

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication :

2 962 911

(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national :

11 56478

⑤① Int Cl⁸ : **A 61 K 39/395** (2006.01), A 61 P 25/00

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 15.07.11.

③③ Priorité : 21.07.10 RU 2010130358; 01.07.11 RU 2011127055.

④③ Date de mise à la disposition du public de la demande : 27.01.12 Bulletin 12/04.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été établi à la date de publication de la demande.*

⑥⑥ Références à d'autres documents nationaux apparentés :

⑦① Demandeur(s) : EPSHTEIN OLEG ILIICH — RU.

⑦② Inventeur(s) : EPSHTEIN OLEG ILIICH.

⑦③ Titulaire(s) : EPSHTEIN OLEG ILIICH.

⑦④ Mandataire(s) : CABINET BEAU DE LOMENIE.

⑤④ COMPOSITION PHARMACEUTIQUE D'ASSOCIATION DESTINEE A ETRE UTILISEE DANS UN PROCEDE POUR TRAITER LE TROUBLE D'HYPERACTIVITE AVEC DEFICIT DE L'ATTENTION.

⑤⑦ La présente invention concerne une composition pharmaceutique d'association destinée à être utilisée dans un procédé pour traiter le trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention (ADHD) et le trouble de déficit de l'attention (ADD) comprenant une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la protéine spécifique du cerveau S-100 et une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la NO synthase endothéliale.

FR 2 962 911 - A1



**Composition pharmaceutique d'association destinée à être
utilisée dans un procédé pour traiter le trouble d'hyperactivité
avec déficit de l'attention**

5

DOMAINE

La présente invention concerne le domaine de la médecine et peut être utilisée pour le traitement du trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention.

10

ARRIERE-PLAN

Le trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention (ADHD) est l'une des maladies neurocomportementales les plus fréquentes chez les enfants et est observé chez 4-10 % des enfants. Approximativement 50 % des enfants chez qui l'ADHD a été diagnostiqué ont des symptômes qui persistent à l'âge adulte. L'agitation émotionnelle, le comportement impulsif et les pensées impulsives, le manque d'attention, l'inaptitude à se concentrer et à se focaliser, la parole excessive, la distraction, etc., sont certains des symptômes de l'ADHD.

20

Des médicaments neurotropes ayant un antisérum dirigé contre la protéine spécifique du cerveau S-100 sont connus (RU 2156621 C1, A61K39/395, 9/27/2000). Cependant, ces médicaments ne présentent pas une efficacité thérapeutique suffisante pour le traitement des maladies neurocomportementales, incluant le trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention. Ainsi, il existe un besoin continu de nouveaux produits médicamenteux ayant l'efficacité thérapeutique souhaitée pour le traitement du trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention.

30

L'effet thérapeutique d'une forme extrêmement diluée (ou forme ultra-basse) d'anticorps potentialisés par la technologie homéopathique (forme activée potentialisée) a été découvert par l'inventeur de la présente demande de brevet, le Dr. Oleg I. Epshtein. Le brevet US n°. 7 582 294 décrit un médicament pour traiter l'hyperplasie prostatique bénigne ou la prostatite par administration d'une forme activée par voie homéopathique d'anticorps dirigés

35

contre l'antigène prostatique spécifique (PSA). Le brevet US n°. 7 700 096 décrit une forme potentialisée par voie homéopathique d'anticorps dirigés contre la NO-synthase endothéliale.

La protéine S-100 est une protéine liant le calcium acide cytoplasmique trouvée principalement dans la matière grise du cerveau, principalement dans la glie et les cellules de Schwann. La protéine existe sous plusieurs isoformes homo- ou hétérodimériques consistant en deux sous-unités, alpha et bêta, distinctes du point de vue immunologique. L'utilisation de la protéine S-100 a été suggérée comme aide dans le diagnostic et l'évaluation des lésions cérébrales et des détériorations neurologiques dues à une lésion cérébrale, comme dans un accident vasculaire cérébral. Yardan et al., Usefulness of S100B Protein in Neurological Disorders, J Pak Med Assoc Vol. 61, No. 3, Mars 2011.

On a montré que des doses ultra-basses d'anticorps dirigés contre la protéine S-100 ont une activité anxiolytique, anti-asthénique, anti-agressive, de protection contre le stress, anti-hypoxique, anti-ischémique, neuroprotectrice et nootrope. Voir Castagne V. et al., *Antibodies to S100 proteins have anxiolytic-like activity at ultra-low doses in the adult rat*, J Pharm Pharmacol. 2008, 60(3):309-16; Epstein O. I., *Antibodies to calcium-binding S100B protein block the conditioning of long-term sensitization in the terrestrial snail*, Pharmacol Biochem Behav., 2009, 94(1):37-42; Voronina T.A. et al., Chapter 8. *Anticorps to S-100 protein in anxiety-depressive disorders in experimental and clinical conditions*. In "Animal models in biological psychiatry", Ed. Kalueff A.V. N-Y, "Nova Science Publishers, Inc.", 2006, pp. 137-152.

L'oxyde nitrique (NO) est une molécule gazeuse dont il a été montré qu'elle agit dans la signalisation de différents processus biologiques. NO dérivé de l'endothélium est une molécule clé dans la régulation du tonus vasculaire et son association avec la maladie vasculaire a été reconnue depuis longtemps. NO inhibe de nombreux processus dont on sait qu'ils sont impliqués dans la formation de la plaque athéroscléreuse, incluant l'adhésion des monocytes, l'agrégation plaquettaire et la prolifération des cellules des muscles lisses vasculaires. Un autre rôle important de NO endothélial est la

protection de la paroi vasculaire contre le stress oxydatif induit par ses propres produits métaboliques et par les produits d'oxydation des lipides et des lipoprotéines. Un dysfonctionnement endothélial survient à des stades très précoces de l'athérosclérose. Il est donc possible qu'une déficience dans la disponibilité de NO local puisse être une voie commune finale qui accélère l'athérogenèse chez les humains. Outre son rôle dans l'endothélium vasculaire, on a montré que la disponibilité de NO module le métabolisme des lipoprotéines. Une corrélation négative a été décrite entre les concentrations plasmatiques de produits métaboliques de NO et les niveaux de cholestérol plasmatique total et dans les lipoprotéines basses densités [LDL], tandis que les lipoprotéines haute densité [HDL] améliorent la fonction vasculaire chez les sujets hypercholestérolémiques. La perte de NO a un effet considérable sur le développement de la maladie. Le diabète sucré est associé avec des taux accrus de morbidité et de mortalité causés principalement par le développement accéléré de la maladie athéroscléreuse. De plus, des articles montrent que les diabétiques ont des fonctions pulmonaires dégradées. Il a été proposé que la résistance à l'insuline conduit à une inflammation des voies respiratoires. Habib et al., *Nitric Oxide Measurement From Blood To Lungs, Is There A Link?* Pak J Physiol 2007; 3(1).

L'oxyde nitrique est synthétisé par l'endothélium à partir de la L-arginine par l'oxyde nitrique synthase (NO synthase). La NO synthase existe sous différentes isoformes, incluant une forme constitutive (cNOS) et une forme inductible (iNOS). La forme constitutive est présente dans les cellules endothéliales normales, les neurones et certains autres tissus.

30

RESUME

L'invention concerne l'augmentation de l'efficacité du traitement du trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention (ADHD) et du trouble de déficit de l'attention (ADD).

Selon un aspect, la présente invention fournit une composition pharmaceutique destinée à être utilisée dans un procédé de traitement du trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention,

comprenant une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la protéine spécifique du cerveau S-100 et une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la NO synthase endothéliale à titre de composant renforçant supplémentaire.

5 Selon un autre aspect, la présente invention fournit une composition pharmaceutique destinée à être utilisée dans un procédé de traitement du trouble de déficit de l'attention, comprenant une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la protéine spécifique du cerveau S-100 et une forme activée-potentialisée
10 d'anticorps dirigés contre la NO synthase endothéliale à titre de composant renforçant supplémentaire.

 Selon une variante, la présente invention fournit une composition pharmaceutique d'association destinée à être utilisée comme décrit ci-dessus
15 comprenant une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la protéine spécifique du cerveau S-100 et une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la NO-synthase endothéliale, où l'anticorps est dirigé contre la protéine S-100 entière ou des fragments de celle-ci.

 Selon une variante, la présente invention fournit une composition
20 pharmaceutique d'association destinée à être utilisée comme décrit ci-dessus comprenant une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la protéine spécifique du cerveau S-100 et une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la NO-synthase endothéliale, où l'anticorps est dirigé contre la NO-synthase endothéliale entière ou des fragments de celle-
25 ci.

 Selon une variante, la composition pharmaceutique d'association inclut une forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine S-100 qui est sous forme d'un mélange de dilutions homéopathiques (C12, C30, et C50) ou (C12, C30 et C200) imprégnant un support solide. La forme
30 activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO-synthase endothéliale est sous forme de mélange de dilutions homéopathiques (C12, C30, et C50) ou (C12, C30 et C200) peut ensuite imprégner le support solide.

 Selon une variante, la composition pharmaceutique d'association inclut la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO-
35 synthase endothéliale qui est sous forme d'un mélange de dilutions homéopathiques (C12, C30, et C50) ou (C12, C30 et C200) imprégnant un

support solide. La forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine S-100 est sous forme de mélange de dilutions homéopathiques (C12, C30, et C50) ou (C12, C30 et C200) peut ensuite imprégner le support solide.

5 De préférence, la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine S-100 est un anticorps monoclonal, polyclonal ou naturel, de préférence encore, un anticorps polyclonal. Dans une variante de cet aspect de l'invention, la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine S-100 est préparée par des dilutions centésimales
10 successives couplées avec une agitation de chaque dilution. Une agitation verticale est envisagée spécifiquement.

De préférence, la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase est un anticorps monoclonal, polyclonal ou naturel, de préférence encore, un anticorps polyclonal. Dans une variante de cet aspect
15 de l'invention, la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase est préparée par dilutions centésimales successives couplées avec une agitation de chaque dilution. Une agitation verticale est envisagée spécifiquement.

Selon un autre aspect, l'invention fournit une composition
20 pharmaceutique d'association destinée à être utilisée dans un procédé pour traiter le trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention, ledit procédé comprenant l'administration à un patient qui en a besoin d'une composition pharmaceutique d'association comprenant a) une forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé
25 contre la protéine spécifique du cerveau S-100 et b) une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la NO synthase endothéliale.

Ladite composition pharmaceutique d'association peut être
fournie pour l'administration sous forme d'une à deux formes
30 galéniques unitaires de la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine S-100 et d'une à deux formes galéniques unitaires de la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase, chacune des formes galéniques étant administrée de une fois par jour à quatre fois par jour. De préférence,
35 la une à deux formes galéniques unitaires de chacune des formes activées-potentialisées d'anticorps est administrée deux fois par jour.

DESCRIPTION DES FIGURES

Figure 1 – montre la réduction des indices de symptômes de ADHD (note totale par l'échelle ADHDRS-IV-Home Version) au cours de 2, 4, 6, 8, 12 semaines de thérapie par rapport à la valeur de la ligne de base.

DESCRIPTION DETAILLEE

L'invention est définie en référence aux revendications annexées. Concernant les revendications, le glossaire qui suit fournit les définitions pertinentes.

Le terme "anticorps" tel qu'il est utilisé ici est destiné à désigner une immunoglobuline qui se lie spécifiquement à, et est donc définie comme étant complémentaire de, une organisation spatiale et polaire particulière d'une autre molécule. Les anticorps tels que cités dans les revendications peuvent inclure une immunoglobuline complète ou un fragment de celle-ci, peuvent être naturels, polyclonaux ou monoclonaux, et peuvent inclure différentes classes et isotypes, comme IgA, IgD, IgE, IgG1, IgG2a, IgG2b et IgG3, IgM, etc. Leurs fragments peuvent inclure Fab, Fv et F(ab')₂, Fab', et analogues. "Anticorps" au singulier inclut « anticorps » au pluriel.

