 척도 ADHDRS-IV-Home Version에서의 초기 총 점수로부터 25% 이상의 감소를 나타내었다. 상태 개선의 3개-수치 등급(척도 ADHDRS-IV의 기준에서 <25%, 25-49.9% 또는 ≥ 50%의 총 점수의 감소)를 고려하여, 보다 상세한 평가를 나타내는 군들 사이의 효과의 차이들을 표 17에 나타낸다. 기준의 총 점수에서 50% 이상 감소된 유의한 개선은 ULD의 항-S100 + 항-eNOS를 섭취한 제9군의 어린이들 중 52%, 및 ULD의 항-S100을 섭취한 제2군에서 어린이들 중 34%(대 위약을 섭취한 제3군의 환자들 중 8%)에서 주의를 끌었다.

[0266] 초기 상태와 비교하여 ADHD의 임상 결과의 유의한 감소($p < 0.001$)는 모든 3개의 관찰군들에서 치료요법의 2주 후 이미 발생한다. 양성 역학은, 유의한 차이들이 ADHDRS-IV-Home Version 총 점수들 사이에서, 선별 방문과 관련하여 뿐만 아니라 위약을 섭취한 제3군의 지표들과 비교하는 경우에도 확인되었으므로 제9군 및 제2군의 환자들에서 보다 유의적이었다. 후속 주들의 치료에서 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물 및 단일성분 제제 ULD-S100를 사용한 치료의 효능은 증가하기 시작하였으며, 활성 약물 군에서 가장 유의적이었다($p < 0.05$). ULD의 항-S100 + 항-eNOS를 섭취한 제9군의 어린이들에서 척도 ADHDRS-IV-Home Version에 있어 총 점수의 수득되는 감소는 16.5 점들이었고, ULD의 항-S100을 섭취한 제2군의 환자들에서는 12.4점들이었다(위약을 섭취한 제3군에서 6.3 점들과 비교하여). 12주 치료 결과로서 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물로 치료한 어린이들에서 ADHD의 임상 결과들은 대부분 반(-48.8%)으로 감소하였고 ULD의 항-S100로 치료한 환자들에서는 기준과 비교하여 1/3(-38.2%) 이상이었다.

[0267] ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물 또는 ULD의 항-S100의 섭취는 ADHDRS-IV-Home Version을 지닌 척도의 2개 단락들에 의한 평가들의 역학에 의해 확인된, ADHD의 증상들의 집단 둘 모두에 영향을 미쳤다. 또한, ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물을 사용한 치료는 결과들 및 주의력 결핍 및 과다활동/충동성의 강도에 있어서 영향 정도에 있어 단독제제인 ULD의 항-S100을 사용한 치료요법의 효과보다 유의적으로 더 높았다.

[0268] 활성 약물인 ULD의 항-S100 + 항-eNOS 및 비교 약물인 ULD-S100의 양성 치료학적 효과는 ADHD 중증도 평가(CGI-ADHR-중증도)의 척도에서 환자들의 치료 결과들의 평가시 입증되었다(표 17). ULD의 항-S100 + 항-eNOS 군에서 환자들의 대부분의 4번째 부분에서, 질환의 중증도는 척도 CGI-ADHR-중증도에 있어서 평균값에 있어 치료요법 3개월 후 15% 감소에 의해 확인된 바와 같이 중간 정도로부터 약한 정도로 및 최소의 정도로 감소하였다(4.0±0.02로부터 3.4±0.06; $p < 0.001$). 단독제제 ULD의 항-S100을 사용한 치료요법의 효과는 척도 CGI-ADHR-중증도에 있어서 3개월에 걸쳐 약간 더 낮았으며 -10%로 나타났다(위약군의 5%에 비해). 안전성 분석에는 연구에 참여하는 환자들 모두의 데이터가 포함된다. 모니터링의 전체 기간 동안 활성 약물인 ULD의 항-S100 + 항-eNOS 및 비교 제제인 ULD-S100의 내성은 둘 모두 위약에 비해 우수한 것으로 비교할 수 있었다. 부작용들은 ULD의 항-S100을 사용한 군의 1명의 환자(연구의 제4주 동안 두통들의 진정)에서, 그리고 위약군의 1명의 환자(관찰의 두번째 개월 동안 몽유병)에서 보고되었다. 이들 부작용들은 치료요법과 관련이 없었다. 또한, 치료 동안 치료요법과 또한 관련이 없는 급성 호흡병의 단일 경우들이 관찰되었다. 연구된 군들의 환자들 모두는 연구 프로토콜에 의해 정해진 계획(조기 탈락은 없음)에 대한 치료를 완료하였다. 환자들의 물리적 실험에 따라서 및 실험실 매개변수들의 반복된 분석의 과정에서 병리학적 변화들의 부재는 연구된 치료요법의 안전성을 입증하였다.

[0269] 환자들에서 물리적 실험의 결과들(심박수, SBP, DBP, 체온)에 따라서 치료 동안 어떠한 병리학적 변경들도 등록되지 않았다. 방문들에 따른 분석율들 및 비교군들에서 차이들은 통계적 유의성에 이르지 않았으며 생리학적으로 허용되는 편차들의 한계들을 초과하지 않는다. 치료요법에 대한 높은 부착 비율들은 또한 연구된 제제들의 안전성에 대해서와 같은 효과에 대한 같은 것으로서 추가로 입증되었다. 치료의 세 번째 개월의 말기까지 부착은 ULD의 항-S100 + 항-eNOS를 사용한 제9군 및 ULD의 항-S100을 사용한 제2군에서 각각 99.8±1.15% 및 98.8±2.25%이었다(위약을 사용한 제3군에서 74.6±2.54%에 비해).

[0270] 따라서, 당해 연구는, ADHD가 있는 어린이들의 치료시 ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물들 및 단일성분 제제 ULD-S100의 효능 및 안전성을 입증하였다. 12주 과정에서 가장 명확한 치료학적 효과는 어린이들의 대부분(75%)에서 임상 증상들의 양성 역학에 의해 표시된 복합 약물(ULD의 항-S100 + 항-eNOS)에서 관찰되었다. ULD의 항-S100 + 항-eNOS의 조성물은 ADHD의 증상들의 집단들 둘 모두를 교정하는 영향을 나타냈으며, 그 결과, ADHD가 있는 환자들에서 주의력 장애들 및 과다활동의 유의한 감소가 나타났다.

표 17

치료요법의 12주들의 말기까지 규모 ADHDRS-IV-Home Version에 의한 총 점수의 역학들

환자들의 군	규모 ADHDRS-IV-Home Version에 의한 총 점수가 감소된 환자들의 비율		
	기준과 비교시 25.0% 미만	기준과 비교시 25.0 내지 49.9%	기준과 비교시 50.0% 이상
ULD의 항-S100 + 항-eNOS, n-48	12 (25%)	11 (23%)	25 (52%) ##
ULD의 항-S100, n=50	17 (34%)	16 (32%)	17 (34%) ##
위약, n=50	22 (44%)	24 (48%)	4 (8%)

차이는 위약군과 비교시 유의적이다: ## p<0.01.

