



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0097132
(43) 공개일자 2014년08월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/145 (2006.01) A61P 7/02 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-7010492
(22) 출원일자(국제) 2012년11월21일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2014년04월18일
(86) 국제출원번호 PCT/US2012/066288
(87) 국제공개번호 WO 2013/078335
국제공개일자 2013년05월30일
(30) 우선권주장
61/563,034 2011년11월22일 미국(US)

(71) 출원인
더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 캘리포니아
미합중국 캘리포니아 94607-5200 오클랜드 프랭클
린 스트리트 1111, 5층
(72) 발명자
도힐, 란잔
미국, 캘리포니아 92130, 샌디에이고, 12784 토이
온 메사 코트
필립스, 수잔, 에이.
미국, 캘리포니아 92122, 샌디에이고, 3967 카미
니토 카시스
(74) 대리인
손민

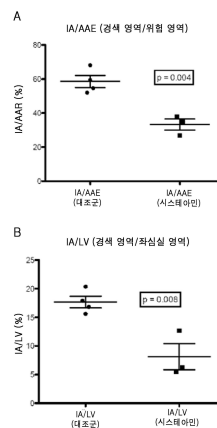
전체 청구항 수 : 총 63 항

(54) 발명의 명칭 허혈성 손상을 치료하기 위한 시스테아민 및/또는 시스타민

(57) 요약

본 발명은 대상체를 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민 또는 시스타민 유도체와 접촉시키는 것을 포함하는, 허혈 또는 허혈을 일으키는 질환 또는 장애를 치료하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한 대상체를 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민 또는 시스타민 유도체와 접촉시키는 것을 포함하는 대상체에서 아디포넥틴 수준을 조절하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도14



특허청구의 범위

청구항 1

허혈성 손상을 감소시키기에 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 허혈성 손상 또는 급성 허혈성 사건(event)으로 고통받고 있는 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체의 치료방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 허혈성 손상이 혈전성 장애에 의한 것인 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 혈전성 장애가 겸상 적혈구 질환, 심부정맥 혈전증, 폐색전증, 심장색전증, 응고항진상태, 혈전성향증, 제 V 인자 라이덴, 항트롬빈 III 결핍증, 단백질 C 결핍증, 단백질 S 결핍증, 프로트롬빈 유전자 돌연변이 (G20210A), 고호모시스테인혈증, 항인지질 항체 증후군 (APS), 항카르디올리핀 항체 (ACLA) 혈전증 증후군, 또는 홍반성 항응고제 (LA) 증후군인 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염의 양이 혈전증으로 인한 허혈성 손상의 위험을 감소시키기에 효과적인 방법.

청구항 5

혈전증으로 인한 허혈성 손상의 위험을 감소시키기에 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염을 혈전증 및 그로 인한 허혈성 손상의 위험이 있는 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체의 치료방법.

청구항 6

제4항 또는 제5항에 있어서, 대상체가 암, 골수증식성 질환, 다발성 골수종, 수술, 트라우마, 이동불능, 경구 피임약 사용, 임의로 스테로이드와 병용으로 탈리도미드 또는 그의 유사물 투여, 헤파린 유발 혈소판 감소증, 임신, 염증성 장질환, 신장 증후군, 발작성 야간 혈색소뇨증, 과점성 증후군, 또는 발덴스트림 거대글로불린혈증을 가진 방법.

청구항 7

혈전증으로 인한 허혈성 손상의 위험을 감소시키기에 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 혈전증 위험이 있는 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체의 치료방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 대상체가 암, 골수증식성 질환, 다발성 골수종, 수술, 트라우마, 이동불능, 경구 피임약 사용, 임의로 스테로이드와 병용으로 탈리도미드 또는 그의 유사물 투여, 헤파린 유발 혈소판 감소증, 임신, 염증성 장질환, 신장 증후군, 발작성 야간 혈색소뇨증, 과점성 증후군, 또는 발덴스트림 거대글로불린혈증을 갖는 방법.

청구항 9

제1항 또는 제7항에 있어서, 허혈성 손상이 조직 손상, 질환 또는 뇌졸중에 의한 것인 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 손상이 재관류 손상인 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 재관류 손상이 수술 또는 장기 이식에 의한 것인 방법.

청구항 12

제9항에 있어서, 질환이 겸상 적혈구 질환인 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 허혈성 사건 후 72시간 내에 투여되는 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 허혈성 사건 후 연속적으로 투여되는 방법.

청구항 15

제1항 내지 제12항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 허혈성 사건의 위험이 있는 대상체에 연속적으로 투여되는 방법.

청구항 16

대상체를 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염과 접촉시키기 전의 기본선과 비교해 저분자량 아디포넥틴 수준의 비를 증가시키기에 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 것을 포함하고, 여기서 대상체는 과콜레스테롤혈증 또는 제II형 당뇨병에 걸리지 않은, 상기 대상체에서 저분자량 (LMW) 아디포넥틴 수준 대 중분자량 (MMW) 및/또는 고분자량 (HMW) 아디포넥틴 수준의 비를 증가시키는 방법.

청구항 17

시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 투여되지 않은 대상체와 비교해서 대상체에서 아디포넥틴 비를 향상시키기에 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 고분자량 (HMW):중분자량 (MMW) 아디포넥틴, HMW:저분자량 (LMW) 아디포넥틴, 또는 MMW:LMW 아디포넥틴의 비가 불규칙하거나 비정상적인 대상체의 치료방법.

청구항 18

제1항, 제5항, 제7항, 제16항 또는 제17항중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 고혈압, 흡연, 경동맥 또는 다른 동맥 질환, 말초 동맥 질환, 심방 세동, 기타 심장 질환, 일과성 허혈 발작 (TIA), 혈액 질환, 고 혈중 콜레스테롤, 육체적 불활동, 비만, 지나친 알콜 이용, 불법 약물 사용, 이전 뇌졸중, 겸상 적혈구 빈혈증 및 이전 심장마비로 구성된 군중에서 선택되는 허혈성 위험 인자를 가지고 있는 방법.

청구항 19

제16항 또는 제17항에 있어서, 대상체가 이전에 허혈성 사건으로 고통받았던 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염이 상기 대상체의 체중 kg당 약 0.5 내지 20 mg 범위의 농도로

투여되는 방법.