Le terme "forme activée-potentialisée" ou "forme potentialisée" respectivement, concernant les anticorps cités ici est utilisé pour désigner un produit de potentialisation homéopathique d'une quelconque solution initiale d'anticorps. "Potentialisation homéopathique" désigne l'utilisation de procédés d'homéopathie pour conférer une activité homéopathique à une solution initiale de substance pertinente. Bien qu'elle ne soit pas ainsi limitée, la « potentialisation homéopathique » peut impliquer, par exemple, des dilutions consécutives répétées combinées avec un traitement externe, en particulier une agitation (mécanique) verticale. En d'autres termes, une solution initiale d'anticorps est soumise à des dilutions répétées consécutives et de multiples agitations verticales de chaque solution obtenue conformément à la technologie homéopathique. La concentration préférée de la solution initiale

d'anticorps dans le solvant, de préférence l'eau ou un mélange eau-alcool éthylique, va d'environ 0,5 à environ 5,0 mg/ml. Le processus préféré pour préparer chaque composant, c'est-à-dire la solution d'anticorps, est l'utilisation du mélange de trois dilutions aqueuses ou aqueuses-alcooliques de la solution de matrice primaire (teinture mère) d'anticorps diluée 100^{12} , 100^{30} et 100^{200} fois, respectivement, qui équivaut à des dilutions homéopathiques centésimales (C12, C30, et C200) ou l'utilisation du mélange de trois dilutions aqueuses ou aqueuses-alcooliques de la solution de matrice primaire d'anticorps diluée 100^{12} , 100^{30} et 100^{50} fois, respectivement, qui équivaut à des dilutions homéopathiques centésimales (C12, C30 et C50). Des exemples de potentialisation homéopathique sont décrits dans les brevets U.S. n°. 7 572 441 et 7 582 294. Tandis que le terme "forme activée-potentialisée" est utilisé dans les revendications, le terme "doses ultra-basses" est utilisé dans les exemples. Le terme "doses ultra-basses" est devenu un terme technique dans le domaine technique créé par l'étude et l'utilisation d'une forme de substance diluée et potentialisée par voie homéopathique. Le terme « dose ultra-basse » ou « doses ultra-basses » est considéré comme soutenant totalement et principalement synonyme du terme forme « activée-potentialisée » utilisé dans les revendications.

En d'autres termes, un anticorps est dans la forme « activée-potentialisée » ou « potentialisée » quand trois facteurs sont présents. Tout d'abord, la forme « activée-potentialisée » de l'anticorps est un produit d'un procédé de préparation bien accepté dans la technique homéopathique. Deuxièmement, la forme « activée-potentialisée » de l'anticorps doit avoir une activité biologique déterminée par des procédés bien acceptés en pharmacologie moderne. Et troisièmement, l'activité biologique présentée par la forme « activée potentialisée » de l'anticorps ne peut pas être expliquée par la présence de la forme moléculaire de l'anticorps dans le produit final du processus homéopathique.

Par exemple, la forme activée potentialisée d'anticorps peut être préparée en soumettant un anticorps isolé initial sous une forme moléculaire à de multiples dilutions consécutives couplées avec un impact externe, comme une agitation mécanique. Le

traitement externe au cours de la réduction de la concentration peut aussi être accompli, par exemple, par exposition à des facteurs ultrasoniques, électromagnétiques, ou d'autres facteurs physiques. V. Schwabe "Homeopathic medicines", M., 1967, brevets U.S. No. 7 229 648 et 4 311 897, décrit de tels processus qui sont des procédés de potentialisation homéopathique bien acceptés dans la technique homéopathique. Ce processus donne naissance à une diminution uniforme de la concentration moléculaire de la forme moléculaire initiale de l'anticorps. Ce processus est répété jusqu'à ce que l'activité homéopathique souhaitée soit obtenue. Pour l'anticorps individuel, l'activité homéopathique requise peut être déterminée en soumettant les dilutions intermédiaires à des tests biologiques dans le modèle pharmacologique souhaité. Bien qu'elle ne soit pas ainsi limitée, la « potentialisation homéopathique » peut comprendre, par exemple, des dilutions consécutives répétées combinées avec un traitement externe, en particulier une agitation (mécanique) verticale. En d'autres termes, une solution d'anticorps initiale est soumise à des dilutions consécutives répétées et de multiples agitations verticales de chaque solution obtenue selon la technologie homéopathique. La concentration préférée de la solution initiale d'anticorps dans le solvant, de préférence, l'eau ou un mélange eau-alcool éthylique, va d'environ 0,5 à environ 5,0 mg/ml. Le processus préféré pour préparer chaque composant, c'est-à-dire la solution d'anticorps, est l'utilisation du mélange de trois dilutions aqueuses ou aqueuses-alcooliques de la solution de matrice primaire (teinture mère) d'anticorps diluée 100^{12} , 100^{30} et 100^{200} fois, respectivement, qui équivaut à des dilutions homéopathiques centésimales C12, C30 et C200 ou le mélange de trois dilutions aqueuses ou aqueuses-alcooliques de la solution de matrice primaire (teinture mère) diluée 100^{12} , 100^{30} et 100^{50} fois, respectivement, qui équivaut à des dilutions homéopathiques centésimales C12, C30 et C50. Des exemples de la façon d'obtenir l'activité souhaitée sont donnés aussi, par exemple, dans les brevets U.S. n°. 7 229 648 et 4 311 897. Le processus applicable à la forme « activée-potentialisée » des anticorps décrite ici est décrit de manière plus détaillée ci-dessous.

Il y a eu des controverses considérables concernant le traitement homéopathique de sujets humains. Tandis que la présente invention est basée sur des processus homéopathiques acceptés pour obtenir la forme « activée-potentialisée » d'anticorps, elle n'est pas basée seulement sur

l'homéopathie chez des sujets humains pour mettre en évidence une activité. Il a été découvert de manière surprenante par l'inventeur de la présente demande et amplement démontré dans les modèles pharmacologiques acceptés que le solvant obtenu finalement à partir de dilutions multiples consécutives d'une forme moléculaire initiale d'un anticorps a une activité définitive non liée à la présence des traces de la forme moléculaire de l'anticorps dans la dilution cible. La forme « activée-potentialisée » de l'anticorps fournie ici est testée pour l'activité biologique dans des modèles pharmacologiques d'activité bien acceptés, dans des expériences *in vitro* appropriées, ou *in vivo* dans des modèles animaux appropriés. Les expériences présentées ci-dessous fournissent des indices d'activité biologique dans de tels modèles. Des études cliniques sur des humains fournissent aussi des indices que l'activité observée dans le modèle animal est bien traduite en thérapie humaine. Des études sur des humains ont fourni aussi des indices de disponibilité des formes « activées potentialisées » décrites ici pour traiter des maladies humaines ou troubles humains spécifiques bien acceptées comme états pathologiques dans la science médicale.

Egalement, la forme « activée-potentialisée » d'anticorps revendiquée englobe seulement des solutions ou des préparations solides dont l'activité biologique ne peut pas être expliquée par la présence de la forme moléculaire de l'anticorps restant de la solution de départ initiale. En d'autres termes, tandis qu'il est envisagé que la forme « activée-potentialisée » de l'anticorps peut contenir des traces de la forme moléculaire initiale de l'anticorps, l'homme du métier ne pourrait pas attribuer l'activité biologique observée dans les modèles pharmacologiques acceptés à la forme moléculaire de l'anticorps restante avec un quelconque degré de plausibilité du fait des concentrations extrêmement faibles de la forme moléculaire de l'anticorps restant après les dilutions consécutives. Tandis que l'invention n'est pas limitée par une quelconque théorie spécifique, l'activité biologique de la forme « activée-potentialisée » des anticorps de la présente invention n'est pas attribuable à la forme moléculaire initiale de l'anticorps. Est préférée la forme « activée-potentialisée » d'anticorps sous forme liquide ou solide dans laquelle la concentration de la forme moléculaire de l'anticorps est inférieure à la limite de détection des techniques analytiques acceptées, comme l'électrophorèse capillaire et la chromatographie liquide à hautes performances. Est

particulièrement préférée la forme « activée-potentialisée » d'anticorps sous forme liquide ou solide dans laquelle la concentration de la forme moléculaire de l'anticorps est inférieure au nombre d'Avogadro. Dans la pharmacologie des formes moléculaires de substances thérapeutiques, il est de pratique courante de créer une courbe dose-réponse dans laquelle le niveau de réponse pharmacologique est représenté graphiquement en fonction de la concentration du médicament actif administré au sujet ou testé in vitro. Le niveau minimal du médicament qui produit une quelconque réponse détectable est connu comme étant une dose seuil. Il est particulièrement envisagé et préféré que la forme « activée-potentialisée » des anticorps contienne un anticorps moléculaire, s'il y en a, à une concentration inférieure à la dose seuil pour la forme moléculaire de l'anticorps dans le modèle biologique donné.

L'échelle de notation de ADHD IV désigne un outil pour diagnostiquer ADHD et pour mesurer les améliorations au cours d'un traitement. (DuPaul G., et al. 1998). L'échelle contient 18 éléments qui notent les symptômes au moyen d'une échelle de gravité de type Likert à 4 points (0 = aucun, 1 = atténué, 2 = modéré et 3 = grave). Elle est basée sur les critères DSM-IV (référence diagnostique et statistique des troubles mentaux) pour ADHD. Elle a 9 éléments qui évaluent les symptômes d'inattention et 9 éléments qui évaluent les symptômes hyperactifs et impulsifs. Les questions d'évaluation des échantillons incluent "évite les tâches (par exemple travail scolaire, travail à la maison) qui nécessitent un effort mental soutenu" et "parle de manière excessive". L'échelle de notation ADHS a été développée et standardisée comme échelle de notation pour les enfants. Cependant, les notateurs-cliniciens peuvent être entraînés pour administrer avec succès cette échelle aux adultes. Selon le DSM-IV, ADHD peut être divisé en 3 sous-types : principalement inattentif ; principalement hyperactif-impulsif ; et le type combiné, pour lequel un patient doit répondre totalement aux critères pour les 2 autres sous-types. Les symptômes inattentifs incluent l'incapacité à être étroitement attentif à un détail, la difficulté à soutenir l'attention, le manque d'écoute lorsqu'on la parole est adressée, l'incapacité à suivre des instructions ou à terminer des tâches, les difficultés à s'organiser, la répugnance à s'engager dans des activités qui exigent un effort mental soutenu, la perte fréquente d'objets, la distraction

aisée et les oublis fréquents. Un patient doit avoir au moins 6 de ces 9 symptômes pour être considéré comme ayant le sous-type inattentif. L'échelle de notation de ADHD est disponible via Guilford Press.

5 Le terme "questionnaire de gravité de ADHD-CGI" désigne les échelles de notation des impressions globales cliniques qui sont communément utilisées pour mesurer la gravité des symptômes, la réponse au traitement et l'efficacité des traitements dans des études de traitement de patients ayant des troubles mentaux (Guy, W.,
10 1976). L'échelle de gravité des impressions globales cliniques est une échelle en 7 points qui demande au clinicien de noter la gravité de la maladie du patient au moment de l'évaluation, par rapport à l'expérience passée du clinicien avec des patients qui ont le même diagnostic. En considérant l'expérience clinique totale, un patient est
15 évalué concernant la gravité de la maladie mentale au moment de la notation 1 = normal, pas du tout malade ; 2, à la limite de la maladie mentale ; 3, malade de manière atténuée ; 4, malade modérément ; 5, malade de manière marquée ; 6, gravement malade ; ou 7, extrêmement malade.

20 Selon un aspect, la présente invention fournit une composition pharmaceutique d'association consistant en a) une forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase endothéliale et b) une forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine spécifique du cerveau S-100
25 destinée à être utilisée dans un procédé pour traiter le trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention, le procédé comprenant l'administration à un sujet qui en a besoin d'une composition pharmaceutique d'association consistant en a) une forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase endothéliale
30 et b) une forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine spécifique du cerveau S-100. Comme indiqué ci-dessus, chacun des composants individuels de l'association est connu généralement pour ses utilisations médicales individuelles. Cependant, les inventeurs de la présente demande ont découvert
35 avec surprise que l'administration de l'association est

remarquablement utile pour le traitement du trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention.