[0271]

표 18

척도 ADHDRS-IV-Home Version에 의한 ADHD의 임상 결과들의 증거의 역학들

치료 단계	ULD의 항 -S100 + 항 -eNOS, n=48		ULD의 항 -S100, n=50		위약, n=50	
	값 (M±SE)	기준과 비교시 △	값 (M±SE)	기준과 비교시 △	값 (M±SE)	기준과 비교시 △
총 점수						
선별	33.8 ±0.96		32.5 ± 1.14		33.6 ± 0.91	
2 주째	24.1 ±0.97 *** #	-28.7%	25.1 ± 1.03	-22.8 %	28.8 ± 1.26	-14.3 %

[0272]

			*** #		***	
4 주째	22.6 ±0.98 *** ##	-33.1%	22.7 ± 1.23 *** ##	-30.2 %	29.9 ± 1.06 ***	-11.0 %
6 주째	19.4 ±0.95 *** ##	-42.6%	20.8 ± 1.06 *** ##	-36.0 %	29.0 ± 1.25 ***	-13.7 %
8 주째	18.9 ±0.94 *** ##	-44.1%	20.9 ± 1.30 *** ###	-35.7 %	27.6 ± 1.35 ***	-17.9 %
12 주째	17.3 ±0.96 *** ## &	-48.8%	20.1 ± 1.21 *** ###	-38.2 %	27.3 ± 1.48 ***	-18.8 %
주의력 장애를						
선별	18.4 ±0.55		17.4 ± 0.57		18.4 ± 0.43	
2 주째	12.8 ±0.57 *** #	-30.4%	13.7 ± 0.68 *** #	-21.3 %	16.1 ± 0.66 ***	-12.5 %
4 주째	11.6 ±0.56 *** # ##	-37.0%	12.9 ± 0.79 *** ###	-25.9 %	16.4 ± 0.57 ***	-10.9 %
6 주째	10.7 ±0.54 *** ###	-41.8%	11.9 ± 0.64 *** ###	-31.6 %	16.0 ± 0.70 ***	-13.0 %
8 주째	10.3 ±0.53 *** ###	-44.0%	11.5 ± 0.70	-33.9 %	15.1 ± 0.76	-17.9 %

[0273]

			*** ###		***	
12 주째	9.7 ±0.55 *** ##&	-47.3%	11.4 ± 0.68 *** ##	-34.5 %	14.9 ± 0.78 ***	-19.0 %
과다 활동/충동						
선별	15.4 ±0.61		15.1 ± 0.77		15.2 ± 0.62	
2 주째	11.3 ±0.63 ***	-26.6%	11.4 ± 0.61 ***	-24.5 %	12.7 ± 0.74 ***	-16.4 %
4 주째	11.0 ±0.62 *** ###	-28.6%	9.8 ± 0.64 *** ###	-35.1 %	13.5 ± 0.67 **	-11.2 %
6 주째	8.7 ±0.59 *** ##	-43.5%	8.9 ± 0.64 *** ###	-41.1 %	12.9 ± 0.73 **	-15.1 %
8 주째	8.6 ±0.60 *** ##	-44.2%	9.5 ± 0.76 *** ##	-37.1 %	12.5 ± 0.81 ***	-17.8 %
12 주째	7.6 ±0.57 *** ###&	-50.6%	8.7 ± 0.70 *** ###	-42.4 %	12.5 ± 0.82 ***	-17.8 %

차이는 기준 매개변수와 비교시 유의적이다:
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001.
차이는 위약 군과 비교시 유의적이다:
# p<0.05,## p<0.01,### p<0.001.
차이는 ULD의 항-S100의 군과 비교시 유의적이다: &p<0.05.

[0274]

표 19

척도 CGI-ADHD-중증도에 의한 ADHD의 중증도 수치의 역학들

매개변수		
	ADHD 중증도	
	M±SE	기본선으로부터 △
ULD의 항-S100 + 항-eNOS, n=48		
선별	4.0±0.02	
4 주차	3.6±0.02**	-10%
12 주차	3.4±0.06***	-15%
ULD의 항-S100, n=50		
선별	4.0±0.03	
4 주차	3.8±0.06**	-5%
12 주차	3.6±0.08***	-10%
위약, n=50		
선별	4.0±0.01	
4 주차	3.9±0.05	-2.5%
12 주차	3.8±0.06***	-2.5%

차이는 기준 매개변수와 비교시 유의적이다: ** p<0.01, *** p<0.001.

[0275]

[0276] 실시예 12.

[0277] CHF 병리학의 주요 매개변수들을 평가하기 위한, 만성 심부전을 지닌 사람 환자들에서 C12, C30, C200의 동종 요법 희석액의 혼합물 중 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들과, C12, C30, C200의 동종 요법 희석액의 혼합물 중 내피 NO-신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들의 화합물의 이중 맹검 위약-대조 임상 연구.

[0278] 80명의 환자들[II-IV 기능성 부류(FC)의 CHF, 40% 미만의 좌심실구혈 분획(left ventricular ejection fraction: LVEF)]을 6개월 동안 연구하기 위해 4개의 동일한 치료군 및 대조군들로 나누었다. 배경 치료요법은 중지하지 않았다[비소프롤롤 β-차단제, ACE 억제제 에날라프릴, 아스피린(금지되지 않는 경우); 이뇨제들, 니트레이트들, 디곡신의 투여 또한 허용되었다]. 제1군은 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단 단편(동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물)에 대한 활성화되고 강화된 형태(3개 정제들/일, n=20)의 항체들을 투여받았다. 제2군은 내피 NO-신타제(동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물)에 대한 활성화되고 강화된 형태(3개 정제들/일, n=20)의 항체들을 투여받았다. 제3군은 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단 단편(동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물)에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들 및 내피 NO-신타제(동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물)에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들 둘 모두를 포함하는 화합 약제학적 조성물(3개 정제들/일, n=20)을 투여받았다. 제4군은 위약(3개 정제들/일, n=20)을 투여받았다. 군들을 초기 연구 매개변수들: 연령 및 성별, 및 질병의 중증도(CHF 및 LVEF의 부류) 및 질병의 기간에서 비교할 수 있었다.

[0279] 치료 전 및 후에, 환자들을 CHF 프로세스 및 진행을 위해 중요한 내피 기능장애 및 혈관 리모델링시 투여된 약물들의 효과에 대해 평가하였다. 혈관 리모델링의 과정들에 있어 약물들의 효과들은 동맥들에서 경동맥 대퇴부

(CF)(탄성 유형) 및 경동맥 방사상(CR)(근육형) 분절들에서 맥파 속도(PWV)["콜슨" 시스템("Colson" system)]에 의해 평가하였다.

[0280] 표 20은 동맥들의 경동맥-대퇴부(CF)(탄성 유형) 및 경동맥 방사상(CR)(근육 유형) 분절들에서 맥파 속도의 비율들의 역학을 나타낸다.

표 20

군들/ 매개변수들	안지오텐신 II의 AT1 수용체의 C-말단 단편에 대한 Abs[2]의 ULDs[1]			내피 NO-신타제에 대한 Abs의 ULD			안지오텐신 II의 AT1 수용체의 C-말단 단편에 대한 Abs[2]의 ULDs 및 NO-신타제에 대한 Abs의 ULD 병용			위약		
	^	&	Δ%	^	&	Δ%	^	&	Δ%	^	&	Δ%
CF, m/c	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
CR, m/c	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*

(^)는 초기 값을 나타낸다.
(&)는 투여 개시 후 6개월째를 나타낸다.
(*)는 〈 0.05의 p 값으로 변하는 초기 값으로부터의 차이를 나타낸다.
(#)는 〈 0.05의 p 값으로 변하는 차이를 지닌 AT1 수용체 안지오텐신 II의 C-말단 단편에 대한 Abs의 ULDs를 제공받은 군으로부터의 차이를 나타낸다.
($)는 〈 0.05의 p 값으로 변하는 차이를 지닌 내피 NO-신타제에 대한 Abs의 ULDs를 제공받는 군으로부터의 차이를 나타낸다.
(1) ULD는 초-저 용량들을 나타낸다.
(2) Abs는 항체들을 나타낸다.

[0281]

[0282] 치료 6개월 후, 제3군만이 근육 유형 동맥들의 강직성에 있어서 특허청구된 약제학적 조성물의 입증된 효과를 나타내었다. 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단 단편에 대한 항체들의 ULD를 투여받은 제1군, 및 본 발명의 조성물 약제학적 조성물을 투여받은 제3군은 탄성 유형 동맥들의 강직성에 있어서 입증된 증가를 나타내었다.

[0283] 실시예 13.

[0284] 삶의 질의 주요 측정을 평가하기 위한, 만성 심부전을 지닌 사람 환자들에서, C12, C30, C200의 동종 요법 희석액의 혼합물 중 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단 단편에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들과, C12, C30, C200의 동종 요법 희석액의 혼합물 중 내피 NO-신타제에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들의 화합물의 이중 맹검, 위약-대조 임상 연구.