청구항 22

제1항 내지 제20항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염의 1일 총 용량이 약 0.5 내지 4.0 g/m²인 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염이 경구적으로 투여되는 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민 또는 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염이 지연 방출 또는 방출 조절 투약 형태인 방법.

청구항 25

제1항 내지 제22항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민 또는 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염이 복강내로 투여되는 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민 또는 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염이 정맥내 또는 동맥내로 투여되는 방법.

청구항 27

제1항 내지 제26항중 어느 한 항에 있어서, 투여한 결과 허혈성 사건으로 인한 허혈성 재관류 손상 또는 염증이 감소되는 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항중 어느 한 항에 있어서, 허혈 치료에 유용한 하나 이상의 추가의 약제를 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 하나 이상의 추가의 약제가 재관류 약제, 자유 라디칼 스캐빈저제, 스핀 트랩제(spin trap agent), 신경보호제, 혈액응고방지제, 항혈소판제, 니모디핀 및 날록손으로 구성된 군중에서 선택되는 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항중 어느 한 항에 있어서, 혈전성 장애를 치료하는데 유용한 하나 이상의 약제, 임의로 혈액응고방지제, 헤파린, 비타민 K 길항제, 4-하이드록시쿠마린 유도체, 와파린, 아세노쿠마롤, 디쿠마롤, 에틸 비스쿠마세테이트, 펜프로쿰온, 스트렙토키나제, 유로키나제, 조직 플라스미노겐 활성화 인자 (tPA), 알테플라제 (재조합 tPA), 레테플라제, 테넥테플라제 및 아르가트로반을 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 31

제23항 또는 제24항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민 또는 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염이 1일 4회 미만으로 투여되는 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민 또는 시스타민이 1일 2회 투여되는 방법.

청구항 33

제1항 내지 제32항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는

약학적으로 허용가능한 그의 염이 수 일, 수 주 또는 수 개월의 기간 동안 연속적으로 투여되는 방법.

청구항 34

허혈성 사건으로 고통받고 있는 대상체를 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염과 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 대상체는 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 투여받지 않은 대상체와 비교해서 행동적 성과가 개선된, 허혈성 사건의 치료방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염과 접촉 후에 대상체의 아디포넥틴 수준이 증가되는 방법.

청구항 36

제34항 또는 제35항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염의 1일 총 용량이 약 0.5 내지 4.0 g/m²인 방법.

청구항 37

제34항 내지 제36항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 복강내로 투여되는 방법.

청구항 38

제34항 내지 제37항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 경구적으로 투여되는 방법.

청구항 39

제34항 내지 제38항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 소장내 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염의 전달을 증가시키는 지연 방출 또는 방출 조절 투약 형태인 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 지연 방출 또는 방출 조절 투약 형태가 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 소장 또는 pH가 약 pH 4.5 보다 높은 대상체의 위장관 영역에 도달하였을 때 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 방출하는 장용 코팅을 포함하는 방법.

청구항 41

제42항에 있어서, 장용 코팅이 중합 젤라틴, 셀락, 메타크릴산 코폴리머 타입 C NF, 셀룰로스 부티레이트 프탈레이트, 셀룰로스 하이드로젠 프탈레이트, 셀룰로스 프로피오네이트 프탈레이트, 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트 (PVAP), 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트 (CAP), 셀룰로스 아세테이트 트리멜리테이트 (CAT), 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 프탈레이트, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트, 디옥시프로필 메틸셀룰로스 숙시네이트, 카복시메틸 에틸셀룰로스 (CMEC), 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트 (HPMCAS), 및 전형적으로 메틸 아크릴레이트, 에틸 아크릴레이트, 메틸 메타크릴레이트 및/또는 에틸 메타크릴레이트와 아크릴산 에스테르 및 메타크릴산 에스테르의 코폴리머로부터 형성되는 아크릴산 폴리머 및 코폴리머로 구성된 군 중에서 선택되는 코팅인 방법.

청구항 42

제1항 내지 제41항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 경구적으로 투여되고, 상기 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 생체이용가능한 철분 제제와 함께 투여되는 방법.

청구항 43

제1항 내지 제42항중 어느 한 항에 있어서, 투여한 결과 허혈성 사건으로 인한 염증이 감소된 방법.

청구항 44

제18항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 만성적으로 투여되는 방법.

청구항 45

제1항, 제5항, 제7항, 제16항 또는 제17항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 급성으로 투여되는 방법.

청구항 46

대상체를 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염과 접촉시키기 전의 기본선과 비교하여 아디포넥틴 수준을 증가시키기에 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 대상체와 접촉시키는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 아디포넥틴 수준을 증가시키는 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 총 아디포넥틴 수준이 증가되는 방법.

청구항 48

제46항에 있어서, 저분자량 아디포넥틴의 비율이 증가되는 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 대상체가 비만인이고 건강한 대상체에 비해 LMW 아디포넥틴 수준이 낮은 방법.

청구항 50

제48항에 있어서, 대상체가 당뇨병에 걸렸고 건강한 대상체에 비해 LMW 아디포넥틴 수준이 낮은 방법.

청구항 51

제46항에 있어서, 대상체가 허혈성 사건으로 고통받고 있는 방법.

청구항 52

허혈, 허혈성 손상, 급성 허혈성 사건, 혈전증 또는 혈전증으로 인한 허혈성 손상의 치료에 사용하기 위한 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염.

청구항 53

제53항에 있어서, 허혈 또는 허혈성 손상이 혈전성 장애로 인한 것인 용도.

청구항 54

제53항에 있어서, 혈전성 장애가 겸상 적혈구 질환, 심부정맥 혈전증, 폐색전증, 응고항진상태, 혈전성항증, 제 V 인자 라이덴, 항트롬빈 III 결핍증, 단백질 C 결핍증, 단백질 S 결핍증, 프로트롬빈 유전자 돌연변이 (G20210A), 고호모시스테인혈증, 항인지질 항체 증후군 (APS), 항카르디올리핀 항체 (ACLA) 혈전증 증후군, 또는 홍반성 항응고제 (LA) 증후군인 용도.

청구항 55

제53항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 시스테아민, 시스테아민 유도체, 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염인 용도.