De préférence, aux fins de traitement, la composition pharmaceutique d'association est administrée de une fois à quatre
5 fois par jour, chaque administration incluant une ou deux formes galéniques unitaires d'association.

La composition pharmaceutique de la présente demande aux fins du traitement du trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention contient les composants actifs en volume principalement
10 dans le rapport 1 : 1.

Aux fins du traitement du trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention, les composants de la composition pharmaceutique peuvent être administrés séparément. Cependant, l'administration simultanée des composants associés sous forme de solutions et/ou
15 sous forme d'une forme galénique solide (comprimé), qui contient une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la protéine spécifique du cerveau S-100 et, ainsi, une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la NO synthase endothéliale est préférée.

De plus, pendant le traitement du trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention, l'application séparée et simultanée (prise dans l'organisme) de la composition pharmaceutique déclarée sous forme de deux médicaments préparés séparément l'un et l'autre sous forme de solutions et de formes galéniques solides (comprimés)
25 contenant chacune une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la NO-synthase endothéliale ou contre la protéine S-100 est possible.

Le produit médical est préparé principalement comme suit.

La composition pharmaceutique d'association selon la présente invention peut être sous forme liquide ou sous forme solide.
30 Chacune des formes activées potentialisées des anticorps incluses dans la composition pharmaceutique est préparée à partir d'une forme moléculaire initiale de l'anticorps via un processus accepté dans la technique homéopathique. Les anticorps de départ peuvent
35 être des anticorps monoclonaux ou polyclonaux préparés selon des processus connus, par exemple comme décrit dans

Immunotechniques, G. Frimel, M., "Meditsyna", 1987, p. 9-33; "*Hum. Antibodies. Monoclonal and recombinant antibodies, 30 years after*" de Laffly E., Sodoyer R. – 2005 – Vol. 14. – N 1-2. P.33-55.

Des anticorps monoclonaux peuvent être obtenus, par exemple, par la technologie des hybridomes. Le stade initial du processus comprend une immunisation basée sur les principes déjà développés au cours de la préparation d'antisérums polyclonaux. Les stades supplémentaires de l'opération comprennent la production de cellules hybrides générant des clones d'anticorps de spécificité identique. Leur isolement séparé est accompli au moyen des mêmes procédés que dans le cas de la préparation d'antisérums polyclonaux.

Des anticorps polyclonaux peuvent être obtenus via l'immunisation active d'animaux. Dans ce but, par exemple, des animaux appropriés (par exemple des lapins) reçoivent une série d'injections de l'antigène approprié : protéine spécifique de cerveau S100 et la NO synthase endothéliale. Le système immunitaire des animaux génère des anticorps correspondants, qui sont recueillis auprès des animaux d'une manière connue. Ce processus permet la préparation d'un sérum riche en anticorps monospécifiques.

Si on le souhaite, le sérum contenant des anticorps peut être purifié, par exemple par chromatographie d'affinité, fractionnement par précipitation de sels, ou chromatographie d'échange d'ions. Le sérum enrichi en anticorps purifié résultant peut être utilisé comme produit de départ pour la préparation de la forme activée-potentialisée des anticorps. La concentration préférée de la solution initiale d'anticorps résultante dans le solvant, de préférence l'eau ou un mélange eau-alcool éthylique, va d'environ 0,5 à environ 5,0 mg/ml.

Le processus préféré pour préparer chaque composant du médicament d'association selon la présente invention est l'utilisation du mélange de trois dilutions aqueuses-alcooliques de la solution de matrice primaire d'anticorps diluée 100^{12} , 100^{30} et 100^{200} fois, respectivement, qui équivaut à des dilutions homéopathiques centésimales C12, C30 et C200. Pour préparer une forme galénique solide, un support solide est traité avec la dilution souhaitée obtenue

via le processus homéopathique. Pour obtenir une forme galénique unitaire solide de l'association de l'invention, la masse du support est imprégnée de chacune des dilutions. Les deux ordres d'imprégnation sont appropriés pour préparer la forme galénique d'association
5 souhaitée.

Selon un mode de réalisation préféré, le produit de départ pour la préparation de la forme activée potentialisée qui comprend l'association de l'invention est formé d'anticorps polyclonaux dirigés contre la protéine spécifique du cerveau S-100 et la NO synthase
10 endothéliale et une solution (matrice) initiale d'une concentration de 0,5 à 5,0 mg/ml est utilisée pour la préparation subséquente de formes activées-potentialisées.

Pour préparer la composition pharmaceutique, de préférence des anticorps polyclonaux dirigés contre la protéine spécifique du
15 cerveau S-100 et la NO synthase endothéliale sont utilisés.

Des anticorps polyclonaux dirigés contre la NO synthase endothéliale sont obtenus en utilisant un adjuvant comme immunogène (antigène) pour l'immunisation de lapins et la molécule
entière de NO synthase endothéliale bovine de séquence suivante :

20

SEQ ID NO:1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|
| Met | Gly | Asn | Leu | Lys | Ser | Val | Gly | Gln | Glu | Pro | Gly | Pro | Pro | Cys | |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |
| 25 | 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 |
| 30 | 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 | |
| 35 | 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 |
| 5 | 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 |
| 10 | 166 | | | | 170 | | | | | 175 | | | | | 180 |
| | Arg | Asn | Ala | Pro | Arg | Cys | Val | Gly | Arg | Ile | Gln | Trp | Gly | Lys | Leu |
| | 181 | | | | 185 | | | | | 190 | | | | | 195 |
| | Gln | Val | Phe | Asp | Ala | Arg | Asp | Cys | Ser | Ser | Ala | Gln | Glu | Met | Phe |
| | 196 | | | | 200 | | | | | 205 | | | | | 210 |
| 15 | 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 |
| 20 | 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 |
| 25 | 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 |
| 30 | 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 |
| 35 | 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 |
| 5 | 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 | | |
| 10 | 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 |
| 15 | 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 | | |
| 20 | 511 | 515 | 510 525 |
| | Tyr Ala Ser Glu Thr Gly Arg Ala Gln Ser Tyr Ala Gln Gln Leu | | |
| | 526 | 530 | 535 540 |
| | Gly Arg Leu Phe Arg Lys Ala Phe Asp Pro Arg Val Leu Cys Met | | |
| | 541 | 545 | 550 555 |
| 25 | 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 | | |
| 30 | 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 |
| 35 | 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 |
| 5 | 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 |
| 10 | 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 |
| 15 | 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 |
| 20 | 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 |
| 25 | 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 |
| 30 | 856 | | | | 860 | | | | | 865 | | | | | 870 |
| | Pro | Ser | Pro | Arg | Leu | Leu | Arg | Leu | Leu | Ser | Thr | Leu | Ala | Glu | Glu |
| | 871 | | | | 875 | | | | | 880 | | | | | 885 |
| | Pro | Ser | Glu | Gln | Gln | Glu | Leu | Glu | Thr | Leu | Ser | Gln | Asp | Pro | Arg |
| | 886 | | | | 890 | | | | | 895 | | | | | 900 |
| 35 | 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 |
| 5 | 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 |
| 10 | 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 |
| 15 | 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 | | | | 1140 | | | | | 1145 | | | | | 1050 |
| | Arg | Cys | Ser | Gln | Leu | Asp | His | Leu | Tyr | Arg | Asp | Glu | Val | Gln | Asp |
| 20 | 1051 | | | | 1155 | | | | | 1160 | | | | | 1065 |
| | Ala | Gln | Glu | Arg | Gly | Val | Phe | Gly | Arg | Val | Leu | Thr | Ala | Phe | Ser |
| | 1066 | | | | 1170 | | | | | 1175 | | | | | 1080 |
| | Arg | Glu | Pro | Asp | Ser | Pro | Lys | Thr | Tyr | Val | Gln | Asp | Ile | Leu | Arg |
| | 1081 | | | | 1185 | | | | | 1190 | | | | | 1095 |
| 25 | 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 |
| 30 | 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 |
| 35 | Val | Thr | Ser | Arg | Ile | Arg | Thr | Gln | Ser | Phe | Ser | Leu | Gln | Glu | Arg |
| | 1171 | | | | 1175 | | | | | 1180 | | | | | 1185 |

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

5

Des anticorps polyclonaux dirigés contre la NO synthase endothéliale peuvent être obtenus en utilisant la molécule entière de NO synthase endothéliale humaine de séquence suivante :

10 SEQ ID NO: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
 15 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
 20 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
 25 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
 30 136 140 145 150
 Gln Glu Val Glu Ala Glu Val Ala Ala Thr Gly Thr Tyr Gln Leu
 151 155 160 165
 Arg Glu Ser Glu Leu Val Phe Gly Ala Lys Gln Ala Trp Arg Asn
 166 170 175 180
 35 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 |
| 5 | 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 |
| 10 | 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 |
| 15 | 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 |
| 20 | 331 | | | | 335 | | | | | 340 | | | | | 345 |
| | Leu | Glu | Phe | Pro | Ala | Ala | Pro | Phe | Ser | Gly | Trp | Tyr | Met | Ser | Thr |
| | 346 | | | | 350 | | | | | 355 | | | | | 360 |
| | Glu | Ile | Gly | Thr | Arg | Asn | Leu | Cys | Asp | Pro | His | Arg | Tyr | Asn | Ile |
| | 361 | | | | 365 | | | | | 370 | | | | | 375 |
| 25 | 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 |
| 30 | 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 |
| 35 | 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 |
| 5 | 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 |
| 10 | 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 |
| 15 | 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 |
| 20 | 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 |
| 25 | Arg | Phe | Cys | Val | Phe | Gly | Leu | Gly | 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 |
| 30 | 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 |
| 35 | 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 |
| 5 | 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 |
| 10 | 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 |
| 15 | 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 |
| 20 | 871 | | | | 875 | | | | | 880 | | | | | 885 |
| | Glu | Gln | Gln | Glu | Leu | Glu | Ala | Leu | Ser | Gln | Asp | Pro | Arg | Arg | Tyr |
| | 886 | | | | 890 | | | | | 895 | | | | | 900 |
| | Glu | Glu | Trp | Lys | Trp | Phe | Arg | Cys | Pro | Thr | Leu | Leu | Glu | Val | Leu |
| | 901 | | | | 905 | | | | | 910 | | | | | 915 |
| 25 | 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 |
| 30 | 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 |
| 35 | 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 |
| 5 | Gly | Leu | Gln | Pro | Thr | Pro | Met | Thr | Leu | Val | Phe | Gly | Cys | Arg | Cys |
| | 1036 | | | | 1140 | | | | | 1145 | | | | | 1050 |
| | Ser | Gln | Leu | Asp | His | Leu | Tyr | Arg | Asp | Glu | Val | Gln | Asn | Ala | Gln |
| | 1051 | | | | 1155 | | | | | 1160 | | | | | 1065 |
| | Gln | Arg | Gly | Val | Phe | Gly | Arg | Val | Leu | Thr | Ala | Phe | Ser | Arg | Glu |
| 10 | 1066 | | | | 1170 | | | | | 1175 | | | | | 1080 |
| | Pro | Asp | Asn | Pro | Lys | Thr | Tyr | Val | Gln | Asp | Ile | Leu | Arg | Thr | Glu |
| | 1081 | | | | 1085 | | | | | 1090 | | | | | 1095 |
| | Leu | Ala | Ala | Glu | Val | His | Arg | Val | Leu | Cys | Leu | Glu | Arg | Gly | His |
| | 1096 | | | | 1100 | | | | | 1105 | | | | | 1110 |
| 15 | 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 |
| 20 | 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 |
| 25 | Arg | Gly | Ala | Val | Pro | Trp | Ala | Phe | Asp | Pro | Pro | Gly | Ser | Asp | Thr |
| | 1186 | | | | 1190 | | | | | 1195 | | | | | 1200 |
| | Asn | Ser | Pro | | | | | | | | | | | | |
| | 1201 | | | | 1203 | | | | | | | | | | |

30 Pour obtenir des anticorps polyclonaux dirigés contre la NO synthase endothéliale, il est possible aussi d'utiliser un fragment de NO synthase endothéliale choisi, par exemple, parmi les séquences suivantes :

SEQ ID NO:3

Pro Trp Ala Phe

1192 1195

5 SEQ ID NO:4

Gly Ala Val Pro

1189 1192

SEQ ID NO:5

10

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

15 1201 1205

SEQ ID NO:6

Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro

11941195 1200

20 Asp Thr Pro Gly Pro

1201 1205

SEQ ID NO:7

His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp

25 1186 1190 11951196

SEQ ID NO:8

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

30 1186 1190 1195 1200

Asp Thr Pro Gly Pro

1201 1205

35 Le processus cité à titre d'exemple pour la préparation des anticorps polyclonaux de départ dirigés contre la NO synthase peut être décrit comme suit. 7-9 jours avant le prélèvement d'échantillons

sanguins, 1-3 injections intraveineuses de l'antigène souhaité sont faites aux lapins pour augmenter le niveau d'anticorps polyclonaux dans la circulation sanguine des lapins. Lors de l'immunisation, des échantillons sanguins sont prélevés pour tester le niveau d'anticorps.