[0285] 80명의 환자들[II-IV 기능성 부류(FC)의 CHF, 40% 미만의 좌심실구혈 분획(LVEF)]을 6개월 동안 연구하기 위해 4개의 동일한 치료군 및 대조군들로 나누었다. 배경 치료요법은 중지하지 않았다[비소프롤롤 β-차단제, ACE 억제제 에날라프릴, 아스피린(금지되지 않는 경우); 이뇨제들, 니트레이트들, 디곡신의 투여 또한 허용되었다]. 제1군에게 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단 단편(동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물)에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들(3개 정제들/일, n=20)를 투여하였다. 제2군에게는 내피 NO-신타제(동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물)에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들(3개 정제들/일, n=20)를 투여하였다. 제3군에게는 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단 단편(동종 요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물)에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들 및 내피 NO-신타제(동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물)에 대한 활성화되고 강화된 형태의 항체들 둘 모두를 포함하는 화합 약제학적 조성물(3개 정제들/일, n=20)을 투여하였다. 제4군에게는 위약을 투여하였다(3개 정제들/일, n=20). 군들을 초기 연구 매개변수들: 연령 및 성별, 및 질병의 중증도

(CHF 및 LVEF의 부류) 및 질병의 기간에 있어 비교할 수 있었다. 치료 전 및 후에, 환자들을 삶의 질(미네소타 및 칸사스 설문지들), 심장의 형태학적 매개변수들, 및 물리적 운동에 대한 내성에 대해 평가하였다.

[0286] 표 3은 치료 효능의 기본 매개변수들에 있어서 역학의 형태의 연구 결과들을 나타낸다.

[0287] 6개월 치료 후, 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단 단편에 대한 ULD의 항체들로 치료한 제1군의 환자들은 삶의 질의 유의한 개선, 좌측 심실 수축 기능의 개선, 및 물리적 운동에 대한 증가된 내성을 나타내었다. 제2군은 칸사스 설문지를 사용하여 평가한, 흥분 및 우울증 수치들 및 삶의 질에 있어서 입증된 감소를 나타내었다. 당해 연구는, 최대 치료학적 효과가 연구하에서 모든 매개변수들에 있어 입증된 양성 역학을 나타낸 제3군의 환자들에게 투여한, 표준 CHF 치료요법과 함께 본 발명의 화합 약제학적 조성물로 달성되었음을 입증하였다.

[0288] 본 발명의 약제학적 조성물(화합 약물)에서 안지오텐신 II AT1-수용체의 C-말단 단편 및 내피 산화질소 신타제(NO-신타제)에 대한 항체들의 활성화된(강화된) 형태들의 화합은 CHF 프로세스 및 진행에 중요한 내피 기능장애 및 혈관 리모델링, 및 환자의 삶의 질의 개선, 심장의 형태학적 매개변수들 및 임상 시도들에 의해 확인된 물리적 운동에 대한 내성에 있어서 향상된 영향을 암시하는 예상치 못한 상승적 치료 효과를 제공한다.

[0289] 결과들은 표 21에 명시된다.

표 21

[0290]

군들/ 매개변수들	안지오텐신 II의 AT1 수용체의 C-말단 단편에 대한 Abs[2]의 ULDs[1]			내피 NO-신타제에 대한 Abs의 ULD			안지오텐신 II의 AT1 수용체의 C-말단 단편에 대한 Abs의 ULD 및NO-신타제에 대한 Abs의 ULD의 병용			위약		
	^	&	Δ%	^	&	Δ%	^	&	Δ%	^	&	Δ%
미네소타[3]	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
칸사스[4]	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[5]	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
FC CHF[6]	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
FF LV[7]	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
6분 도보 시험	378. 7±1 2.4	419. 6±1 3.7* **	10.8	383. 1± 15.3	416. 8±1 7.2	8.8	37 8.7 ±1 2.4	450.1± 17.7** # $	18.9	390.5 ± 11.9	409.1 ±11.5	4.8

*, **, *** - 각각 〈 0.05, 0.01 및 0.001의 p 값.
- 〈 0.05의 p 값으로 변하는 안지오텐신 수용체 II의 C-말단 단편 AT1에 대한 Abs의 ULDs를 제공받은 군과의 차이.
$, $$ - 내피 NO-신타제에 대한 ABs의 ULDs를 제공받은 군과의 차이는 각각 0.05 및 0.01의 p 값에서 기변적이다.
(1) -ULD는 초 저 용량들을 의미한다.
(2) Abs는 항체들을 의미한다.
(3) "미네소타"는 미네소타 설문지를 나타낸다.
(4) "칸사스"는 칸사스 설문지를 나타낸다.
(5) HADS는 HADS 총 점수를 나타낸다.
(6) FC CHF는 만성 심부전, 기능적 부류를 지닌 환자들을 나타낸다.

[0291]

[0292] 실시예 14.

[0293] 양성 전립선 비대증을 지닌 환자들의 치료시 제안된 약제학적 조성물의 특성들을 연구하기 위하여, 100분의 1의 동종 요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물과 동일한, 초기 매트릭스 용액을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배로 초-희석시켜 생성한 전립샘 특이 항원에 대한 활성화되고 강화된 토끼 폴리클로날 친화성 정제된 항체들(항-PSA) 및 내피 NO 신타제에 대한 활성화되고 강화된 토끼 폴리클로날 친화성 정제된 항체들(항-eNOS)의 초저용량들(ULD)(ULD의 항-PSA +항-eNOS)의 수성-알코올 용액들을 함유하는 약제학적 조성물(6 mg/알약)로 포화된, 300 mg의 알약들, 및 100분의 1의 동종요법 희석액 C12, C30, C200의 혼합물과 동일한, 초기 매트릭스 용액을 100^{12}, 100^{30}, 100^{200} 배로 초-희석시켜 수득한 전립샘 특이 항원에 대한 활성화되고 강화된 토끼 폴리클로날 친화성 정제된 항체들의 초저용량들(ULD)(ULD의 항-PSA)의 수성-알코올 용액들을 함유하는 약제학적 조성물(3 mg/알약)로 포화된, 300 mg의 알약들을 사용하였다.

[0294] 양성 전립샘 비대증(BPH)은 남성들에서 가장 흔히 발생하는 장애들 중 하나이다(참조: Bruskewitz R.C., 2003; Rosen R., 2003): 한편, 러시아에서 수행된 역학적 연구들은 BPH의 빈도에 있어서 40 내지 49세에서 11.3%로부터 80세에서 81.4%로 점진적인 증가를 지적하며(참조: Gorilovskiy, L.M., 1999); 한편, WHO에서 수행된 인구통계학적 연구들은 60세를 초과하는 집단에서 어떠한 다른 연령군의 성장을 능가하는, 유의한 증가를 입증하고 있다.

[0295] 양성 전립샘 비대증의 주요 증상들은 유의한 불편함을 유발할 수 있고 삶의 질을 감소시킬 수 있는, 하부 요로

관 증상들이다(참조: Bruskewitz R.C., 2003; Lepor H., 2004; O'Leary M.P., 2005). 일부 경우들에서, 당해 질병은 급성 뇨정체, 요도관 감염, 적색뇨, 신부전과 같은 합병증들을 동반할 수 있다(참조: Stepanov, V.N., 1999; Jacobsen S.J., 1997; Lepor H., 2004). BPH는 또한 환자들에서 발기 기능장애의 발달과 관련되어 있다(참조: Bruskewitz R.C., 2003; Daly MP, 2005).

[0296] 양성 전립샘 비대증(BPH)에 의해 유발된 요도 장애들을 완화시키는데 있어서 ULD의 항-PSA + ULD의 항-eNOS 및 ULD의 항-PSA를 함유하는 약제학적 조성물들의 효능 및 안전성의 공개-표지된 비교 평행군 연구는 포함/제외 기준에 따라 선별된 40명의 환자들을 포함하였다. 환자들은 2개 군들, 즉 ULD의 항-PSA +항-eNOS를 12주 동안 1개 알약을 1일에 3회 투여받는 1개 군(n=21), 및 ULD의 항-PSA를 12주 동안 1개 알약을 1일에 3회 투여받는 다른 1개 군(n=19)으로 무작위 배정하였다. 군들은 연령, BPH 증상들의 중증도, 배뇨 매개변수들 및 전립샘 용적에서 비교가능하였다.