청구항 56

제52항에 있어서, 허혈이 고혈압, 흡연, 경동맥 또는 다른 동맥 질환, 말초 동맥 질환, 심방 세동, 기타 심장 질환, 일과성 허혈 발작 (TIA), 혈액 질환, 고 혈중 콜레스테롤, 육체적 불활동, 비만, 지나친 알콜 이용, 불법 약물 사용, 이전 뇌졸중, 겸상 적혈구 빈혈증 및 이전 심장마비로 구성된 군중에서 선택되는 위험 인자에 기인 하는 용도.

청구항 57

제52항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그 의 염이 복강내 투여용으로 제형화된 용도.

청구항 58

제52항 내지 제57항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 혈관내로 투여되는 용도.

청구항 59

제52항 내지 제57항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 경구 투여용으로 제형화된 용도.

청구항 60

제59항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그 의 염이 장용 코팅된 용도.

청구항 61

제52항 내지 제60항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 연속적으로 투여되는 용도.

청구항 62

제52항 내지 제61항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 허혈성 사건/위기 전, 그와 동시 또는 그 후에 투여되는 용도.

청구항 63

제52항 내지 제62항중 어느 한 항에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 대상체에서 아디포넥틴 수준을 증가시키기 위해 사용되는 용도.

명 세 서

기술 분야

[0001] 관련 출원의 상호참조

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 119 하에 2011년 11월 22일 출원된 미국 임시출원 제 61/563,034호를 우선권으로 주장한 다. 그의 개시내용은 본원에 참고로 원용된다.

배 경 기 술

[0003] 급성 허혈성 뇌졸중은 천명당 대략 2 내지 2.5 명이 발생하는 것으로 추정되며, 전세계적으로 매년 사백 오십만 명 이상이 사망에 이르고 구백만명은 뇌졸중 생존자로서 현재 미국에서만 오백억불이 넘는 비용이 들어가고 있 다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 개요

[0005] 본 발명은 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 대상체에 허혈성 손상을 감소시키기에 유효량으로 투여하는 것을 포함하는, 허혈성 손상 또는 급성 허혈성 사건(event)으로 고통받고 있는 대상체의 치료방법을 제공한다. 일 실시양태에 있어서, 허혈성 손상은 혈전성 장애의 결과이다. 다른 실시양태에 있어서, 혈전성 장애는 겸상 적혈구 질환, 심부정맥 혈전증, 폐색전증, 심장색전증, 응고항진상태, 혈전성향증, 제 V 인자 라이덴(Factor V Leiden), 항트롬빈 III 결핍증, 단백질 C 결핍증, 단백질 S 결핍증, 프로트롬빈 유전자 돌연변이 (G20210A), 고호모시스테인혈증, 항인지질 항체 증후군 (APS), 항카르디올리핀 항체 (ACLA) 혈전증 증후군, 또는 홍반성 항응고제 (LA) 증후군이다. 전술한 실시양태 중 임의의 것에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염의 양은 혈전증으로 인한 허혈성 손상의 위험을 감소시키기에 효과적이다.

[0006] 본 발명은 또한 혈전증으로 인한 허혈성 손상의 위험을 감소시키기에 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 혈전증 및 그로 인한 허혈성 손상의 위험이 있는 대상체의 치료방법을 제공한다.

[0007] 전술한 실시양태 중 임의의 것에 있어서, 대상체는 암, 골수증식성 질환, 다발성 골수종을 앓고 있을 수 있거나, 수술 또는 외상을 가질 수 있거나, 이동불능 상태, 경구 피임약 사용중, 임의로 스테로이드와 병용으로 탈리도미드 또는 그의 유사물 섭취중일 수 있거나, 헤파린 유발 혈소판 감소증을 앓고 있을 수 있거나, 임신중일 수 있거나, 염증성 장질환, 신장 증후군, 발작성 야간 혈색소뇨증, 과점성 증후군, 또는 발덴스트룀 거대글로불린혈증을 가질 수 있다.

[0008] 본 발명은 또한 혈전증으로 인한 허혈성 손상의 위험을 감소시키기에 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 혈전증 위험이 있는 대상체의 치료방법을 제공한다. 일 실시양태에 있어서, 대상체는 암, 골수증식성 질환, 다발성 골수종을 앓고 있거나, 수술을 했거나, 외상을 갖고 있거나, 이동불능 상태, 경구 피임약 섭취, 임의로 스테로이드와 병용으로 탈리도미드 또는 그의 유사물의 투여중이거나, 헤파린 유발 혈소판 감소증을 앓고 있거나, 임신중이거나, 염증성 장질환, 신장 증후군, 발작성 야간 혈색소뇨증, 과점성 증후군, 또는 발덴스트룀 거대글로불린혈증을 가질 수 있다.

[0009] 전술한 실시양태 중 임의의 것에 있어서, 허혈성 손상은 조직 손상, 질환 또는 뇌졸중의 결과일 수 있다. 다른 실시양태에 있어서, 손상은 재관류 손상이다. 또 다른 실시양태에 있어서, 재관류 손상은 수술 또는 장기 이식의 결과이다. 다른 실시양태에 있어서, 질환은 겸상 적혈구 질환이다.

[0010] 전술한 실시양태 중 임의의 것에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 허혈성 사건 후 72시간 내에 투여된다. 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 허혈성 사건 후 연속적으로 투여된다. 전술한 실시양태 중 임의의 것에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 허혈성 사건 위험이 있는 대상체에 연속적으로 투여된다.

[0011] 본 발명은 또한 대상체를 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염과 접촉시키기 전의 기본선과 비교해 저분자량 아디포넥틴 수준의 비를 증가시키기 위해 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 대상체에 투여하는 것을 포함하며, 여기서 대상체는 과콜레스테롤혈증 또는 제II형 당뇨병을 앓고 있지 않은, 저분자량 아디포넥틴 수준의 비 증가를 필요로 하는 대상체에서 저분자량 (LMW) 아디포넥틴 수준 대 중분자량 (MMW) 및/또는 고분자량 (HMW) 아디포넥틴 수준의 비를 증가시키는 방법을 제공한다.

[0012] 본 발명은 또한 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 투여받지 않은 대상체와 비교해 대상체에서 아디포넥틴 비를 향상시키기 위해 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 고분자량 (HMW):중분자량 (MMW) 아디포넥틴, HMW:저분자량 (LMW) 아디포넥틴, 또는 MMW:LMW 아디포넥틴의 불규칙 또는 비정상적 비를 가지는 대상체의 치료방법을 제공한다.