- 5 Typiquement, le niveau maximum de réaction immunitaire de l'antigène soluble est obtenu dans un intervalle de 40 à 60 jours après la première injection de l'antigène. A l'achèvement du premier cycle d'immunisation, les lapins ont une période de réhabilitation de 30 jours, après quoi une ré-immunisation est accomplie avec 1-3
10 injections intraveineuses supplémentaires.

- Pour obtenir un antisérum contenant les anticorps souhaités, le sang des lapins immunisés est recueilli sur les lapins et placé dans un tube de centrifugeuse de 50 ml. Les caillots de produit formés sur les côtés du tube sont retirés avec une spatule en bois, et une
15 baguette est placée dans le caillot au centre du tube. Le sang est ensuite placé dans un réfrigérateur pendant une nuit à une température d'environ 4°C. Le jour suivant, le caillot sur la spatule est retiré, et le liquide restant est centrifugé pendant 10 min à 13000 tours par minute. Le fluide surnageant est l'antisérum cible.
20 L'antisérum obtenu est typiquement jaune. 20 % de NaN_3 (concentration en poids) est ajouté à l'antisérum à une concentration finale de 0,02 % et conservé avant l'utilisation à l'état congelé à la température de -20°C ou sans NaN_3 à la température de -70°C. Pour
25 séparer les anticorps cibles dirigés contre l'interféron gamma de l'antisérum, la séquence d'absorption sur une phase solide suivante est appropriée :

- (a) 10 ml d'antisérum de lapins sont dilués deux fois avec NaCl 0,15 M, après quoi 6,26 g de Na_2SO_4 sont ajoutés, mélangés et incubés pendant 12-16 heures à 4°C ;
30 (b) le sédiment est retiré par centrifugation, dilué dans 10 ml de tampon phosphate et dialysé contre le même tampon pendant une nuit à la température ambiante ;
(c) après le retrait du sédiment, la solution est appliquée à une colonne de DEAE-cellulose équilibrée par du tampon phosphate ;
35 (d) la fraction d'anticorps est déterminée en mesurant la densité optique de l'éluat à 280 nm.

Les anticorps bruts isolés sont purifiés par le procédé de chromatographie d'affinité en fixant les anticorps obtenus dirigés contre la NO synthase situés sur la matrice insoluble du milieu de chromatographie, avec élution subséquente par des solutions salines aqueuses concentrées.

La solution tampon résultante est utilisée comme solution initiale pour le processus de dilution homéopathique utilisé pour préparer la forme activée-potentialisée des anticorps. La concentration préférée de la solution de matrice initiale des anticorps polyclonaux de lapin purifiés sur antigène dirigés contre la NO synthase est 0,5 à 5,0 mg/ml, de préférence 2,0 à 3,0 mg/ml.

La protéine spécifique du cerveau S100, exprimée par les neurones et les cellules gliales (astrocytes et oligodendrocytes), directement ou par le biais d'interactions avec d'autres protéines, remplit dans le SNC un certain nombre de fonctions visant à maintenir un fonctionnement normal du cerveau, incluant une action sur les processus d'apprentissage et de mémoire, la croissance et la viabilité des neurones, la régulation de processus métaboliques dans les tissus neuronaux et d'autres. Pour préparer la forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la protéine spécifique du cerveau S100, la protéine spécifique du cerveau S-100 est utilisée, dont les propriétés physiques et chimiques sont décrites dans l'article de M. V. Starostin, S. M. Sviridov, Neurospecific Protein S-100, Progress of Modern Biology, 1977, Vol. 5, p. 170-178 ; qui se trouve dans le livre de M. B. Shtark, Brain-Specific Protein Antigens and Functions of Neuron, « Medicine », 1985, p.12-14. La protéine spécifique du cerveau S100 peut être retiré du tissu cérébral d'un taureau et traité comme suit :

- le tissu cérébral de taureau congelé dans l'azote liquide est converti en une poudre au moyen d'un broyeur spécialisé ;
- les protéines sont extraites dans le rapport de 1 : 3 (poids/volume) au moyen d'un tampon d'extraction avec homogénéisation ;
- l'homogénat est chauffé pendant 10 min à 60°C puis refroidi à 4°C dans un bain de glace ;

- les protéines thermolabiles sont retirées par centrifugation ;
- un fractionnement au sulfate d'ammonium est réalisé par stades, avec retrait subséquent des protéines précipitées ;
- 5 - la fraction contenant la protéine S-100 est précipitée par précipitation avec du sulfate d'ammonium saturé à 100 % accomplie en abaissant le pH à 4,0 ; la fraction souhaitée est recueillie par centrifugation ;
- le précipité est dissous dans un volume minimum de
- 10 tampon contenant de l'EDTA et du mercaptoéthanol, le précipité est dialysé avec de l'eau désionisée et lyophilisé ;
- le fractionnement des protéines acides est suivi par une chromatographie dans un milieu échangeur d'ions, DEAE-cellulose DE-52 puis DEAE-sephadex A-50;
- 15 - les fractions recueillies et dialysées, qui contiennent la protéine S-100, sont divisées selon la masse moléculaire par gel filtration sur sephadex G-100;
- la protéine S-100 purifiée est dialysée et lyophilisée.
- La masse moléculaire de la protéine spécifique du cerveau S-
- 20 100 purifiée est 21000 D.
- Du fait de la grande concentration d'acides asparaginique et glutaminique, la protéine spécifique du cerveau S-100 est très acide et occupe une position anodique extrême pendant l'électroendosmose dans un système tampon discontinu de gel de
- 25 polyacrylamide, ce qui facilite son identification.
- Les anticorps polyclonaux dirigés contre la protéine S-100 peuvent aussi être obtenus par une méthodologie similaire à la méthodologie décrite pour les anticorps dirigés contre la NO synthase endothéliale au moyen d'un adjuvant. La molécule entière
- 30 de protéine S-100 peut être utilisée comme immunogène (antigène) pour l'immunisation de lapins.

S100B bovine (SEQ ID NO:9)

35 Met Ser Glu Leu Glu Lys Ala Val Val Ala Leu Ile Asp Val Phe
1 5 10 15

His Gln Tyr Ser Gly Arg Glu Gly Asp Lys His Lys Leu Lys Lys
 16 20 25 30
 Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ile Asn Asn Glu Leu Ser His Phe Leu
 31 35 40 45
 5 Glu Glu Ile Lys Glu Gln Glu Val Val Asp Lys Val Met Glu Thr
 46 50 55 60
 Leu Asp Ser Asp Gly Asp Gly Glu Cys Asp Phe Gln Glu Phe Met
 61 65 70 75
 Ala Phe Val Ala Met Ile Thr Thr Ala Cys His Glu Phe Phe Glu
 10 76 80 85 90
 His Glu
 91 92

S100B humaine (SEQ ID NO:10)

15 Met Ser Glu Leu Glu Lys Ala Met Val Ala Leu Ile Asp Val Phe
 1 5 10 15
 His Gln Tyr Ser Gly Arg Glu Gly Asp Lys His Lys Leu Lys Lys
 16 20 25 30
 Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ile Asn Asn Glu Leu Ser His Phe Leu
 20 31 35 40 45
 Glu Glu Ile Lys Glu Gln Glu Val Val Asp Lys Val Met Glu Thr
 46 50 55 60
 Leu Asp Asn Asp Gly Asp Gly Glu Cys Asp Phe Gln Glu Phe Met
 61 65 70 75
 25 Ala Phe Val Ala Met Val Thr Thr Ala Cys His Glu Phe Phe Glu
 76 80 85 90
 His Glu
 91 92

30 S100A1 humaine (SEQ ID NO:11)

Met Gly Ser Glu Leu Glu Thr Ala Met Glu Thr Leu Ile Asn Val
 1 5 10 15
 Phe His Ala His Ser Gly Lys Glu Gly Asp Lys Tyr Lys Leu Ser
 16 20 25 30
 35 Lys Lys Glu Leu Lys Glu Leu Leu Gln Thr Glu Leu Ser Gly Phe
 31 35 40 45

Leu Asp Ala Gln Lys Asp Val Asp Ala Val Asp Lys Val Met Lys
 46 50 55 60
 Glu Leu Asp Glu Asn Gly Asp Gly Glu Val Asp Phe Gln Glu Tyr
 61 65 70 75
 5 Val Val Leu Val Ala Ala Leu Thr Val Ala Cys Asn Asn Phe Phe
 76 80 85 90
 Trp Glu Asn Ser
 91 94

10 S100A1 bovine (SEQ ID NO:12)

Met Gly Ser Glu Leu Glu Thr Ala Met Glu Thr Leu Ile Asn Val
 1 5 10 15
 Phe His Ala His Ser Gly Lys Glu Gly Asp Lys Tyr Lys Leu Ser
 16 20 25 30
 15 Lys Lys Glu Leu Lys Glu Leu Leu Gln Thr Glu Leu Ser Gly Phe
 31 35 40 45
 Leu Asp Ala Gln Lys Asp Ala Asp Ala Val Asp Lys Val Met Lys
 46 50 55 60
 Glu Leu Asp Glu Asn Gly Asp Gly Glu Val Asp Phe Gln Glu Tyr
 20 61 65 70 75
 Val Val Leu Val Ala Ala Leu Thr Val Ala Cys Asn Asn Phe Phe
 76 80 85 90
 Trp Glu Asn Ser
 91 94

25

Pour obtenir un antisérum, la protéine spécifique du cerveau
 S-100 ou le mélange de protéines S-100 (antigènes) est complexé
 avec la sérumalbumine de taureau méthylée comme agent vecteur
 avec de l'adjuvant complet de Freund est préparée et ajoutée à de la
 30 protéine spécifique du cerveau S-100 attribuée qui est injectée par
 voie hypodermique à un animal de laboratoire –un lapin dans le
 domaine du dos en une quantité de 1-2 ml. Les 8^{ème}, 15^{ème} jours une
 immunisation répétée est pratiquée. Un prélèvement d'échantillons
 sanguins est réalisé (par exemple sur une veine dans l'oreille) le
 35 26^{ème} jour et le 28^{ème} jour.

Le titre de l'antisérum obtenu est 1 : 500 – 1 : 1000, forme une seule bande de précipitine avec un extrait de tissu nerveux mais ne réagit pas avec des extraits de corps hétérologues et forme un seul pic de précipitine avec la protéine S-100 pure et avec l'extrait de tissu nerveux, ce qui indique que l'antisérum obtenu est monospécifique.