[0297] 연구는 6개월 미만 동안 BPH의 병력, 하부 요도관의 상응하는 증상들, IPSS≥13, 경직장초음파촬영술에 따른 전립샘 용적 ≥30 cm^3, ≤4 ml/s 및 ≤15 ml/sc의 최대 뇨 흐름 속도 및 125 ml에 필적하는 최소의 잔류 뇨 용적, 및 ≤4 ng/ml의 PSA 수치를 지닌 45세 초과의 환자들을 포함하였다. 필수적인 포함 기준은 의료 기록들에서 연구에 포함되기 전 6개월 동안 다음의 약물들: 피나스테라이드, 두타스테라이드, 또는 다른 실험 약물, 연구에 포함되기 4주 전 α1-아드레노수용체 차단제들 및 본초 약물들, 연구에 포함되기 4주 전 포스포디에스테라제 제5 유형의 어떠한 억제제들 및 다른 발기 기능장애 치료제들을 섭취하지 않은 것이다.

[0298] 연구는 경요도전립선절제술, 열요법, 경요도적 바늘 제거(transurethral needle ablation), 스텐트 혈관형성술(stent angioplasty) 및 기타; 악성 종양학적 질병, 급성 배뇨 지연(acute urination delay), 방광결석들, 요도 협착, 마리온스병(Marion's disease), 활성 염증 상의 비뇨생식계 감염들 및 기타 것들을 포함하는, BPH의 치료의 침습성 방법들을 경험한 환자들을 포함하지 않았다.

[0299] 약제학적 조성물들의 임상 효능은 IPSS 설문지[국제 전립샘 증상 점수(International Prostate Symptom Score)]를 사용하여 평가한 하부 요도관의 임상 증상들, 배뇨 매개변수들(최대 및 평균 뇨 흐름 속도, 뇨 용적, 잔류 뇨의 용적) 및 경요도 초음파(transurethral ultrasound: TU)의 데이터를 기초로 한 전립샘 용적의 개선으로 평가하였으며, 또한 발기 기능을 IIEF 설문지(발기 기능의 국제 지표: International Index of Erectile Function)로부터 수득한 데이터를 기초로 평가하였다. 연구 결과들은 표들 22 및 23에 나타낸다.

표 22

	ULD 항 -PSA				ULD 항 -PSA + ULD 항 -eNOS			
	n/N(%)[1]	초기, 평균	12 주, 평균	Δ, cp	n/N (%)[1]	초기, 평균	12 주, 평균	Δ, cp
IPSS,점수	19/19 (100.0)	17.8	11.9	-5.9	20/21 (95.2)	16.0	10.5	-5.6
QoL/, 점수 (삶의 질)	19/19 (100.0)	3.4	2.4	-1.0	20/21 (95.2)	3.4	2.3	-1.1
IIEF, 점수	2/19 (10.5)	17.8	18.6	0.8	4/21 (19.0)	17.5	18.9	1.4
Qmax, ml/s (최대 뇨 비율)	16/19 (84.2)	10.8	13.1	2.2	15/21 (71.4)	11.7	13.7	2.0
Qave, ml/s (평균 뇨 비율)	15/19 (78.9)	5.8	7.1	1.3	18/21 (85.7)	5.8	7.1	1.3
V, ml (배뇨의 용적)	10/19 (52.6)	218.6	206.8	-11.8	15/21 (71.4)	203.7	252.0	48.3
RV, ml (뇨의 잔류 용적)	15-19 (78.9)	23.6	19.4	-4.3	14/21 (66.6)	19.1	14.1	-5.0
PV, cm^3 (전립선 용적)	18/19 (94.7)	55.9	48.9	-7.0	15/21 (71.4)	57.0	52.4	-4.6

1- 분자는 개선을 나타내는 환자들의 수(n)이고, 분모는 연구에서 환자들의 총 수(N)이다.

[0300]

표 23

폐쇄적 및 자극적 증상들의 소척도들의 역학, 및 IPSS 설문지의 7번째 질문

	ULD 항 -PSA		ULD 항 -PSA + 항 -eNOS	
	M±SD 방문 1	M±SD 방문 2	M±SD방문 1	M±SD 방문 2
폐쇄	10.0±3.02#	6.5±2.81***	8.2±2.96	6.0±3.39**
자극	7.5±2.21&	5.3±1.90***	7.8±2.16&	4.5±2.34***
7번째 질문	2.1±0.78	1.9±0.75	2.3±0.90	1.4±0.98***
폐쇄., %[2]		-33.4±26.85		-25.2±34.50
자극., %[2]		-28.2±1730		-40.3±30.35
7번째 질문 %[2]		-2.0±49.61##		-37.7±39.23

* p<0.05 대 기준; ** p<0.01 대 기준; *** p<0.001 대 기준

p<0.01 대 ULD의 항-PSA

[2] 기준과 비교하여 감소 %, 평균 그룹 값을 나타낸다.

[0301]

[0302] 제공된 데이터는, ULD의 항-PSA, 및 ULD의 항-PSA + ULD의 항-eNOS 둘 모두를 사용하여 하부 요도관의 증상들을 효과적으로 치료하고, 평균 및 최대 뇨 흐름 속도를 증가시키며, 환자들의 삶의 질을 개선시킨다는 것을 입증한다(표 22). 연구 코스가 길지 않으므로(12주), 전립샘 용적에 있어서의 감소는 어떠한 연구군에서도 관찰되지 않았다. ULD의 항-PSA는 배뇨 용적에 영향을 미치지 않았으며, 이는 52.6%의 환자들에서만 증가하였고, 평균적으로 군은 기준값들과 비교하여 11.8 ml (5.4%)까지의 배뇨 용적의 통계적으로 유의하지 않은 일부 감소를 나타내었다. 동시에, ULD의 항-PSA + ULD의 항-eNOS로 치료한 환자들은 배뇨 용적에 있어서 71 .4%의 증가를 나타내었으며, 평균적으로, 용적의 증가는 기준과 비교하여 48.3 ml(23.7%)이었다.

[0303] IPSS 소척도들에 따른 폐쇄적 및 자극적 증상들 및 야뇨증 현상(IPSS의 7번째 질문)의 역학의 분석은, 약제학적 조성물들 둘 모두 폐쇄 및 자극적 증상들의 감소, 및 또한 야뇨증 증상들의 감소에 기여하였음을 나타내었다. 동시에, ULD의 항-PSA +항-eNOS는 ULD의 항-PSA와 비교하여 하부 요도관의 자극적인 증상들(28.2% 대 40.3%, p<0.05) 및 야간 배뇨 의사들(2.0% 대 37.7%)을 감소시키는데 있어 보다 효과적이었다.