[0013] 전술한 일 실시양태에 있어서, 대상체는 고혈압, 흡연, 경동맥 또는 다른 동맥 질환, 말초 동맥 질환, 심방 세동, 기타 심장 질환, 일과성 허혈 발작 (TIA), 혈액 질환, 고 혈중 콜레스테롤, 육체적 불활동, 비만, 지나친 알콜 이용, 불법 약물 사용, 이전 뇌졸중, 겸상 적혈구 빈혈증 및 이전 심장마비로 구성된 군 중에서 선택되는

허혈의 위험 인자를 가지고 있다. 다른 실시양태에 있어서, 대상체는 이전에 허혈성 사건을 앓았다. 전술한 실시양태 중 임의의 것에 있어서, 방법은 시스테아민, 시스테아민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염의 투여를 포함한다. 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염은, 상기 대상체의 체중 1 kg당 약 0.5-20 mg 범위의 농도로 투여된다. 전술한 임의의 더 추가적인 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염의 1일 총 용량은 약 0.5-4.0 g/m²이다. 또 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염은 경구적으로 투여된다. 일 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민 또는 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염은 지연 방출 또는 방출 조절 투약 형태이다. 전술한 실시양태 중 임의의 것에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민 또는 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염은 복강내로 투여된다. 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민 또는 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염은 정맥내로 또는 동맥내로 투여된다. 전술한 실시양태 중 임의의 것에 있어서, 투여에 의해 허혈성 사건으로 인한 허혈 재관류 손상 또는 염증이 감소된다. 전술한 임의의 다른 실시양태에 있어서, 방법은 추가로 허혈 치료에 유용한 하나 이상의 추가의 약제의 투여를 포함한다. 다른 실시양태에 있어서, 하나 이상의 추가의 약제는 재관류 약제, 자유 라디칼 스캐빈저제 (free-radical scavenger agent), 및 스핀 트랩제 (spin trap agent), 신경보호제, 혈액응고방지제, 항혈소판제, 니모디핀, 및 날록손으로 구성된 군 중에서 선택된다. 다른 실시양태에 있어서, 방법은 추가로 혈전성 장애의 치료에 유용한 하나 이상의 추가의 약제, 임의로 혈액응고방지제, 헤파린, 비타민 K 길항제, 4-하이드록시쿠마린 유도체, 와파린, 아세노쿠마롤, 디쿠마롤, 에틸 비스쿠마세테이트, 펜프로쿰온, 스트렙토키나제, 유로키나제, 조직 플라스미노겐 활성화 인자 (tPA), 알테플라제 (재조합 tPA), 레테플라제, 테넥테플라제, 및 아르가트로반의 투여를 포함한다. 또 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민 또는 시스타민 유도체, 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염은 1일 4회 미만으로 투여된다. 그밖의 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민 또는 시스타민 유도체는 1일 2회 투여된다. 전술한 실시양태 중 임의의 것에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 수 일, 수 주 또는 수 개월동안 연속적으로 투여된다.

[0014]

본 발명은 허혈성 사건으로 고통받고 있는 대상체를 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염과 접촉시키는 것을 포함하는, 허혈성 사건의 치료방법을 제공하며, 여기서 대상체는 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 투여받지 않은 대상체와 비교해서 행동적 성과가 개선되었다. 일 실시양태에 있어서, 대상체의 아디포넥틴 수준은 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염과 접촉 후 증가된다. 또 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염의 1일 총 용량은 약 0.5-4.0 g/m²이다. 그밖의 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 복강내로 투여된다. 또 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 경구적으로 투여된다. 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 소장내 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염의 전달을 증가시키는 지연 방출 또는 방출 조절 투약 형태이다. 그밖의 다른 실시양태에 있어서, 지연 방출 또는 방출 조절 투약 형태는 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이 소장 또는 pH가 약 pH 4.5 보다 높은 대상체의 위장관 영역에 도달하였을 때 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 방출하는 장용 코팅을 포함한다. 일 실시양태에 있어서, 장용 코팅은 중합 젤라틴, 셀락, 메타크릴산 코폴리머 타입 C NF, 셀룰로스 부티레이트 프탈레이트, 셀룰로스 하이드로젠 프탈레이트, 셀룰로스 프로피오네이트 프탈레이트, 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트 (PVAP), 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트 (CAP), 셀룰로스 아세테이트 트리멜리테이트 (CAT), 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 프탈레이트, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트, 디옥시프로필 메틸셀룰로스 숙시네이트, 카복시메틸 에틸셀룰로스 (CMEC), 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트 (HPMCAS), 및 전형적으로 메틸 아크릴레이트, 에틸 아크릴레이트, 메틸 메타크릴레이트 및/또는 에틸 메타크릴레이트와 아크릴산 에스테르 및 메타크릴산 에스테르의 코폴리머로부터 형성되는 아크릴산 폴리머 및 코폴리머로 구성된 군 중에서 선택되는 코팅이다. 또 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한

한 그의 염이 경구적으로 투여되는 경우, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 생체이용가능한 철분 제제와 함께 투여된다. 전술한 실시양태 중 임의의 것에 있어서, 투여에 의해 허혈성 사건으로 인한 염증이 감소된다.

[0015] 본 발명은 또한 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염과 접촉시키기 전의 기본선과 비교하여 아디포넥틴 수준을 증가시키기 위해 유효량의 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염과 대상체를 접촉시키는 것을 포함하는, 대상체에서 아디포넥틴 수준을 증가시키는 방법을 제공한다. 일 실시양태에 있어서, 총 아디포넥틴 수준이 증가된다. 다른 실시양태에 있어서, 저분자량 아디포넥틴 대 중분자량 및/또는 고분자량 아디포넥틴의 비가 증가된다. 또 다른 실시양태에 있어서, 대상체는 비만인이며, 건강한 대상체와 비교하여 LMW 아디포넥틴 수준이 낮다. 일 실시양태에 있어서, 대상체는 당뇨병이고, 건강한 대상체와 비교하여 LMW 아디포넥틴 수준이 낮다. 또 다른 실시양태에 있어서, 대상체는 허혈성 사건으로 고통받고 있다.