La forme activée potentialisée de chaque composant de l'association peut être préparée à partir d'une solution initiale par potentialisation homéopathique, de préférence en utilisant le procédé de diminution de concentration proportionnelle par dilution successive de 1 partie de chaque solution précédente (en commençant avec la solution initiale) dans 9 parties (pour une dilution décimale), ou dans 99 parties (pour une dilution centésimale), ou dans 999 parties (pour une dilution millésimale) d'un solvant neutre, en commençant avec une concentration de la solution initiale d'anticorps dans le solvant, de préférence l'eau ou un mélange eau-alcool éthylique, dans la plage d'environ 0,5 à environ 5,0 mg/ml, couplée avec un impact externe. De préférence, l'impact externe comprend de multiples agitations verticales (dynamisation) de chaque dilution. De préférence, des récipients séparés sont utilisés pour chaque dilution subséquente jusqu'au niveau d'activité requis, ou le facteur de dilution requis. Ce procédé est bien accepté dans la technique homéopathique. Voir par exemple V. Schwabe *"Homeopathic medicines"*, M., 1967, p. 14-29.

Par exemple, pour préparer une dilution 12-centésimale (appelée C12), une partie de la solution de matrice initiale d'anticorps dirigés contre la NO synthase d'une concentration de 3,0 mg/ml est diluée dans 99 parties de solvant neutre aqueux ou aqueux-alcoolique (de préférence d'alcool éthylique à 15 %) puis agitée verticalement de nombreuses fois (10 et plus) pour créer la 1^{ère} dilution centésimale (appelée C1). La 2^{ème} dilution centésimale (C2) est préparée à partir de la 1^{ère} dilution centésimale C1. Ce processus est répété 11 fois pour préparer la 12^{ème} dilution centésimale C12. Ainsi, la 12^{ème} dilution centésimale C12 représente une solution obtenue par 12 dilutions successives d'une partie de la solution de matrice d'anticorps initiale d'une concentration de 3,0

mg/ml dans 99 parties d'un solvant neutre dans des récipients différents, ce qui équivaut à la dilution homéopathique centésimale C12. Des processus similaires avec le facteur de dilution pertinent sont accomplis pour obtenir les dilutions souhaitées. Les dilutions
5 intermédiaires peuvent être testées dans un modèle biologique souhaité pour vérifier l'activité. Les formes activées potentialisées préférées pour des anticorps comprenant l'association de l'invention sont des dilutions C12, C30 et C200 pour chaque forme activée-potentialisée. Quand le mélange de différentes dilutions
10 homéopathiques (principalement centésimales) de la substance active est utilisé comme composant liquide biologiquement actif, chaque composant de la composition (par exemple C12, C30, C50, C200) est préparé séparément selon le processus décrit ci-dessus jusqu'à ce que l'avant-dernière dilution soit obtenue (par exemple
15 jusqu'à C11, C29, C49 et C199 respectivement), puis une partie de chaque composant est ajoutée dans un récipient selon la composition du mélange et mélangée avec la quantité requise de solvant (par exemple avec 97 parties pour une dilution centésimale).

Ainsi, la forme active-potentialisée d'anticorps dirigés contre la
20 protéine spécifique du cerveau S-100 à dose ultra-basse est obtenue par extra atténuation de solution de matrice, ainsi 100^{12} , 100^{30} and 100^{200} fois, ce qui équivaut à des solutions C12, C30 and C200 centésimales ou 100^{12} , 100^{30} and 100^{50} fois, ce qui équivaut à des solutions C12, C30 and C50 centésimales préparées par la
25 technologie homéopathique.

Il est possible d'utiliser la substance active sous forme d'un mélange de différentes solutions par la technologie homéopathique, par exemple décimales et/ou centésimales (C12, C30, C100 ; C12, C30, C50 ; D20, C30, C100 ou D10, C30, M100 etc.). L'efficacité est
30 définie expérimentalement.

Le traitement externe au cours de la potentialisation et de la réduction de la concentration peut aussi être réalisé au moyen d'ultrasons, d'une influence électromagnétique ou de toute autre influence physique acceptée dans la technique homéopathique.

35 De préférence, la composition pharmaceutique d'association de l'invention peut être sous forme d'un liquide ou d'une forme

galénique unitaire solide. La forme liquide préférée de la composition pharmaceutique est un mélange, de préférence à un rapport 1 : 1 de la forme activée potentialisée d'anticorps dirigés contre la NO synthase endothéliale et de la forme activée potentialisée d'anticorps dirigés contre la protéine S-100. Le support liquide préféré est l'eau ou un mélange eau-alcool éthylique.

La forme galénique unitaire solide de la composition pharmaceutique de l'invention peut être préparée en utilisant l'imprégnation d'un support solide pharmaceutiquement acceptable avec le mélange de la forme activée potentialisée de solutions aqueuses ou aqueuses-alcooliques de composants actifs qui sont mélangés, principalement dans un rapport 1 :1 et utilisés dans une forme galénique liquide. A titre d'alternative, le support peut être imprégné de manière consécutive avec chaque dilution requise. Les deux ordres d'imprégnation sont acceptables.

De préférence, la composition pharmaceutique dans la forme galénique unitaire solide est préparée à partir de granules du support pharmaceutiquement acceptable qui a été préalablement saturé avec les dilutions aqueuses ou aqueuses-alcooliques de la forme activée potentialisée d'anticorps. La forme galénique solide peut être sous toute forme connue dans la technique pharmaceutique, incluant un comprimé, une capsule, une pastille, et d'autres. Comme ingrédients pharmaceutiques inactifs on peut utiliser le glucose, le saccharose, le maltose, l'amidon, l'isomaltose, l'isomalt et d'autres mono-, oligo- et polysaccharides utilisés dans la fabrication de produits pharmaceutiques ainsi que des mélanges technologiques des ingrédients pharmaceutiques inactifs mentionnés ci-dessus avec d'autres excipients pharmaceutiquement acceptables, par exemple l'isomalt, la crospovidone, le cyclamate de sodium, la saccharine sodique, l'acide citrique anhydre, etc.), incluant les lubrifiants, les désintégrants, les liants et les agents colorants. Les supports préférés sont le lactose et l'isomalt. La forme galénique pharmaceutique peut inclure en outre des excipients pharmaceutiques standards, par exemple la cellulose microcristalline, le stéarate de magnésium et l'acide citrique.

L'exemple de préparation de la forme galénique unitaire solide est présenté ci-dessous. Pour préparer la forme orale solide, des granules de 100-300 µm de lactose sont imprégnés de solutions aqueuses ou aqueuses-alcooliques de la forme activée potentialisée d'anticorps dirigés contre l'histamine, la forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la NO synthase et la forme activée potentialisée d'anticorps dirigés contre la protéine S-100 dans le rapport de 1 kg de solution d'anticorps pour 5 ou 10 kg de lactose (1 : 5 à 1 : 10). Pour réaliser l'imprégnation, les granules de lactose sont exposés à une irrigation à saturation dans le lit bouillonnant fluidisé dans une installation à lit bouillonnant (par exemple "Hüttlin Pilotlab" de Hüttlin GmbH) avec séchage subséquent via un courant d'air chauffé à une température inférieure à 40°C. La quantité estimée des granules séchés (10 à 34 parties en poids) saturés de la forme activée potentialisée d'anticorps est placée dans le mélangeur, et mélangée avec 25 à 45 parties en poids de lactose pur « non saturé » (utilisé dans le but de réduction des coûts et de simplification et d'accélération du processus technologique sans diminuer l'efficacité du traitement), avec 0,1 à 1 partie en poids de stéarate de magnésium, et 3 à 10 parties en poids de cellulose microcristalline. La masse pour comprimés obtenue est mélangée uniformément, et mise sous forme de comprimés par pressage à sec direct (par exemple dans une presse à comprimés Korsch – XL 400) pour former des pilules rondes de 150 à 500 mg, de préférence de 300 mg. Après la formation des comprimés, des pilules de 300 mg sont obtenues, qui sont saturées de solution aqueuse-alcoolique (3,0-6,0 mg/pilule) de l'association de la forme activée-potentialisée d'anticorps. Chaque composant de l'association utilisée pour imprégner le support est sous forme d'un mélange de dilutions homéopathiques centésimales, de préférence C12, C30 et C200.

De préférence, 1-2 comprimés de la composition pharmaceutique revendiquée sont administrés 2-4 fois par jour.

La composition pharmaceutique revendiquée ainsi que ses composants ne possède pas d'effet sédatif et myorelaxant, n'entraîne pas d'addiction et d'accoutumance.

EXEMPLES

Exemple 1.

Etude de l'effet d'une préparation complexe contenant des doses ultra-basses (ULD) de formes activées-potentialisées d'anticorps polyclonaux de lapin purifiés par affinité dirigés contre la protéine spécifique du cerveau S-100 (anti-S100) et la NO synthase endothéliale (anti-eNOS), obtenues par super-dilution d'une solution de matrice initiale (concentration : 2,5 mg/ml) (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} fois), ce qui équivaut à un mélange de dilutions homéopathiques centésimales C12, C30, C200 (rapport : 1:1) (ULD anti-S100+anti-eNOS), ainsi que ses composants – forme activée-potentialisée d'anticorps polyclonaux de lapin purifiés par affinité contre des doses ultra-basses (ULD) de protéine spécifique du cerveau S-100 (anti-S100), purifiés sur antigène, obtenues par super-dilution de solution de matrice initiale (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} fois, ce qui équivaut à un mélange de dilutions homéopathiques centésimales C12, C30, C200 et de forme activée-potentialisée d'anticorps polyclonaux de lapin contre une dose ultra-basse de NO-synthase endothéliale (ULD anti-eNOS), obtenues par super-dilution de solution de matrice initiale (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} fois), équivalant à un mélange de dilutions homéopathiques centésimales C12, C30, C200 *in vitro* sur la liaison du ligand standard [^3H]pentazocine au récepteur recombinant humain σ_1 a été évalué au moyen d'un procédé à radioligand. De l'eau distillée potentialisée (mélange de dilutions homéopathiques C12+C30+C200) a été utilisée comme témoin de préparations test.

Le récepteur sigma-1 (σ_1) est un récepteur intracellulaire qui est localisé dans les cellules du système nerveux central, les cellules de la plupart des tissus périphériques et les cellules de composants immunitaires. Ces récepteurs présentent une aptitude unique à subir une translocation qui est causée par de nombreux médicaments psychotropes. La dynamique des récepteurs sigma-1 est liée directement à différentes influences qui sont réalisées par des préparations agissant sur les récepteurs sigma-1. Ces effets incluent la régulation de l'activité de canaux, l'écocytose, le transfert de signaux, le remodelage de la membrane plasmique, (formation de nacelles) et le transport/métabolisme des lipides. Tout ceci peut

contribuer à la plasticité des neurones dans un cerveau. Il existe des indices que les récepteurs sigma-1 ont un effet modulateur sur tous les systèmes neuromodulateurs majeurs : les systèmes noradrénergiques, sérotonergiques, dopaminergiques, cholinergiques et des effets de glutamate ajustables par NMDA. Le récepteur sigma-1 joue un rôle important dans la pathophysiologie des maladies neurodégénératives (par exemple maladie d'Alzheimer, Parkinson), les troubles psychiatriques et affectifs et les accidents vasculaires cérébraux ; et il participe aussi aux processus d'apprentissage et de mémoire. A ce sujet, l'aptitude de médicaments à influencer l'efficacité d'interaction de ligands avec le récepteur sigma-1 indique la présence de composants neuroprotecteurs, anti-ischémiques, anxiolytiques, antidépresseurs et anti-asténiques dans le spectre de son activité pharmacologique qui permet de considérer ces médicaments comme des préparations efficaces, en particulier pour le traitement des maladies cérébrovasculaires.

Pendant le test (pour mesurer la liaison totale), 20 µl de préparation complexe de ULD anti-S100 + anti-eNOS ou 10 µl de ULD de AB dirigés contre S100 ou 10 µl de ULD de AB dirigés contre NOS ont été transférés dans le milieu d'incubation. Ainsi, la quantité d'ULD anti-S100 + anti-eNOS, transférée dans le bassin de test lors du test de la préparation complexe était identique à celle d'ULD de AB dirigés contre S100 et d'ULD de AB dirigés contre NOS testés sous forme de monopréparations, ce qui permet de comparer l'efficacité de la préparation à ses composants séparés. 20 µl et 10 µl d'eau potentialisée ont été transférés dans le milieu d'incubation.