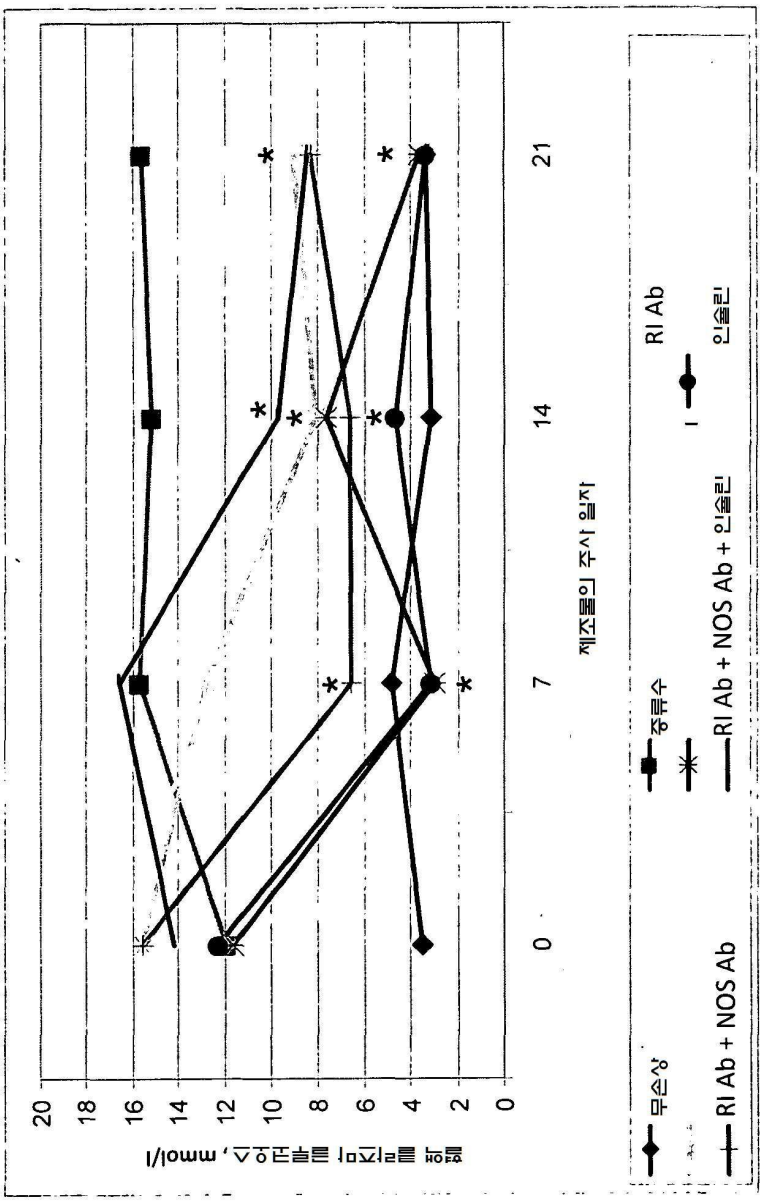
[0304] ULD의 항-PSA + ULD 항-eNOS는 또한 환자들에서 발기 기능을 개선시키는데 있어서 ULD의 항-PSA와 비교하여 보다 효과적이라는 것에 유의하여야 한다. ULD의 항-PSA + ULD의 항-eNOS 군에서, 총 IIEF(발기 기능장애의 국제 지표: International Index of Erectile Dysfunction) 점수는 환자들에서 19%까지 증가하였고(ULD의 항-PSA 군에서 10.5%까지), ULD의 항-PSA + ULD의 항-eNOS 군에서 IIEF 점수의 평균 증가는 ULD의 항-PSA 군의 4.5%에 비해 8%이었다.

[0305] 약제학적 조성물들은 탁월한 안정성 프로파일을 나타내었으며, 투여된 약물들과 관련된 부작용들은 연구의 과정에서 관찰되지 않았다.

[0306] 따라서, ULD의 항-PSA + ULD의 항-eNOS는 양성 전립샘 비대증에 의해 유발된 배뇨 문제들을 치료하는데 있어서 ULD의 항-PSA와 비교하여 보다 우수한 효능을 나타내었다. 또한, ULD의 항-PSA와 비교하여 환자들의 발기 기능에 있어서 ULD의 항-PSA+ ULD의 항-eNOS가 보다 큰 양성 효과를 나타내었다.