[0016] 본 발명은 또한 허혈, 허혈성 손상, 급성 허혈성 사건, 혈전증 또는 혈전증으로 인한 허혈성 손상의 치료에 사용하기 위한 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 제공한다. 일 실시양태에 있어서, 허혈 또는 허혈성 손상은 혈전성 장애의 결과이다. 다른 실시양태에 있어서, 혈전성 장애는 겸상 적혈구 질환, 심부정맥 혈전증, 폐색전증, 응고항진상태, 혈전성향증, 제 V 인자 라이덴, 항트롬빈 III 결핍증, 단백질 C 결핍증, 단백질 S 결핍증, 프로트롬빈 유전자 돌연변이 (G20210A), 고호모시스테인혈증, 항인지질 항체 증후군 (APS), 항카르디올리핀 항체 (ACLA) 혈전증 증후군, 또는 홍반성 항응고제 (LA) 증후군이다. 또 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 시스테아민, 시스테아민 유도체, 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염이다. 그밖의 다른 실시양태에 있어서, 허혈은 고혈압, 흡연, 경동맥 또는 다른 동맥 질환, 말초 동맥 질환, 심방 세동, 기타 심장 질환, 일과성 허혈 발작 (TIA), 혈액 질환, 고 혈중 콜레스테롤, 육체적 불활동, 비만, 지나친 알콜 이용, 불법 약물 사용, 이전 뇌졸중, 겸상 적혈구 빈혈증 및 이전 심장마비로 구성된 군 중에서 선택되는 위험 인자에 기인한다. 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 복강내 투여용으로 제형화된다. 전술한 실시양태 중 임의의 것에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 혈관내로 투여된다. 전술한 임의의 더 추가적인 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 경구 투여용으로 제형화된다. 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 장용 코팅된다. 전술한 실시양태 중 임의의 것에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 연속적으로 투여된다. 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 허혈성 사건/위기 전, 그와 동시 또는 그 후에 투여된다. 또 다른 실시양태에 있어서, 시스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 대상체에서 아디포넥틴 수준을 증가시키기 위해 사용된다.

[0017] 본 발명의 하나 이상의 실시양태의 세부적 사항이 도면 및 이하 상세한 설명에 기술된다. 다른 특징, 목적 및 이점은 상세한 설명, 도면 및 특허청구범위로부터 알 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 지방 조직 외식편을 90 μ M 시스테아민으로 45분, 90분, 및 24시간 처리한 것을 나타낸다. 90 μ M 시스테아민 처리 45분에 총 아디포넥틴의 유의차: $p=0.002$; 90 μ M 시스테아민 처리 45분에 HMW 아디포넥틴의 유의차: $p=0.04$; 90 μ M 시스테아민 처리 90분에 HMW 아디포넥틴의 유의차: $p=0.02$.

도 2A-C는 (A) LMW, MMW 및 HMW 아디포넥틴의 개략적인 상대 이동도 시프트; (B) 1시간 동안 실온, 37°C, 37°C +45 μ M 시스테아민으로 배양된 위판딩 (GB) 혈청 및 아디포넥틴 멀티머 생산을 나타낸다. 모든 멀티머에 대해 실온 및 37°C에서 유의적인 차는 관찰되지 않았다. 그러나, HMW는 시스테아민 처리로 유의적으로 감소되었다: $p=0.009$; MMW는 시스테아민 처리로 유의적인 변화가 있었고; LMW는 시스테아민 처리로 유의적으로 증가되었다: $p=0.05$. (C) 기본선, EC-시스테아민으로 처리하고 24주 후 및 이어, EC-시스테아민 중단 후 16주에서 측정된 BMI, ALT, 및 AST에 대한 평균값. P 값은 유의적이지 않음 (ns), * $P < .05$, ** $P < .01$ 로서 나타난다. 평균 BMI는 어떤 시점에서도 유의적인 차가 없었다. SEM이 도시된다.

도 3은 NAFLD에 걸린 대상체에서 아디포넥틴 멀티머화에 대한 시스테아민의 생체내 효과를 나타낸다. 11명의 NAFLD에 걸린 대상체를 경구 장용 코팅 시스테아민으로 24주 처리한 후, 24주 동안 처리 없이 관찰하였다. 혈청

을 기본선, 처리 24주 및 처리 없이 24주 후에 분석하였다. 24주 경구 EC-시스테인 후 전체 및 또한 모든 종속 형태의 아디포넥틴에서 유의적인 증가가 있었으며, 치료 중단 24주 후에 유의적인 감소가 있었다.

도 4는 생체내 시스테인 처리에 대한 총 아디포넥틴을 나타낸다. 총 아디포넥틴은 0-24주에 유의적으로 증가하였다: $p=0.05$; 24-40주로부터 절대 수준이 유의적으로 감소하였다: $p=0.01$; 기본선과 40주 간에 유의적 차는 없었다.

도 5는 도 3과 유사한 데이터를 나타내며, 아디포넥틴 멀티머화에 대한 시스테인의 생체내 효과의 평균 퍼센트 변화율로서 표시된다. 0시 (기저), 처리 24주, 및 24주에 시스테인 중단 후 40주에서 대상체로부터의 혈청. 반정량적 분석을 비감소 조건 하에 혈청의 1 μ l에서 웨스턴 블롯으로 수행하였다. 24주 대 기본선 및 40주 대 기본선에서 아디포넥틴 멀티머의 % 변화율을 이용하여 대상체 데이터를 정규화하였다.

도 6은 마른 대조군 대상체의 절대 아디포넥틴 수준에 대한 시스테인의 시험관내 효과를 나타낸다. 실온, 37°C, 37°C + 90 μ M 시스테인에서 마른 대조군 혈청을 1시간 동안 배양하였다. 모든 멀티머 HMW에 대해 실온과 37°C 간에 유의적인 차는 없었으며, 시스테인 처리로 유의적인 변화는 없었다; 시스테인 처리로 MMW의 절대 수준에 유의적인 감소; 시스테인 처리로 LMW의 절대 수준에 유의적인 변화 없음 (데이터는 유의적인 증가쪽으로 기울었다), 시스테인 처리로 유의적인 % 변화.