De plus, 160 µl (environ 200 µg de protéine) d'homogénat de membranes de lignée cellulaire Jurkat (lignée de lymphocytes T leucémique humaine), et finalement 20 µl de radioligand marqué au tritium [³H]pentazocine (15 nm) ont été transférés.

Pour mesurer la liaison non spécifique, 20 µl de ligand non marqué halopéridol (10 µM) ont été transférés dans le milieu d'incubation à la place des préparations ou de l'eau potentialisée.

La radioactivité a été mesurée au moyen d'un scintillomètre (Topcount, Packard) et d'un mélange de scintillation (Microscint 0, Packard) après l'incubation dans un intervalle de 120 minutes à 22°C

dans du tampon Tris-HCl 50 mM (pH 7,4) et filtration avec des filtres en fibres de verre (GF/B, Packard). La liaison spécifique (pendant le test ou témoin) a été calculée comme différence entre la liaison totale (pendant le test ou témoin) et la liaison non spécifique.

- 5 Les résultats sont représentés en pourcentage d'inhibition de la liaison spécifique dans le témoin (de l'eau distillée a été utilisée comme témoin) (tableau 1).

Tableau 1.

| Groupe test | Quantité par bassin de test | % de liaison spécifique de radioligand dans le témoin | | | % d'inhibition de liaison de radioligand dans le témoin |
|-------------------------|-----------------------------|---|----------------------|---------|---|
| | | 1 st test | 2 nd test | Moyenne | |
| ULD anti-S100+anti-eNOS | 20 µl | 48,4 | 35,5 | 42,0 | 58,0 |
| ULD anti-S100 | 10 µl | 67,3 | 63,1 | 65,2 | 34,8 |
| ULD anti-eNOS | 10 µl | 147,5 | 161,1 | 154,3 | -54,3 |
| Eau potentialisée | 20 µl | 98,1 | 75,8 | 86,9 | 13,1 |
| Eau potentialisée | 10 µl | 140,1 | 106,2 | 123,2 | -23,2 |

- 10 Effet des préparations et de l'eau potentialisée sur la liaison du ligand standard [³H]pentazocine au récepteur σ 1 recombinant humain

Note: % de liaison spécifique dans le témoin = (liaison spécifique pendant le test/ liaison spécifique dans le témoin)* 100%;

15

% d'inhibition de liaison spécifique dans le témoin = 100% - (liaison spécifique pendant le test/ liaison spécifique dans le témoin) * 100%).

Les résultats reflétant une inhibition au-delà de 50 % représentent des effets significatifs des composés testés ; une inhibition de 25 % à 50 % confirme des effets doux à modérés ; une inhibition inférieure à 25 % est considérée comme étant un effet insignifiant du composé testé et est dans les limites du bruit de fond.

De ce fait, les conditions de ce modèle de test montraient que la préparation complexe d'ULD anti-S100 + anti-eNOS est plus efficace que ses composants séparés (ULD anti-S100 et ULD anti-eNOS) pour inhiber la liaison du radioligand standard [³H]pentazocine au récepteur σ 1 recombinant humain ; une ULD anti-S100, transférée dans le bassin de test, à savoir 10 μ l, inhibe la liaison du radioligand standard [³H]pentazocine au récepteur σ 1 recombinant humain, mais l'intensité de l'effet est inférieure à celle de la préparation complexe d'ULD anti-S100 + anti-eNOS ; une ULD anti-eNOS, transférée dans le bassin de test, à savoir 10 μ l, n'avait pas d'effet sur la liaison du radioligand standard [³H]pentazocine au récepteur σ 1 recombinant humain ; l'eau potentialisée, transférée dans le bassin de test, à savoir 10 μ l ou 20 μ l, n'avait pas d'effet sur la liaison du radioligand standard [³H]pentazocine au récepteur σ 1 recombinant humain.

Exemple 2.

Groupe 1 – le groupe de médicament actif a reçu des comprimés de 300 mg imprégnés de solutions aqueuses-alcooliques (6 mg/comp.) de forme activée-potentialisée d'anticorps polyclonaux de lapin dirigés contre la protéine spécifique du cerveau S-100 (anti-S-100), et contre NO-synthase endothéliale (anti-eNOS) à dose ultra basse (ULD anti-S-100 + ULD anti-eNOS), purifiés sur un antigène, obtenue par super dilution de solution initiale (de concentration de 2,5 mg/ml) 100¹², 100³⁰, 100²⁰⁰ fois, équivalant à un mélange de dilutions homéopathiques centésimales C12, C30, C200;

Groupe 2 – le groupe comparatif a reçu des comprimés de 300 mg imprégnés d'une solution aqueuse-alcoolique (3 mg/comp.) de formes activées - potentialisées d'anticorps polyclonaux de lapin dirigés contre la protéine spécifique du cerveau S-100 purifiés sur

un antigène à dose ultra basse (ULD anti-S100) obtenue par super dilution de solution initiale 100^{12} , 100^{30} , 100^{50} fois, de mélange équivalent de dilutions homéopathiques C12, C30, C50.

Groupe 3 – le groupe témoin (placebo) a reçu des comprimés
5 de 300 mg ayant des excipients (lactose monohydraté – 267 mg, cellulose microcristalline – 30 mg, stéarate de magnésium – 3 mg).

L'efficacité du médicament actif ULD anti-S100 + anti-eNOS dans le traitement de patients ayant un syndrome de trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention (ADHD) a été conduite dans
10 une étude comparative contre placebo en double insu chez 146 enfants de 6 à 12 ans (âge moyen $9,3 \pm 0,24$ ans) qui étaient randomisés en trois groupes en fonction de la thérapie prescrite. Dans un intervalle de 12 semaines les patients du groupe n°. 1 ($n = 46$) ont reçu la composition ULD anti-S100 + anti-eNOS, 2
15 comprimés deux fois par jour; les membres du groupe comparatif 2 ($n = 50$) ont reçu ULD anti-S100, 2 comprimés deux fois par jour; les membres du groupe témoin 3 ($n = 50$) ont reçu 2 comprimés deux fois par jour. Tous les patients inclus dans l'étude avaient des présentations cliniquement marquées de ADHD qui était confirmée
20 par des points élevés sur l'échelle d'évaluation des symptômes de ADHD (ADHDRS-IV-Home Version): $33,8 \pm 0,92$ dans le groupe 1; $32,5 \pm 1,14$ dans le groupe 2 et $33,6 \pm 0,91$ dans le groupe 3. La plupart des enfants étaient caractérisés par un degré de gravité de ADHD modéré selon le questionnaire de gravité de ADHD CGI. La
25 note totale sur cette échelle était $4,0 \pm 0,02$ points dans le groupe 1, $4,0 \pm 0,03$ points dans le groupe 2, et $4,0 \pm 0,00$ points dans le groupe 3. Ainsi, initialement les patients des trois groupes avaient des indicateurs de gravité de ADHD comparables. Selon les résultats de l'examen neurologique, clinique de laboratoire et instrumental au
30 moment de l'engagement dans l'étude, aucune anomalie n'a été détectée chez aucun patient. Sur les 12 semaines du traitement, les patients ont été vus six fois par un médecin. Durée pendant laquelle le médecin-chercheur notait la dynamique d'intensité des présentations cliniques de ADHD (note totale sur une échelle
35 , ADHDRS-IV-Home Version) et la gravité de la maladie (sur la gravité

de ADHD CGI), supervisait les prescriptions et l'administration du traitement et évaluait l'innocuité du traitement.

L'analyse de l'efficacité de la thérapie de 12 semaines dans les trois groupes montrait une diminution de plus de 25 % par rapport à la note totale initiale sur une échelle ADHDRS-IV-Home Version chez 75% (n = 36) des enfants traités avec la composition ULD anti-S100 + anti-eNOS; chez 66% (n = 33) des patients traités avec ULD anti-S100 et chez 56% (n = 28) des enfants recevant le placebo. Les différences d'efficacité entre les groupes présentant une évaluation plus détaillée, en prenant en compte la gradation à trois niveaux de l'amélioration de l'état (réduction de la note totale sur une échelle ADHDRS-IV de <25%, 25-49,9% ou \geq 50% par rapport à la ligne de base), sont présentées dans le tableau 2. Une amélioration significative avec une réduction de la note totale de 50 % ou plus par rapport à la ligne de base était notée chez 52 % des enfants dans le groupe 9 qui prenaient ULD anti-S100 + anti-eNOS, et chez 34% des enfants dans le groupe 2 qui prenaient ULD anti-S100 (contre 8% des patients dans le groupe 3 avec placebo).

La dynamique de réduction des symptômes de ADHD pendant la période de traitement (la valeur de la note totale sur l'échelle ADHDRS-IV-Home Version à chacune des six visites) est présentée sur la figure 1 et dans le tableau 3. Une réduction significative ($p < 0,001$) des implications cliniques de ADHD par rapport à l'état initial apparaissait déjà après 2 semaines de thérapie dans les trois groupes d'observation. La dynamique positive était plus significative chez les patients des groupes 9 et 2 car les différences significatives ont été identifiées chez eux entre les notes ADHDRS-IV-Home Version totales, non seulement concernant la visite de sélection mais aussi quand elles sont comparées avec les indices du groupe 3 avec placebo. Au cours des semaines de traitement subséquentes, l'efficacité du traitement avec la composition ULD anti-S100 + anti-eNOS et la préparation monocomposant ULD-S100 commençait à croître, le plus significativement dans le groupe du médicament actif ($p < 0,05$). La diminution résultante dans la note totale sur une échelle ADHDRS-IV-Home Version chez les enfants du groupe 9 avec ULD anti-S100 +

anti-eNOS était 16,5 points, chez les patients du groupe 2 avec des anti-S100 – 12,4 points (comparée à 6,3 points dans le groupe 3 avec le placebo). A la suite des 12 semaines de traitement, l'intensité des implications cliniques de ADHD chez les enfants traités avec la composition ULD anti-S100 + anti-eNOS diminuait sensiblement chez la moitié (-48,8 %) et chez les patients traités avec ULD anti-S100 chez plus d'un tiers (-38,2 %) par rapport à la ligne de base.

La prise de composition ULD anti-S100 + anti-eNOS ou ULD anti-S100 influençait les deux groupes de symptômes de ADHD ce qui était confirmé par la dynamique des évaluations par deux sections de l'échelle avec ADHDRS-IV-Home Version (tableau 3). De plus, le traitement avec la composition ULD anti-S100 + anti-eNOS était sensiblement plus élevé que l'efficacité de la thérapie avec la monopréparation ULD anti-S100 dans le degré d'influence sur l'intensité des implications et le déficit d'attention et l'hyperactivité/impulsivité.

L'effet thérapeutique positif du médicament actif ULD anti-S100 + anti-eNOS et du médicament comparatif ULD-S100 était montré dans l'évaluation des résultats du traitement des patients sur une échelle d'évaluation de la gravité de ADHD (gravité de ADHR CGI) (tableau 4). Sensiblement le quart des patients dans le groupe ULD anti-S100 + anti-eNOS la gravité de la maladie diminuait de modérée à atténuée et même à minimale comme cela était confirmé par une diminution de la valeur moyenne sur une échelle de gravité ADHR CGI à 15 % après trois mois de thérapie (de $4,0 \pm 0,02$ à $3,4 \pm 0,06$; $p < 0,001$). L'effet de la thérapie avec la monopréparation ULD anti-S100 était légèrement inférieur et indiquait -10% on une échelle de gravité ADHR CGI sur 3 mois (contre 5% dans le groupe du placebo). L'analyse de l'innocuité incluait des données de tous les patients participant à l'étude. Pendant toute la période de suivi, il y avait les deux, bien comparables au placebo, la tolérance au médicament actif ULD anti-S100 + anti-eNOS et la préparation comparative ULD-S100. Des événements indésirables ont été décrits chez un patient du groupe avec ULD anti-S100 (maux de tête disparaissant pendant la quatrième semaine de l'étude) et chez un

patient du groupe du placebo (somnambulisme pendant le second mois d'observation). Ces événements indésirables n'étaient pas liés à la thérapie. De plus, pendant le traitement, les seuls cas de maladie respiratoire aiguë ont été observés, lesquels ne sont pas associés non plus à la thérapie. Tous les patients des groupes étudiés ont achevé le traitement conformément au schéma établi par le protocole de l'étude ; aucun abandon précoce. L'absence de changements pathologiques selon l'examen physique des patients et au cours de l'analyse répétée des paramètres de laboratoire confirmait l'innocuité de la thérapie étudiée.