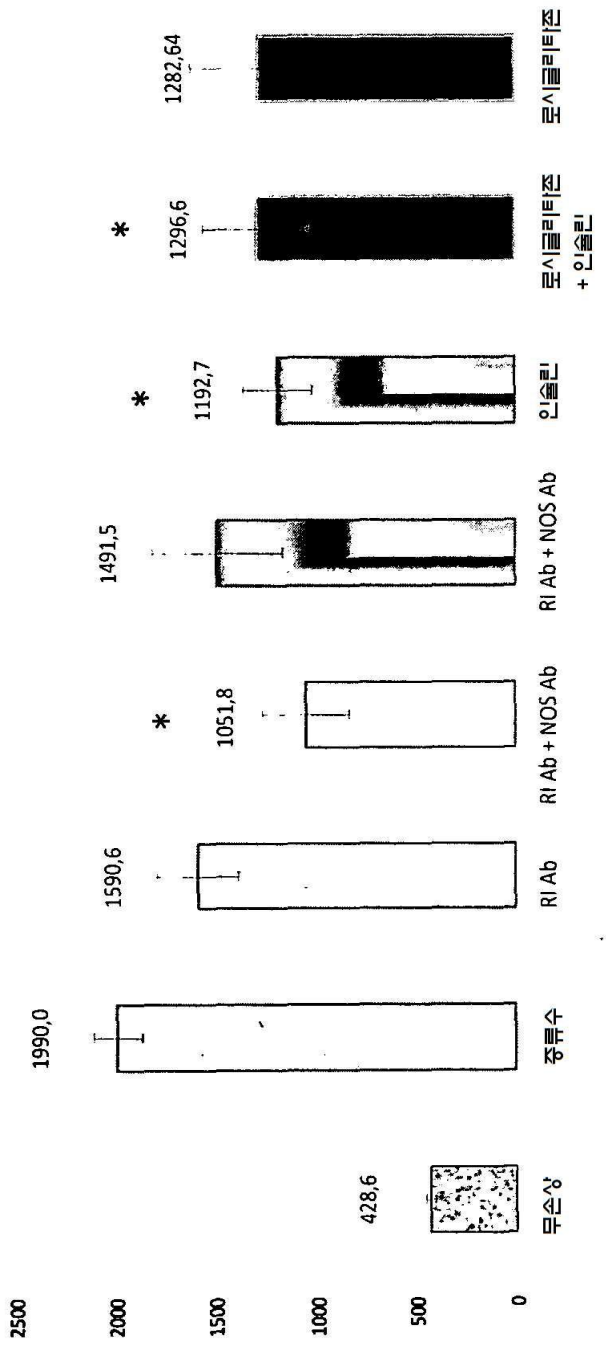
도면

도면1



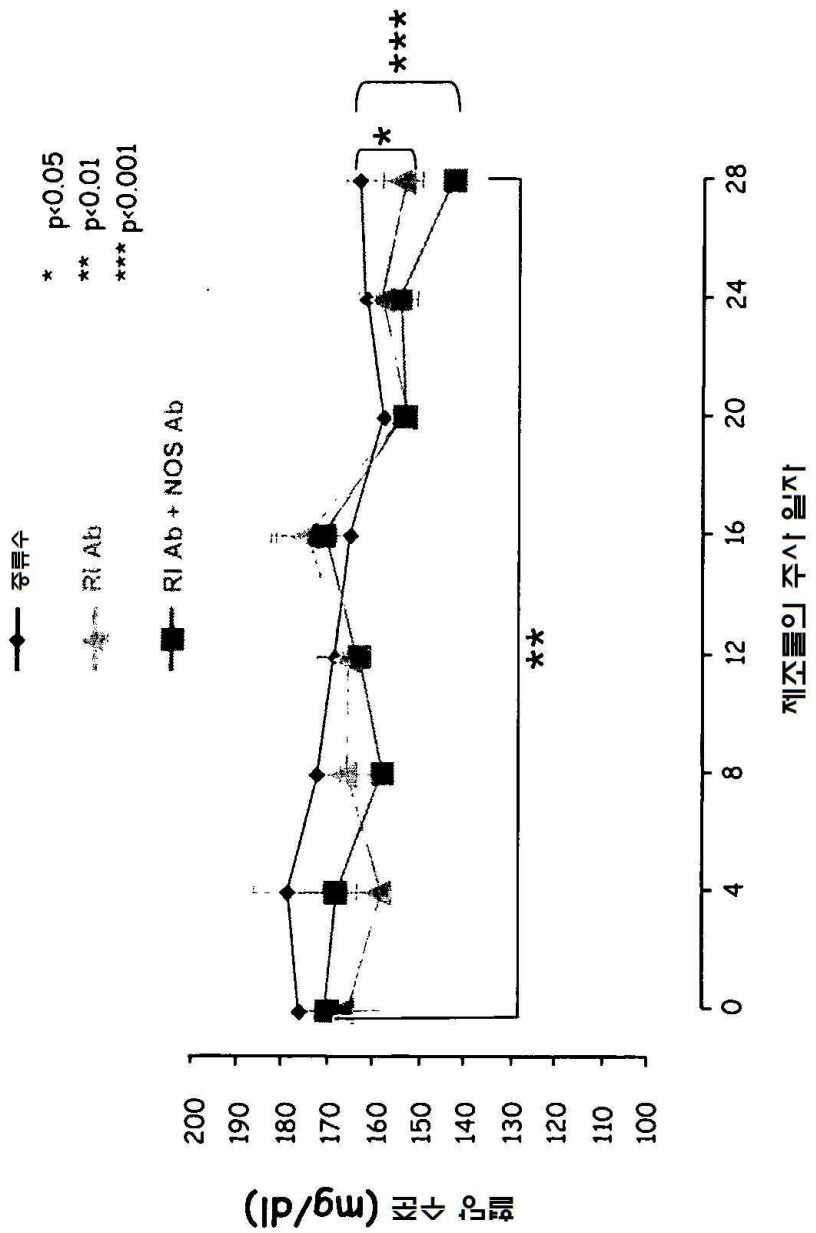
* 대조군(중류수)에 비하여 통계학적으로 유의한 차이, p<0.05

도면2

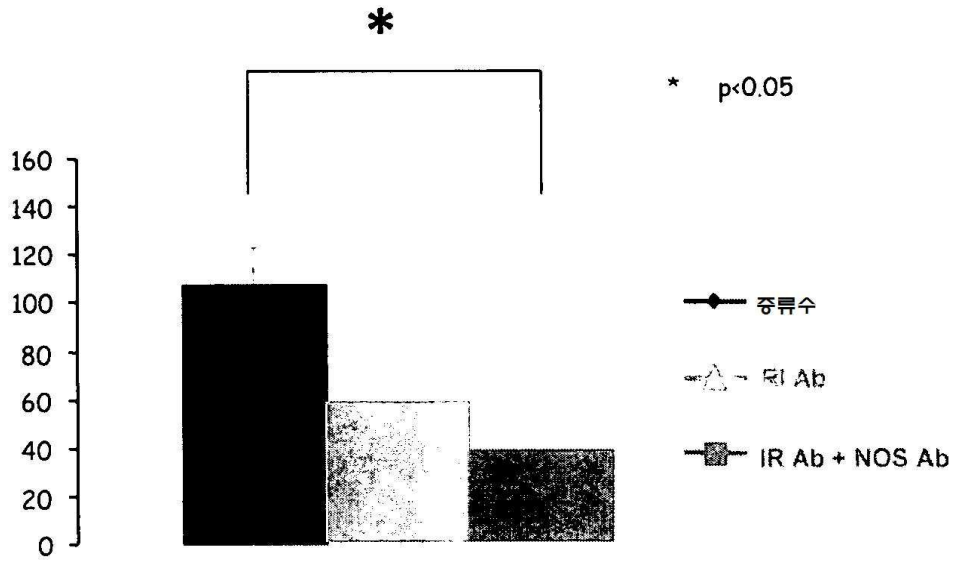


* 대조군(중류수)에 비하여 통계학적으로 유의한 차이, p<0.05

도면3


* p<0.05
** p<0.01
*** p<0.001
중류수
RI Ab
RI Ab + NOS Ab
혈당 수준 (mg/dl)
200
190
180
170
160
150
140
130
120
110
100
0
4
8
12
16
20
24
28
제조를의 주사 일자
*
***
**

도면4



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Epshtein, Oleg Iliich

<120> A method of increasing the effect of an activated-potentiated form of an antibody

<130> 841-041-PCT

<140> PCT/IB2011/002350

<141> 2011-07-15

<150> RU2010130358

<151> 2010-07-21

<150> RU2011127055

<151> 2011-07-01

<150> RU2010130355

<151> 2010-07-21

<150> RU2011127059

<151> 2011-07-01

<150> RU2010130356

<151> 2010-07-21

<150> RU2011127052

<151> 2011-07-01

<150> RU2010130353

<151> 2010-07-21

<150> RU2011127058

<151> 2011-07-01

<150> RU2010130348

<151> 2010-07-21

<150> RU2011127051

<151> 2011-06-01

<150> RU2010129294

<151> 2010-07-15

<150> RU2010129295

<151> 2010-07-15

<150> RU2011127053

<151> 2011-07-01

<150> RU2010129290

<151> 2010-07-15

<150> RU2010129291

<151> 2010-07-15

<150> RU2010129292

<151> 2010-07-15

<150> RU2011110106

<151> 2011-03-17

<150> RU2010129298

<151> 2010-07-15

<160> 8

<170> BiSSAP 1.0

<210> 1

<211> 1205

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221

> SOURCE

<222> 1..1205

<223> /mol_type="protein"

/organism="Bos taurus"

<400> 1

Met Gly Asn Leu Lys Ser Val Gly Gln Glu Pro Gly Pro Pro Cys Gly
1 5 10 15

Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Cys Gly Lys Gln Gly Pro Ala
20 25 30

Ser Pro Ala Pro Glu Pro Ser Arg Ala Pro Ala Pro Ala Thr Pro His
35 40 45

Ala Pro Asp His Ser Pro Ala Pro Asn Ser Pro Thr Leu Thr Arg Pro

50 55 60

Pro Glu Gly Pro Lys Phe Pro Arg Val Lys Asn Trp Glu Leu Gly Ser
65 70 75 80

Ile Thr Tyr Asp Thr Leu Cys Ala Gln Ser Gln Gln Asp Gly Pro Cys
85 90 95

Thr Pro Arg Cys Cys Leu Gly Ser Leu Val Leu Pro Arg Lys Leu Gln
100 105 110

Thr Arg Pro Ser Pro Gly Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Leu Ser Gln