도 7은 실온, 37°C, 37°C + 90 μ M 시스테인에서 1시간 동안 인큐베이션 후 마른 대조군 혈청을 나타낸다. 모든 멀티머에 대해 실온과 37°C 간에 유의적인 차는 없었다. HMW는 시스테인 처리로 유의적인 변화를 나타내지 않았다. MMW는 시스테인 처리로 절대 수준에서 유의적인 감소를 나타내었다; 시스테인 처리로 유의적인 퍼센트 변화; LMW는 시스테인 처리로 절대 수준에서 유의적인 변화를 나타내지 않았다 (데이터는 유의적인 증가쪽으로 기울었다), 시스테인 처리로 유의적인 퍼센트 변화.

도 8은 위밴딩 대상체로부터 취한 혈청에 대한 시스테인의 시험관내 효과 그래프이다. 시스테인 농도 0, 7.5, 15, 30, 45, 60, 90 μ M로 1시간 동안 37°C에서 인큐베이션.

도 9는 4명의 비만 환자로부터 취한 혈청에 시스테인 첨가 뒤 (상이한 농도: 0, 7.5, 15, 30, 45, 60 및 90 μ M로) 1시간 후에 측정된 아디포넥틴 수준을 나타낸다.

도 10은 다양한 시스테인 농도에서 상이한 아디포넥틴 멀티머의 퍼센트 변화율을 나타낸다.

도 11은 1시간 동안 상이한 농도의 시스테인과 BAT1-16 혈청의 배양 후 아디포넥틴 형태에 대한 기본선으로부터의 평균 퍼센트 변화율을 나타낸다.

도 12는 24주 시스테인 치료 후 증가된 모든 멀티머 형태의 수준을 나타낸다. 그러나, 총 아디포넥틴을 구성하는 각 멀티머의 상대 비율은 HMW에 대해 유의적으로 증가하고, MMW에 대해 감소하고 LMW에 대해서는 변화되지 않은 채로 남아 있었다.

도 13은 NAFLD에 걸린 대상체 ($n=10$)에서 아디포넥틴 멀티머의 평균 퍼센트 변화율을 나타낸다. 실온 (RT 흰 막대(open bar)) 및 37°C (검은 막대(solid bar))에서 측정된 모든 멀티머에 대해 유의적인 차가 없었다. 37°C에서 1시간 동안 45 μ M 시스테인과 인큐베이션시킨 혈청 (빛금쳐진 막대)에서 비처리 혈청에 비해 MMW의 유의적인 감소 및 LMW의 증가가 관찰되었다.

도 14A-B는 시스테인의 생체내 효과를 나타낸다. (A)는 위험 영역 (또는 LAD 동맥으로 공급되는 심근 영역) 퍼센트로서 허혈 영역에 대해 시스테인 처리 및 대조군 간에 유의적인 차를 나타내는 그래프이다. (B)는 좌심실 영역 퍼센트로서 허혈 영역에 대해 시스테인 처리 및 대조군 간에 유의적인 차를 나타내는 그래프이다.

도 15A-B는 시스테인 처리 및 비처리 모델에서 확장기 부피를 나타낸다. (A)는 완충제만을 IV 투여받은 대조군에서 24시간 및 72시간의 μ L 확장기 말 부피이다. 두 시점 사이에 EDV에 유의적인 차는 없으며, 이는 경시적인 개선이 없음을 제한한다. (B)는 완충제중 시스테인을 IV 투여받은 대조군에서 24시간 및 72시간의 μ L 확장기 말 부피이다. 두 시점에서 EDV에 유의적인 차가 있으며, 이는 경시적인 개선을 제한한다.

도 16은 24시간과 72시간 사이에서 EDV의 퍼센트 변화에 유의적인 차가 있음을 보여주는 그래프이다. EDV의 감소는 심근 허혈 후에 뇌실 확장이 덜 되었음을 제한한다. 마우스는 24시간과 72시간 사이 동안에 체중이 감소되었으며, 무기력하였다. 대조 마우스는 체중이 13% 줄어들었으며, 시스테인 군은 체중이 14% 줄어들었다.

도 17A-B는 대조군 및 시스테인 처리 허혈 동물 모델에 대한 수축기말 부피 (ESV)의 그래프를 나타낸다. (A)는 완충제만을 IV 투여받은 대조군에서 24시간 및 72시간의 μ L ESV를 나타낸다. ESV에 유의적인 차는 없었다.

(B)는 완충제중 시스테아민을 IV 투여받은 대조군에서 24시간 및 72시간의 μL ESV이다. ESV에 유의적인 차가 있었다.

도 18은 ESV의 퍼센트 변화로서의 그래프를 나타낸다. 24시간과 72시간 사이에 ESV의 퍼센트 변화에 유의적인 차가 있었다. ESV 감소는 심실 수축이 더 잘 일어남을 제안한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 상세한 설명

[0020] 본원 및 청구범위에 사용된 "단수형(a, and 및 the)"은 다른 언급이 없으면, 복수의 개념이 포함된다. 따라서, 예를 들면, "산화방지제"는 복수의 산화방지제를 포함하며, "산화방지제"를 언급할 경우 하나 이상의 산화방지제를 포함하며, 기타 유사하게 적용된다.

[0021] 또한, "또는"의 사용은 다른 언급이 없으면, "및/또는"을 의미한다. 유사하게, "포함한다(comprise, comprises)", "포함하는(comprising)", "함유한다(include, includes)", "함유하는(including)"은 상호호환되며, 제한의 의미는 아니다.

[0022] 다양한 실시양태에서 "포함하는"의 용어를 사용하여 기술되는 경우, 당업자는 일부 특정의 경우에, 일 실시양태가 "필수적으로 ~로 구성되는" 또는 "~로 구성되는"의 어구를 사용하여 선택적으로 기술될 수 있는 것으로 인식할 수 있음이 이해될 것이다.

[0023] 달리 언급이 없으면, 본원에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 분야에서의 업자들이 통상적으로 이해하고 있는 것과 동일한 의미를 가진다. 본원에 설명된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 개시된 방법 및 조성물의 실시예에 이용될 수 있지만, 여기에서는 예시적인 방법, 장치 및 물질이 기술된다.