Selon les résultats de l'examen physique (fréquence cardiaque, SBP, DBP, température corporelle) chez les patients aucune altération pathologique pendant le traitement n'a été notée. Les différences dans les taux d'analyse selon les visites et dans les groupes comparés n'atteignaient pas la signification statistique et ne dépassaient pas les limites des écarts physiologiquement admissibles. De hauts taux d'adhésion à la thérapie apparaissaient en outre, tant concernant l'efficacité que concernant l'innocuité des préparations étudiées. A la fin du troisième mois de traitement, l'adhésion était $99,8 \pm 1,15\%$ et $98,8 \pm 2,25\%$ dans le groupe 9 avec ULD anti-S100 + anti-eNOS et dans le groupe 2 avec ULD anti-S100 respectivement (contre $74,6 \pm 2,54\%$ dans le groupe 3 avec placebo).

Ainsi, l'étude démontrait l'efficacité et l'innocuité des compositions ULD anti-S100 + anti-eNOS et de la préparation monocomposant ULD-S100 dans le traitement des enfants ayant ADHD. L'effet thérapeutique le plus prononcé dans la cure de 12 semaines était observé dans le médicament complexe (ULD anti-S100 + anti-eNOS) qui se manifestait par une dynamique positive des symptômes cliniques chez la majorité (75 %) des enfants. La composition ULD anti-S100 + anti-eNOS avait une influence correctrice sur les deux groupes de symptômes de ADHD et, à titre de résultat, une réduction significative des troubles de l'attention et de l'hyperactivité chez les patients ayant ADHA était notée.

Tableau 2. Dynamique de la note totale par l'échelle ADHDRS-IV-Home
Version à la fin des 12 semaines de thérapie

| Groupes de patients | La proportion de patients ayant une diminution de la note totale par l'échelle ADHDRS-IV-Home Version | | |
|---------------------------------|---|---|--|
| | Moins de 25,0% par rapport à la ligne de base | 25,0 – 49,9% par rapport à la ligne de base | 50,0% et plus par rapport à la ligne de base |
| ULD anti-S100 + anti-eNOS, n=48 | 12 (25%) | 11 (23%) | 25 (52%) ## |
| ULD anti - S100, n=50 | 17 (34%) | 16 (32%) | 17 (34%) ## |
| Placebo, n=50 | 22 (44%) | 24 (48%) | 4 (8%) |

La différence est significative par comparaison avec le groupe
5 du placebo:

$p < 0,01$.

10 Tableau 3. Dynamique de signes d'implications cliniques de
ADHD par l'échelle ADHDRS-IV-Home Version

| Stade de traitement | ULD anti-S100 + anti-eNOS, n=48 | | ULD anti-S100, n=50 | | Placebo, n=50 | |
|---------------------|---------------------------------|----------------------------------|-------------------------|----------------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| | Valeur (M±SE) | Δ par rapport à la ligne de base | Valeur (M±SE) | Δ par rapport à la ligne de base | Valeur (M±SE) | Δ par rapport à la ligne de base |
| Note totale | | | | | | |
| Sélection | 33,8 ±0,96 | | 32,5 ± 1,14 | | 33,6 ± 0,91 | |
| 2 semaines | 24,1 ±0,97 *** # | -28,7% | 25,1 ± 1,03 *** # | -22,8 % | 28,8 ± 1,26 *** | -14,3 % |

| | | | | | | |
|---------------------------------|-----------------------------|--------|------------------------------|---------|-----------------------|---------|
| 4 semaines | 22,6 ±0,98 *** # # | -33,1% | 22,7 ± 1,23 *** ## | -30,2 % | 29,9 ± 1,06 *** | -11,0 % |
| 6 semaines | 19,4 ±0,95 *** # # | -42,6% | 20,8 ± 1,06 *** ## | -36,0 % | 29,0 ± 1,25 *** | -13,7 % |
| 8 semaines | 18,9 ±0,94 *** # ## | -44,1% | 20,9 ± 1,30 *** ### | -35,7 % | 27,6 ± 1,35 *** | -17,9 % |
| 12 semaines | 17,3 ±0,96 *** # ## & | -48,8% | 20,1 ± 1,21 *** ### | -38,2 % | 27,3 ± 1,48 *** | -18,8 % |
| Troubles de l'attention | | | | | | |
| Sélection | 18,4 ±0,55 | | 17,4 ± 0,57 | | 18,4 ± 0,43 | |
| 2 semaines | 12,8 ±0,57 *** # | -30,4% | 13,7 ± 0,68 *** # | -21,3 % | 16,1 ± 0,66 *** | -12,5 % |
| 4 semaines | 11,6 ±0,56 *** # ## | -37,0% | 12,9 ± 0,79 *** ### | -25,9 % | 16,4 ± 0,57 *** | -10,9 % |
| 6 semaines | 10,7 ±0,54 *** ### | -41,8% | 11,9 ± 0,64 *** ### | -31,6 % | 16,0 ± 0,70 *** | -13,0 % |
| 8 semaines | 10,3 ±0,53 *** ### | -44,0% | 11,5 ± 0,70 *** ### | -33,9 % | 15,1 ± 0,76 *** | -17,9 % |
| 12 semaines | 9,7 ±0,55 *** # ## & | -47,3% | 11,4 ± 0,68 *** ## | -34,5 % | 14,9 ± 0,78 *** | -19,0 % |
| Hyperactivité /impulsion | | | | | | |
| Sélection | 15,4 ±0,61 | | 15,1 ± 0,77 | | 15,2 ± 0,62 | |

| | | | | | | |
|-------------|---------------------------|--------|--------------------------|---------|-----------------------|---------|
| 2 semaines | 11,3 ±0,63 *** | -26,6% | 11,4 ± 0,61 *** | -24,5 % | 12,7 ± 0,74 *** | -16,4 % |
| 4 semaines | 11,0 ±0,62 *** ### | -28,6% | 9,8 ± 0,64 *** ### | -35,1 % | 13,5 ± 0,67 ** | -11,2 % |
| 6 semaines | 8,7 ±0,59 *** ## | -43,5% | 8,9 ± 0,64 *** ### | -41,1 % | 12,9 ± 0,73 ** | -15,1 % |
| 8 semaines | 8,6 ±0,60 *** ## | -44,2% | 9,5 ± 0,76 *** ## | -37,1 % | 12,5 ± 0,81 *** | -17,8 % |
| 12 semaines | 7,6 ±0,57 *** ### & | -50,6% | 8,7 ± 0,70 *** ### | -42,4 % | 12,5 ± 0,82 *** | -17,8 % |

Note. La différence est significative par comparaison avec le paramètre de la ligne de base:

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

La différence est significative par comparaison avec le groupe
5 du placebo:

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

La différence est significative par comparaison avec le groupe
de

ULD anti-S100: & $p < 0,05$.

Tableau 4. Dynamique du niveau de gravité de ADHD par l'échelle de gravité de ADHD CGI

| Paramètre | | |
|--|-----------------|----------------------------------|
| | Gravité de ADHD | |
| | M±SE | Δ par rapport à la ligne de base |
| ULD anti-S100 + anti-eNOS, n=48 | | |
| Sélection | 4,0±0,02 | |
| 4 Semaines | 3,6±0,02** | -10% |
| 12 Semaines | 3,4±0,06*** | -15% |
| ULD anti-S100, n=50 | | |
| Sélection | 4,0±0,03 | |
| 4 Semaines | 3,8±0,06** | -5% |
| 12 Semaines | 3,6±0,08*** | -10% |
| Placebo, n=50 | | |
| Sélection | 4,0±0,01 | |
| 4 Semaines | 3,9±0,05 | -2,5% |
| 12 Semaines | 3,8±0,06*** | -2,5% |

5 La différence est significative par comparaison avec le paramètre de la ligne de base : ** p<0,01, *** p<0,001.

REVENDEICATIONS

1. Composition pharmaceutique d'association destinée à être utilisée dans un procédé pour traiter un trouble choisi dans le
5 groupe consistant en le groupe d'hyperactivité avec déficit de l'attention, le trouble de déficit de l'attention, réduire les symptômes du trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention comme mesuré par le test ADHDRS-IV Home Version, et réduire les symptômes du trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention comme mesuré par
10 le test de gravité de ADHD-CGI, ladite composition pharmaceutique d'association comprenant a) une forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine spécifique du cerveau S-100 et b) une forme activée-potentialisée d'anticorps dirigés contre la NO synthase endothéliale.

15 2. Composition destinée à être utilisée selon la revendication 1, où la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine spécifique du cerveau S-100 est dirigée contre la protéine spécifique du cerveau S-100 bovine entière.

20 3. Composition destinée à être utilisée selon la revendication 1 ou 2, où la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine spécifique du cerveau S-100 est dirigée contre la protéine spécifique du cerveau S-100 ayant SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11 ou SEQ ID NO:12.

25 4. Composition destinée à être utilisée selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, où la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase endothéliale est dirigée contre la NO synthase bovine entière.

30 5. Composition destinée à être utilisée selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, où la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase endothéliale est dirigée contre la NO synthase humaine entière.

35 6. Composition destinée à être utilisée selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, où la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine spécifique du cerveau S-100, est sous forme d'un mélange de dilutions homéopathiques C12, C30 et C50 imprégnant un support solide et la

forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase endothéliale est sous forme d'un mélange de dilutions homéopathiques C12, C30 et C50 imprégnant ensuite le support solide.

- 5 7. Composition destinée à être utilisée selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, où la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine spécifique du cerveau S-100 est sous forme d'un mélange de dilutions homéopathiques C12, C30 et C200 imprégnant un support solide et
- 10 la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase endothéliale est sous forme d'un mélange de dilutions homéopathiques C12, C30 et C200 imprégnant ensuite le support solide.

- 15 8. Composition destinée à être utilisée selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, où la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase endothéliale est sous forme d'un mélange de dilutions homéopathiques C12, C30 et C50 imprégnant un support solide et la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine spécifique du cerveau S-100
- 20 est sous forme d'un mélange de dilutions homéopathiques C12, C30 et C50 imprégnant ensuite le support solide.

- 25 9. Composition destinée à être utilisée selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, où la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase endothéliale sous forme d'un mélange de dilutions homéopathiques C12, C30 et C200 imprégnant un support solide et la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine spécifique du cerveau S-100 est sous forme d'un mélange de dilutions homéopathiques C12, C30 et C200 imprégnant ensuite le support solide.

- 30 10. Composition destinée à être utilisée selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, où a) la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine spécifique du cerveau S-100 et b) la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase endothéliale sont un anticorps
- 35 monoclonal, polyclonal ou naturel, de préférence un anticorps polyclonal.