115 120 125

Ala Arg Asp Phe Ile Asn Gln Tyr Tyr Ser Ser Ile Lys Arg Ser Gly
130 135 140

Ser Gln Ala His Glu Glu Arg Leu Gln Glu Val Glu Ala Glu Val Ala
145 150 155 160

Ser Thr Gly Thr Tyr His Leu Arg Glu Ser Glu Leu Val Phe Gly Ala
165 170 175

Lys Gln Ala Trp Arg Asn Ala Pro Arg Cys Val Gly Arg Ile Gln Trp

180 185 190

Gly Lys Leu Gln Val Phe Asp Ala Arg Asp Cys Ser Ser Ala Gln Glu
195 200 205

Met Phe Thr Tyr Ile Cys Asn His Ile Lys Tyr Ala Thr Asn Arg Gly
210 215 220

Asn Leu Arg Ser Ala Ile Thr Val Phe Pro Gln Arg Ala Pro Gly Arg
225 230 235 240

Gly Asp Phe Arg Ile Trp Asn Ser Gln Leu Val Arg Tyr Ala Gly Tyr

245 250 255

Arg Gln Gln Asp Gly Ser Val Arg Gly Asp Pro Ala Asn Val Glu Ile

260 265 270

Thr Glu Leu Cys Ile Gln His Gly Trp Thr Pro Gly Asn Gly Arg Phe

275 280 285

Asp Val Leu Pro Leu Leu Leu Gln Ala Pro Asp Glu Ala Pro Glu Leu

290 295 300

Phe Val Leu Pro Pro Glu Leu Val Leu Glu Val Pro Leu Glu His Pro

305 310 315 320

Thr Leu Glu Trp Phe Ala Ala Leu Gly Leu Arg Trp Tyr Ala Leu Pro

325 330 335

Ala Val Ser Asn Met Leu Leu Glu Ile Gly Gly Leu Glu Phe Ser Ala

340 345 350

Ala Pro Phe Ser Gly Trp Tyr Met Ser Thr Glu Ile Gly Thr Arg Asn

355 360 365

Leu Cys Asp Pro His Arg Tyr Asn Ile Leu Glu Asp Val Ala Val Cys

370 375 380

Met Asp Leu Asp Thr Arg Thr Thr Ser Ser Leu Trp Lys Asp Lys Ala

385 390 395 400

Ala Val Glu Ile Asn Leu Ala Val Leu His Ser Phe Gln Leu Ala Lys

405 410 415

Val Thr Ile Val Asp His His Ala Ala Thr Val Ser Phe Met Lys His

420 425 430

Leu Asp Asn Glu Gln Lys Ala Arg Gly Gly Cys Pro Ala Asp Trp Ala

435 440 445

Trp Ile Val Pro Pro Ile Ser Gly Ser Leu Thr Pro Val Phe His Gln

450 455 460

Glu Met Val Asn Tyr Ile Leu Ser Pro Ala Phe Arg Tyr Gln Pro Asp

465 470 475 480

Pro Trp Lys Gly Ser Ala Thr Lys Gly Ala Gly Ile Thr Arg Lys Lys

485 490 495

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

500 505 510

Gly Thr Leu Met Ala Lys Arg Val Lys Ala Thr Ile Leu Tyr Ala Ser

515 520 525

Glu Thr Gly Arg Ala Gln Ser Tyr Ala Gln Gln Leu Gly Arg Leu Phe

530 535 540

Arg Lys Ala Phe Asp Pro Arg Val Leu Cys Met Asp Glu Tyr Asp Val

545 550 555 560

Val Ser Leu Glu His Glu Ala Leu Val Leu Val Val Thr Ser Thr Phe

565 570 575

Gly Asn Gly Asp Pro Pro Glu Asn Gly Glu Ser Phe Ala Ala Ala Leu

580 585 590

Met Glu Met Ser Gly Pro Tyr Asn Ser Ser Pro Arg Pro Glu Gln His

595 600 605

Lys Ser Tyr Lys Ile Arg Phe Asn Ser Val Ser Cys Ser Asp Pro Leu

610 615 620

Val Ser Ser Trp Arg Arg Lys Arg Lys Glu Ser Ser Asn Thr Asp Ser

625 630 635 640

Ala Gly Ala Leu Gly Thr Leu Arg Phe Cys Val Phe Gly Leu Gly Ser

645 650 655

Arg Ala Tyr Pro His Phe Cys Ala Phe Ala Arg Ala Val Asp Thr Arg

660 665 670

Leu Glu Glu Leu Gly Gly Glu Arg Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Asp

675 680 685

Glu Leu Cys Gly Gln Glu Glu Ala Phe Arg Gly Trp Ala Lys Ala Ala

690 695 700

Phe Gln Ala Ser Cys Glu Thr Phe Cys Val Gly Glu Glu Ala Lys Ala

705 710 715 720

Ala Ala Gln Asp Ile Phe Ser Pro Lys Arg Ser Trp Lys Arg Gln Arg

725 730 735

Tyr Arg Leu Ser Thr Gln Ala Glu Gly Leu Gln Leu Leu Pro Gly Leu
740 745 750
Ile His Val His Arg Arg Lys Met Phe Gln Ala Thr Val Leu Ser Val

755 760 765
Glu Asn Leu Gln Ser Ser Lys Ser Thr Arg Ala Thr Ile Leu Val Arg
770 775 780
Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Gly Leu Gln Tyr Gln Pro Gly Asp His
785 790 795 800
Ile Gly Ile Cys Pro Pro Asn Arg Pro Gly Leu Val Glu Ala Leu Leu
805 810 815
Ser Arg Val Glu Asp Pro Pro Pro Pro Thr Glu Ser Val Ala Val Glu

820 825 830
Gln Leu Glu Lys Gly Ser Pro Gly Gly Pro Pro Pro Ser Trp Val Arg
835 840 845
Asp Pro Arg Leu Pro Pro Cys Thr Leu Arg Gln Ala Leu Thr Phe Phe
850 855 860
Leu Asp Ile Thr Ser Pro Pro Ser Pro Arg Leu Leu Arg Leu Leu Ser
865 870 875 880
Thr Leu Ala Glu Glu Pro Ser Glu Gln Gln Glu Leu Glu Thr Leu Ser

885 890 895
Gln Asp Pro Arg Arg Tyr Glu Glu Trp Lys Trp Phe Arg Cys Pro Thr
900 905 910
Leu Leu Glu Val Leu Glu Gln Phe Pro Ser Val Ala Leu Pro Ala Pro
915 920 925
Leu Leu Leu Thr Gln Leu Pro Leu Leu Gln Pro Arg Tyr Tyr Ser Val
930 935 940
Ser Ser Ala Pro Asn Ala His Pro Gly Glu Val His Leu Thr Val Ala

945 950 955 960
Val Leu Ala Tyr Arg Thr Gln Asp Gly Leu Gly Pro Leu His Tyr Gly
965 970 975
Val Cys Ser Thr Trp Leu Ser Gln Leu Lys Thr Gly Asp Pro Val Pro

980 985 990

Cys Phe Ile Arg Gly Ala Pro Ser Phe Arg Leu Pro Pro Asp Pro Tyr

995 1000 1005

Val Pro Cys Ile Leu Val Gly Pro Gly Thr Gly Ile Ala Pro Phe Arg

1010 1015 1020

Gly Phe Trp Gln Glu Arg Leu His Asp Ile Glu Ser Lys Gly Leu Gln

1025 1030 1035 1040

Pro Ala Pro Met Thr Leu Val Phe Gly Cys Arg Cys Ser Gln Leu Asp

1045 1050 1055

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

1060 1065 1070

Gly Arg Val Leu Thr Ala Phe Ser Arg Glu Pro Asp Ser Pro Lys Thr

1075 1080 1085

Tyr Val Gln Asp Ile Leu Arg Thr Glu Leu Ala Ala Glu Val His Arg

1090 1095 1100

Val Leu Cys Leu Glu Arg Gly His Met Phe Val Cys Gly Asp Val Thr

1105 1110 1115 1120

Met Ala Thr Ser Val Leu Gln Thr Val Gln Arg Ile Leu Ala Thr Glu

1125 1130 1135

Gly Asp Met Glu Leu Asp Glu Ala Gly Asp Val Ile Gly Val Leu Arg

1140 1145 1150

Asp Gln Gln Arg Tyr His Glu Asp Ile Phe Gly Leu Thr Leu Arg Thr

1155 1160 1165

Gln Glu Val Thr Ser Arg Ile Arg Thr Gln Ser Phe Ser Leu Gln Glu

1170 1175 1180

Arg His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro

1185 1190 1195 1200

Asp Thr Pro Gly Pro

1205

<210

> 2

<211> 1203

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..1203

<223> /mol_type="protein"

/organism="Homo sapiens"

<400> 2

Met Gly Asn Leu Lys Ser Val Ala Gln Glu Pro Gly Pro Pro Cys Gly
1 5 10 15

Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Cys Gly Lys Gln Gly Pro Ala
20 25 30

Thr Pro Ala Pro Glu Pro Ser Arg Ala Pro Ala Ser Leu Leu Pro Pro
35 40 45

Ala Pro Glu His Ser Pro Pro Ser Ser Pro Leu Thr Gln Pro Pro Glu
50 55 60

Gly Pro Lys Phe Pro Arg Val Lys Asn Trp Glu Val Gly Ser Ile Thr
65 70 75 80

Tyr Asp Thr Leu Ser Ala Gln Ala Gln Gln Asp Gly Pro Cys Thr Pro
85 90 95

Arg Arg Cys Leu Gly Ser Leu Val Phe Pro Arg Lys Leu Gln Gly Arg
100 105 110

Pro Ser Pro Gly Pro Pro Ala Pro Glu Gln Leu Leu Ser Gln Ala Arg
115 120 125

Asp Phe Ile Asn Gln Tyr Tyr Ser Ser Ile Lys Arg Ser Gly Ser Gln
130 135 140

Ala His Glu Gln Arg Leu Gln Glu Val Glu Ala Glu Val Ala Ala Thr
145 150 155 160

Gly Thr Tyr Gln Leu Arg Glu Ser Glu Leu Val Phe Gly Ala Lys Gln
165 170 175

Ala Trp Arg Asn Ala Pro Arg Cys Val Gly Arg Ile Gln Trp Gly Lys
180 185 190

Leu Gln Val Phe Asp Ala Arg Asp Cys Arg Ser Ala Gln Glu Met Phe
195 200 205
Thr Tyr Ile Cys Asn His Ile Lys Tyr Ala Thr Asn Arg Gly Asn Leu
210 215 220
Arg Ser Ala Ile Thr Val Phe Pro Gln Arg Cys Pro Gly Arg Gly Asp
225 230 235 240