[0024] 상술된 문헌 및 내용은 본 출원의 출원일 이전 개시만을 제공한다. 본 발명자가 선행 기술에 의한 이와 같은 개시를 앞선 것으로 인정한 것으로 간주하여서는 안된다.

[0025] 본원에 사용된 허혈은 뇌, 심장, 또는 기타 조직과 같은 신체의 일부로 혈류 및 산소가 저하 또는 부족하여 나타나는 상태를 가리킨다. 허혈성 손상은 일반적으로 혈류 및 산소의 상실로 수반되는 원위 또는 기타 조직의 손상을 가리킨다. 허혈성 손상은 종종 산소 및 체액 결여로 일어나며, 또한 염증성 캐스케이드를 포함한다. 예를 들어, 허혈 및 허혈성 손상은 심장, 폐 또는 뇌 손상, 장기 이식 또는 외과적 수술, 또는 질환 또는 장애 (예를 들면, 겸상 적혈구 빈혈증 또는 겸상 적혈구 질환)의 결과로 일어날 수 있다.

[0026] 급성 허혈은 가장 흔하게는 뇌졸중 및 심장 손상으로 인식된다. 그러나, 허혈성 사건을 일으켜 세포사 및 조직 손상에 이를 수 있는 다수의 장애 및 상해가 있다. 예를 들어, 심장마비 (즉, 심근 경색)가 일반적이다. 또한 좀더 가벼운 간헐적인 심장 허혈 (즉, 협심증)이 시스테아민으로 혜택을 받을 수 있다 (경우에 따라서는 그의 장기적인 아드포넥틴 효과를 통해). 뇌졸중, 뇌혈관 사건 및 심혈관 사건은 각각 뇌 또는 심장 영역으로의 뇌 또는 심장 혈류의 급성 폐쇄에 따른 결과이다. 미국에서만 매년 대략 500,000 뇌졸중 사례가 있으며, 그 중 30%는 죽음을 초래하며, 따라서 뇌졸중은 미국에서 사망의 세번째 요인이다. 뇌졸중의 약 80%는 "허혈"이며, 혈류 감소로 인한 뇌 동맥의 급성 폐쇄에 기인한다. 나머지는 "출혈성"이며, 뇌 동맥 파열로 출혈이 뇌 조직속으로 흘러들어 파열된 혈관의 원위 영역에서 혈류가 부족해짐으로써 혈류가 폐쇄되고 국소 조직이 압박되어 허혈을 일으킨다.

[0027] 뇌졸중은 보통 65세 보다 나이가 많은 개인에게서 일어나며, 가장 강력한 위험 인자는 고혈압이다. 최근까지, 급성 뇌졸중용으로 승인받은 치료제는 없으며, 이는 일반적인 의료지원에 이어 관찰된 손상으로부터의 재활에 의해서만 치료된다. 1996년에, FDA는 제한된 수의 제어 시행(trial)을 기초로 조직 플라스미노겐 활성화 인자(tPA)의 사용을 급성 허혈성 뇌졸중 치료제로서 승인하였다. 시행의 전부가 아닌 일부 중 30-55%에서 임상적 개선 성과가 있었으며, 전체적인 이환률에 감소가 있었으나, 사망률에서는 그렇지 않았다. tPA로 환자를 치료하기 위한 좁은 기회(narrow window) 및 tPA 사용에 따른 심각한 부작용 때문에, 약물은 충분히 활용되지 못했다. tPA로 혈전용해를 치료하는 경우 조차에도, 치료는 당시 40% 미만으로 증상들을 완전히 해소시켰을 뿐으로, 따라서 추가적인 치료 형태가 필요하다. 다수의 신경보호 전략이 임상 실험에서 시도되었으나, 허혈성 뇌졸중 치료용으로 FDA 승인을 받은 것은 없다.

[0028] 뇌졸중의 약 80%는 뇌 영역에 도달하는 혈액이 너무 조금이어서 발생할 수 있으며, 이는 보통 혈관을 막는 응결에 기인한다 (즉, 예를 들어, 뇌 혈전증). 이는 "허혈성 뇌졸중"으로 불린다. 이러한 타입의 뇌졸중은 영향을

받은 뇌 조직을 연화시키고, 이는 작은 혈관들을 파괴시킬 수 있기 때문에, 때때로 뇌 출혈에 이를 수 있다. 또한, 사람이 혈전 형성의 문제를 가지면 뇌 출혈이 일어날 수 있다. 출혈을 중단시키는 신체 반응인 응결은 응고 인자로 불리는 단백질 및 혈소판으로 불리는 점성 혈구에 의해 형성된다. 응고 인자 또는 혈소판이 제대로 기능을 하지 못하거나 양이 충분치 않으면 사람은 지나치게 많은 피를 흘리는 경향을 발생할 수 있다.

[0029] 허혈성 뇌졸중에 앞서 일과성 허혈 발작 (TIA)이 일어날 수 있으며, 미국에서 매년 약 300,000만 명이 TIA로 고통을 받는 것으로 추정된다. 혈전증은 또한 당뇨병, 겸상 적혈구 질환 및 기타 환자에서 말초 동맥 폐색에 기여하며, 이러한 환자에 사용하기 위한 안전하면서도 효과적인 항-허혈성 손상 약제가 필요하다.

[0030] 뇌졸중의 약 20%는 뇌 내에 출혈을 동반할 수 있으며 뇌 조직 주변을 손상시킨다 (예를 들어, 출혈성 뇌졸중). 출혈성 뇌졸중은 혈관이 뇌 안에서 터지는 경우 발생한다. 뇌는 출혈에 매우 민감하며, 출혈 자체나, 또는 유체가 뇌압을 증가시켜 이를 두개골에 대해 압박함으로써 해를 입히기 때문에, 손상은 매우 신속히 일어날 수 있다. 출혈은 뇌 조직을 자극하여 팽창시킨다. 뇌 주변 조직은 출혈 팽창에 저항하고, 마지막으로 매스(mass) 형성으로 제압된다 (예를 들어, 뇌내 혈종). 팽창 및 혈종은 모두 정상 뇌 조직을 압박하여 변위시킬 것이다. 매우 빈번히, 출혈성 뇌졸중은 고혈압과 동반되며, 동맥벽을 파괴될 때까지 압박한다.