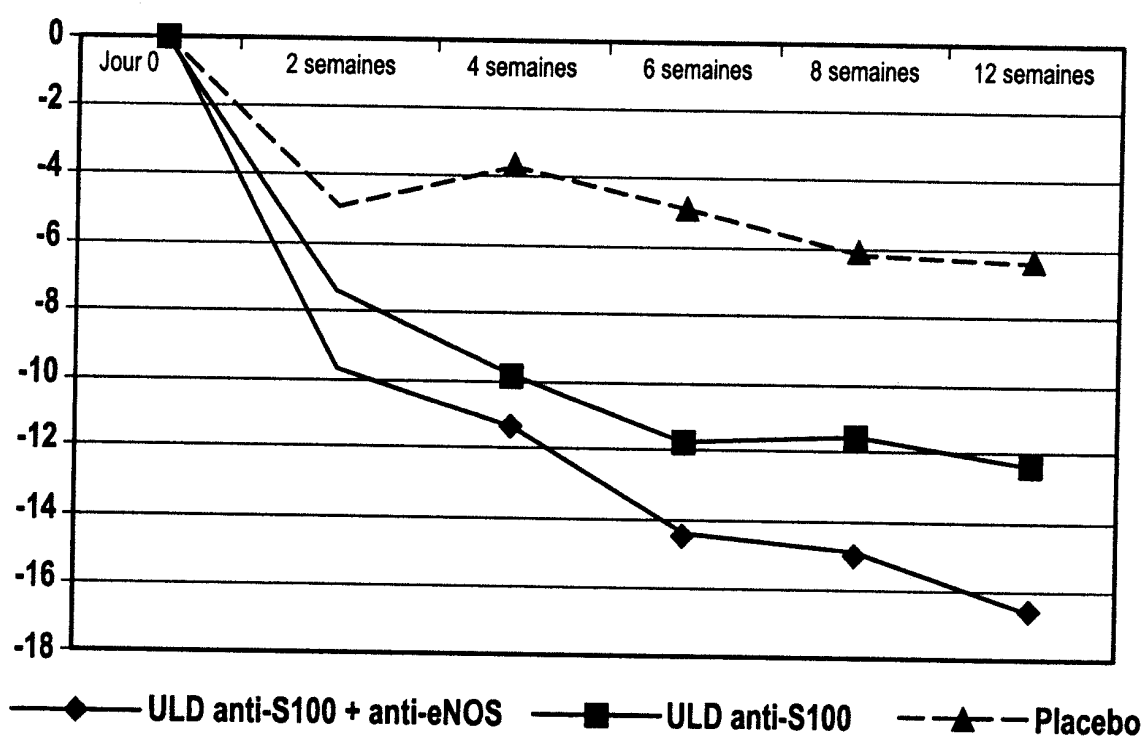
11. Composition destinée à être utilisée selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, où a) la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la protéine spécifique du cerveau S-100 et b) la forme activée-potentialisée d'un anticorps dirigé contre la NO synthase endothéliale sont préparées par dilutions centésimales successives couplées avec une agitation de chaque dilution.

12. Composition destinée à être utilisée selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, où la composition est administrée dans une à deux formes galéniques unitaires, chacune des formes galéniques étant administrée de une fois par jour à quatre fois par jour, de préférence deux fois par jour.

13. Composition destinée à être utilisée selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, où ladite composition est administrée à un patient qui est un enfant de moins de 12 ans.

14. Composition destinée à être utilisée selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, où ladite composition est administrée à un patient qui est un adulte.

1/1



LISTAGE DES SEQUENCES

<110> Epshtein, Oleg Ilich

<120> Composition pharmaceutique d'association destinée à être utilisée dans un procédé pour traiter le trouble d'hyperactivité avec déficit de l'attention

<160> 12

<170> BISSAP 1.0

<210> 1

<211> 1205

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..1205

<223> /mol_type="protéine"
/organisme="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="protéine"
 /organisme="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
 page 3

210 Arg Ser Ala Ile Thr Val Phe Pro Gln Arg Cys Pro Gly Arg Gly Asp
 225 Phe Arg Ile Trp Asn Ser Gln Leu Val Arg Tyr Ala Gly Tyr Arg Gln
 230 235 240
 245 Gln Asp Gly Ser Val Arg Gly Asp Pro Ala Asn Val Glu Ile Thr Glu
 250 255
 260 Leu Cys Ile Gln His Gly Trp Thr Pro Gly Asn Gly Arg Phe Asp Val
 270 275
 280 Leu Pro Leu Leu Gln Ala Pro Asp Glu Pro Pro Glu Leu Phe Leu
 285 290
 295 Leu Pro Pro Glu Leu Val Leu Glu Val Pro Leu Glu His Pro Thr Leu
 300 305
 310 Glu Trp Phe Ala Ala Leu Gly Leu Arg Trp Tyr Ala Leu Pro Ala Val
 315 320
 325 Ser Asn Met Leu Leu Glu Ile Gly Gly Leu Glu Phe Pro Ala Ala Pro
 330 335
 340 Phe Ser Gly Trp Tyr Met Ser Thr Glu Ile Gly Thr Arg Asn Leu Cys
 345 350
 355 Asp Pro His Arg Tyr Asn Ile Leu Glu Asp Val Ala Val Cys Met Asp
 360 365
 370 Leu Asp Thr Arg Thr Thr Ser Ser Leu Trp Lys Asp Lys Ala Ala Val
 375 380
 385 Glu Ile Asn Val Ala Val Leu His Ser Tyr Gln Leu Ala Lys Val Thr
 390 395
 400 Ile Val Asp His Ala Ala Thr Ala Ser Phe Met Lys His Leu Glu
 405 410
 415 Asn Glu Gln Lys Ala Arg Gly Gly Cys Pro Ala Asp Trp Ala Trp Ile
 420 425
 430 Val Pro Pro Ile Ser Gly Ser Leu Thr Pro Val Phe His Gln Glu Met
 435 440
 445 Val Asn Tyr Phe Leu Ser Pro Ala Phe Arg Tyr Gln Pro Asp Pro Trp
 450 455
 460 Lys Gly Ser Ala Ala Lys Gly Thr Gly Ile Thr Arg Lys Lys Thr Phe
 465 470
 475 Lys Glu Val Ala Asn Ala Val Lys Ile Ser Ala Ser Leu Met Gly Thr
 480 485
 490 Val Met Ala Lys Arg Val Lys Ala Thr Ile Leu Tyr Gly Ser Glu Thr
 495 500
 505 Gly Arg Ala Gln Ser Tyr Ala Gln Gln Leu Gly Arg Leu Phe Arg Lys
 510 515
 520 Ala Phe Asp Pro Arg Val Leu Cys Met Asp Glu Tyr Asp Val Val Ser
 525 530
 535 Leu Glu His Glu Thr Leu Val Leu Val Val Thr Ser Thr Phe Gly Asn
 540 545
 550 Gly Asp Pro Pro Glu Asn Gly Glu Ser Phe Ala Ala Ala Leu Met Glu
 555 560
 565 Met Ser Gly Pro Tyr Asn Ser Ser Pro Arg Pro Glu Gln His Lys Ser
 570 575
 580 Tyr Lys Ile Arg Phe Asn Ser Ile Ser Cys Ser Asp Pro Leu Val Ser
 585 590
 595 Ser Trp Arg Arg Lys Arg Lys Glu Ser Ser Asn Thr Asp Ser Ala Gly
 600 605
 610 Ala Leu Gly Thr Leu Arg Phe Cys Val Phe Gly Leu Gly Ser Arg Ala
 615 620
 625 Tyr Pro His Phe Cys Ala Phe Ala Arg Ala Val Asp Thr Arg Leu Glu
 630 635
 640 Glu Leu Gly Gly Glu Arg Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Asp Glu Leu
 645 650
 655 Cys Gly Gln Glu Glu Ala Phe Arg Gly Trp Ala Gln Ala Ala Phe Gln
 660 665
 670 Ala Ala Cys Glu Thr Phe Cys Val Gly Glu Asp Ala Lys Ala Ala Ala
 675 680
 685 Ala Asp Ile Phe Ser Pro Lys Arg Ser Trp Lys Arg Gln Arg Tyr Arg
 690 695
 700 Leu Ser Ala Gln Ala Glu Gly Leu Gln Leu Leu Pro Gly Leu Ile His
 705 710
 715 Val His Arg Arg Lys Met Phe Gln Ala Thr Ile Arg Ser Val Glu Asn
 720 725
 730 Leu Gln Ser Ser Lys Ser Thr Arg Ala Thr Ile Leu Val Arg Leu Asp
 735 740
 745 Thr Gly Gly Gln Glu Gly Leu Gln Tyr Gln Pro Gly Asp His Ile Gly
 750 755
 760 765
 770 775
 780

```

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="protéine"
      /organisme="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="protéine"
/organisme="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="protéine"
/organisme="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="protéine"
/organisme="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="protéine"
/organisme="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="protéine"
/organisme="Bos taurus"

<400> 8

His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro Asp
page 6

1 5 10 15
 Thr Pro Gly Pro
 20

<210> 9
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..92
 <223> /mol_type="protéine"
 /organisme="Bos taurus"

<400> 9
 Met Ser Glu Leu Glu Lys Ala Val Val Ala Leu Ile Asp Val Phe His
 1 5 10 15
 Gln Tyr Ser Gly Arg Glu Gly Asp Lys His Lys Leu Lys Lys Ser Glu
 20 25 30
 Leu Lys Glu Leu Ile Asn Asn Glu Leu Ser His Phe Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Lys Glu Gln Glu Val Val Asp Lys Val Met Glu Thr Leu Asp Ser Asp
 50 55 60
 Gly Asp Gly Glu Cys Asp Phe Gln Glu Phe Met Ala Phe Val Ala Met
 65 70 75 80
 Ile Thr Thr Ala Cys His Glu Phe Phe Glu His Glu
 85 90

<210> 10
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..92
 <223> /mol_type="protéine"
 /organisme="Homo sapiens"

<400> 10
 Met Ser Glu Leu Glu Lys Ala Met Val Ala Leu Ile Asp Val Phe His
 1 5 10 15
 Gln Tyr Ser Gly Arg Glu Gly Asp Lys His Lys Leu Lys Lys Ser Glu
 20 25 30
 Leu Lys Glu Leu Ile Asn Asn Glu Leu Ser His Phe Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Lys Glu Gln Glu Val Val Asp Lys Val Met Glu Thr Leu Asp Asn Asp
 50 55 60
 Gly Asp Gly Glu Cys Asp Phe Gln Glu Phe Met Ala Phe Val Ala Met
 65 70 75 80
 Val Thr Thr Ala Cys His Glu Phe Phe Glu His Glu
 85 90

<210> 11
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..94
 <223> /mol_type="protéine"
 /organisme="Homo sapiens"

<400> 11
 Met Gly Ser Glu Leu Glu Thr Ala Met Glu Thr Leu Ile Asn Val Phe
 1 5 10 15
 His Ala His Ser Gly Lys Glu Gly Asp Lys Tyr Lys Leu Ser Lys Lys
 20 25 30
 Glu Leu Lys Glu Leu Leu Gln Thr Glu Leu Ser Gly Phe Leu Asp Ala
 35 40 45

Gln Lys Asp Val Asp Ala Val Asp Lys Val Met Lys Glu Leu Asp Glu
 50 55 60
 Asn Gly Asp Gly Glu Val Asp Phe Gln Glu Tyr Val Val Leu Val Ala
 65 70 75 80
 Ala Leu Thr Val Ala Cys Asn Asn Phe Phe Trp Glu Asn Ser
 85 90

<210> 12
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..94
 <223> /mol_type="protéine"
 /organisme="Bos taurus"

<400> 12
 Met Gly Ser Glu Leu Glu Thr Ala Met Glu Thr Leu Ile Asn Val Phe
 1 5 10 15
 His Ala His Ser Gly Lys Glu Gly Asp Lys Tyr Lys Leu Ser Lys Lys
 20 25 30
 Glu Leu Lys Glu Leu Leu Gln Thr Glu Leu Ser Gly Phe Leu Asp Ala
 35 40 45
 Gln Lys Asp Ala Asp Ala Val Asp Lys Val Met Lys Glu Leu Asp Glu
 50 55 60
 Asn Gly Asp Gly Glu Val Asp Phe Gln Glu Tyr Val Val Leu Val Ala
 65 70 75 80
 Ala Leu Thr Val Ala Cys Asn Asn Phe Phe Trp Glu Asn Ser
 85 90