Phe Arg Ile Trp Asn Ser Gln Leu Val Arg Tyr Ala Gly Tyr Arg Gln
245 250 255
Gln Asp Gly Ser Val Arg Gly Asp Pro Ala Asn Val Glu Ile Thr Glu
260 265 270
Leu Cys Ile Gln His Gly Trp Thr Pro Gly Asn Gly Arg Phe Asp Val
275 280 285
Leu Pro Leu Leu Leu Gln Ala Pro Asp Glu Pro Pro Glu Leu Phe Leu
290 295 300

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

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

Asn Glu Gln Lys Ala Arg Gly Gly Cys Pro Ala Asp Trp Ala Trp Ile

435 440 445

Val Pro Pro Ile Ser Gly Ser Leu Thr Pro Val Phe His Gln Glu Met

450 455 460

Val Asn Tyr Phe Leu Ser Pro Ala Phe Arg Tyr Gln Pro Asp Pro Trp

465 470 475 480

Lys Gly Ser Ala Ala Lys Gly Thr Gly Ile Thr Arg Lys Lys Thr Phe

485 490 495

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

500 505 510

Val Met Ala Lys Arg Val Lys Ala Thr Ile Leu Tyr Gly Ser Glu Thr

515 520 525

Gly Arg Ala Gln Ser Tyr Ala Gln Gln Leu Gly Arg Leu Phe Arg Lys

530 535 540

Ala Phe Asp Pro Arg Val Leu Cys Met Asp Glu Tyr Asp Val Val Ser

545 550 555 560

Leu Glu His Glu Thr Leu Val Leu Val Val Thr Ser Thr Phe Gly Asn

565 570 575

Gly Asp Pro Pro Glu Asn Gly Glu Ser Phe Ala Ala Ala Leu Met Glu

580 585 590

Met Ser Gly Pro Tyr Asn Ser Ser Pro Arg Pro Glu Gln His Lys Ser

595 600 605

Tyr Lys Ile Arg Phe Asn Ser Ile Ser Cys Ser Asp Pro Leu Val Ser

610 615 620

Ser Trp Arg Arg Lys Arg Lys Glu Ser Ser Asn Thr Asp Ser Ala Gly

625 630 635 640

Ala Leu Gly Thr Leu Arg Phe Cys Val Phe Gly Leu Gly Ser Arg Ala

645 650 655

Tyr Pro His Phe Cys Ala Phe Ala Arg Ala Val Asp Thr Arg Leu Glu

660 665 670

Glu Leu Gly Gly Glu Arg Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Asp Glu Leu

675 680 685

Cys Gly Gln Glu Glu Ala Phe Arg Gly Trp Ala Gln Ala Ala Phe Gln
690 695 700

Ala Ala Cys Glu Thr Phe Cys Val Gly Glu Asp Ala Lys Ala Ala Ala
705 710 715 720

Arg Asp Ile Phe Ser Pro Lys Arg Ser Trp Lys Arg Gln Arg Tyr Arg
725 730 735

Leu Ser Ala Gln Ala Glu Gly Leu Gln Leu Leu Pro Gly Leu Ile His
740 745 750

Val His Arg Arg Lys Met Phe Gln Ala Thr Ile Arg Ser Val Glu Asn
755 760 765

Leu Gln Ser Ser Lys Ser Thr Arg Ala Thr Ile Leu Val Arg Leu Asp
770 775 780

Thr Gly Gly Gln Glu Gly Leu Gln Tyr Gln Pro Gly Asp His Ile Gly
785 790 795 800

Val Cys Pro Pro Asn Arg Pro Gly Leu Val Glu Ala Leu Leu Ser Arg
805 810 815

Val Glu Asp Pro Pro Ala Pro Thr Glu Pro Val Ala Val Glu Gln Leu
820 825 830

Glu Lys Gly Ser Pro Gly Gly Pro Pro Pro Gly Trp Val Arg Asp Pro
835 840 845

Arg Leu Pro Pro Cys Thr Leu Arg Gln Ala Leu Thr Phe Phe Leu Asp
850 855 860

Ile Thr Ser Pro Pro Ser Pro Gln Leu Leu Arg Leu Leu Ser Thr Leu
865 870 875 880

Ala Glu Glu Pro Arg Glu Gln Gln Glu Leu Glu Ala Leu Ser Gln Asp
885 890 895

Pro Arg Arg Tyr Glu Glu Trp Lys Trp Phe Arg Cys Pro Thr Leu Leu
900 905 910

Glu Val Leu Glu Gln Phe Pro Ser Val Ala Leu Pro Ala Pro Leu Leu
915 920 925

Leu Thr Gln Leu Pro Leu Leu Gln Pro Arg Tyr Tyr Ser Val Ser Ser

930 935 940

Ala Pro Ser Thr His Pro Gly Glu Ile His Leu Thr Val Ala Val Leu
945 950 955 960
Ala Tyr Arg Thr Gln Asp Gly Leu Gly Pro Leu His Tyr Gly Val Cys
965 970 975
Ser Thr Trp Leu Ser Gln Leu Lys Pro Gly Asp Pro Val Pro Cys Phe
980 985 990
Ile Arg Gly Ala Pro Ser Phe Arg Leu Pro Pro Asp Pro Ser Leu Pro
995 1000 1005

Cys Ile Leu Val Gly Pro Gly Thr Gly Ile Ala Pro Phe Arg Gly Phe
1010 1015 1020
Trp Gln Glu Arg Leu His Asp Ile Glu Ser Lys Gly Leu Gln Pro Thr
1025 1030 1035 1040
Pro Met Thr Leu Val Phe Gly Cys Arg Cys Ser Gln Leu Asp His Leu
1045 1050 1055
Tyr Arg Asp Glu Val Gln Asn Ala Gln Gln Arg Gly Val Phe Gly Arg
1060 1065 1070

Val Leu Thr Ala Phe Ser Arg Glu Pro Asp Asn Pro Lys Thr Tyr Val
1075 1080 1085
Gln Asp Ile Leu Arg Thr Glu Leu Ala Ala Glu Val His Arg Val Leu
1090 1095 1100
Cys Leu Glu Arg Gly His Met Phe Val Cys Gly Asp Val Thr Met Ala
1105 1110 1115 1120
Thr Asn Val Leu Gln Thr Val Gln Arg Ile Leu Ala Thr Glu Gly Asp
1125 1130 1135

Met Glu Leu Asp Glu Ala Gly Asp Val Ile Gly Val Leu Arg Asp Gln
1140 1145 1150
Gln Arg Tyr His Glu Asp Ile Phe Gly Leu Thr Leu Arg Thr Gln Glu
1155 1160 1165
Val Thr Ser Arg Ile Arg Thr Gln Ser Phe Ser Leu Gln Glu Arg Gln
1170 1175 1180

Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Ser Asp Thr

1185 1190 1195 1200

Asn Ser Pro

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..4

<223> /mol_type="protein"

/organism="Bos taurus"

<400> 3

Pro Trp Ala Phe

1

<210> 4

<211> 4

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..4

<223> /mol_type="protein"

/organism="Bos taurus"

<400> 4

Gly Ala Val Pro

1

<210> 5

<211> 21

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..21

<223> /mol_type="protein"

/organism="Bos taurus"

<400> 5

Arg His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro

1 5 10 15

Asp Thr Pro Gly Pro

20

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..12

<223> /mol_type="protein"

/organism="Bos taurus"

<400> 6

Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro Asp Thr Pro Gly Pro

1 5 10

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..11

<223> /mol_type="protein"

/organism="Bos taurus"

<400> 7

His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp

1 5 10

<210> 8

<211> 20

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..20

<223> /mol_type="protein"

/organism="Bos taurus"

<400> 8

His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro Asp

1 5 10 15

Thr Pro Gly Pro

20