[0031] 겸상 적혈구 질환에서 허혈은 모세 혈관 봉쇄 및 조직으로의 혈류 방지로 산소 및 글루코스가 부족해 일어난다. 이같은 모세 혈관의 봉쇄는 그의 정상적인 형태 및 탄력성을 잃어버리고 강성 또는 반강성인 "뿔모양의" 형태가 붕괴 또는 왜곡된 적혈구에 기인한다. 이러한 모세 혈관의 봉쇄는 봉쇄된 모세 혈관에 의해 정상적으로 제공되는 장기 또는 조직 부분을 통한 신선한 혈액의 흐름을 차단한다

[0032] 대부분의 환자에서, 겸상 적혈구 빈혈증은 지속적이거나 만성적 통증을 초래하지 않는다. 그러나, 대부분의 겸상 적혈구 빈혈증 환자는 종종 허혈성 위기로서 일컬어지는 산발적이지만 반복되는 에피소드로 고통을 받는다. 이러한 위기 동안, 겸상 적혈구 환자는 보통 환자에 따라 종종 다른 하나 이상의 위치에서 특정 환자마다 위기가 상이한 극심한 고통을 경험하게 될 것이다. 하나 이상의 연결부가 팽창하여 아프게 되고/되거나, 환자가 복부에 심한 통증 또는 확산되는 통증으로 고통받는 것은 흔하며, 이는 하나 이상의 장기의 하나 이상의 부분에서 허혈 상태에 의한 것으로 여겨진다.

[0033] 대부분의 겸상 적혈구 환자는 보통 해마다 이와 같은 다수의 허혈 위기(ischemic crisis)를 겪는다. 이러한 위기 동안, 환자는 일반적으로 입원하여 장기 요양으로 제한을 받음으로써 신체 운동을 거의 또는 전혀 하지 못하게 되고, 위기에 원인이 될 수 있는 임의의 감염을 구제하는데 도움이 되고, 허혈 위기로 약해진 조직 또는 장기에서 추가적인 감염을 방지 또는 감소시키는데 도움이 되는 몰핀, 코데인 및 메페리딘과 같은 강력한 진통제 및 광범위 항생제를 비롯하여 각종 약물로 치료된다.

[0034] 겸상 적혈구 질환을 갖는 아동에서는, 작은 뼈 및 손과 발의 연결의 허혈성 괴사로 인해 지염(dactylitis)이 흔하며, 비장에 손상 축적으로 급성 복통이 보통 초래된다. 급성 복통은 또한 간 또는 신장 경색에 기인할 수 있거나, 또는 혈뇨를 수반한다. 담석으로 인한 담낭염, 대퇴골두의 무균성 괴사, 두개골내 확장된 골수강의 방사선학적 증거, 척추 골다공증 및 신유두괴사는 전형적으로 10세 이상의 연령에서 일어나며, 병적 골절은 보통 18세 보다 나이가 많은 환자에서, 특히 대퇴골두에서 발생한다. 다리 궤양은 성인 환자에서 흔하며, 대엽성 폐렴, 폐경색, 뇌졸중, 및 신장 병소가 발생할 수 있다. 모든 경우, 통증은 심하며, 종종 이동성 및 확산성이다.

[0035] 출혈성 뇌졸중의 한가지 원인은 동맥류이다. 이는 동맥벽의 취약점이며, 영향을 받은 동맥내에서 순환하는 혈액 때문에 부풀어 오른다. 결국, 이는 터져 큰 해를 입힐 수 있다. 동맥류가 클수록 터질 위험이 더 있다.

[0036] 뇌졸중 증상은 전형적으로 갑작스럽게 발현되며, 급속히 악화될 수 있다. 뇌졸중 증상은 다음을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다: i) 신체 부분 이동의 약함 또는 불능; ii) 감각 마비 또는 상실; iii) 시력 저하 또는 상실 (부분적일 수 있음); iv) 언어 장애; v) 친숙한 것의 인지 또는 인식 불능; vi) 돌발 두통; vii) 현기증; viii) 어지럼; xi) 협동성 소실; x) 연하 곤란; 및 xi) 졸리움, 인사불성, 무기력, 혼수상태, 및/또는 무의식.

[0037] 뇌졸중 사건은 비정상적 결과를 나타낼 것으로 예상되는 신경학적 검사를 이용하여 검출할 수 있다. 또한, 환자는 나른하고 혼란스러워 보일 수 있다. 검안으로 비정상적인 안구 운동을 보일 수 있고, 망막 시범으로 변화가 감지될 수 있다 (검안경으로 불리는 장비로 안구 뒤 조사). 환자는 또한 비정상적인 반사작용을 가질 수 있다. 컴퓨터 단층촬영 스캔이 뇌 사진을 찍어 뇌 출혈 존재를 확인할 것이다. 출혈의 원인이 무엇인지를 더 잘 이해하기 위해 뇌 자기공명 영상 (MRI) 스캔을 또한 이용할 수 있다. 동맥류 또는 AVM을 규명하기 위해 통상적인 혈관촬영 (예를 들어, 염료를 이용한 동맥의 X-선)이 필요할 수 있다. 기타 검사로는 완전 혈구 측정, 출혈 시간,

프로트롬빈/부분 트롬보플라스틴 시간 (PT/PTT), 및 CSF (뇌척수액) 조사가 포함될 수 있으나, 이들에 한정되지는 않는다.

- [0038] 혈전증은 혈액 응결 (예를 들어, 혈전)의 형성, 발달 또는 혈관내 존재로서 정의될 수 있으며, 보통 심각한 의학적 질병인 것으로 여겨진다. 혈전증은 심근 경색, 심장 허혈, 및/또는 심부정맥 혈전증을 포함하나 이들로 제한되지 않는 각종 질환의 발생에 연루될 수 있다.
- [0039] 동맥 혈전증의 가장 빈번한 예는 관상동맥의 폐색 및 보통 심근 경색 (심장마비)에 이르는 관상동맥 혈전증이다. 130만명이 넘는 환자가 북미에서 매년 심근 경색으로 병원에 입원하고 있다. 표준 치료는 주입에 의한 혈전용해 단백질의 투여이다. 급성 심근 경색의 혈전용해 치료는 치료되는 1000명의 환자당 30명을 살리는 것으로 추정된다; 그렇지만, 이 질환에 대한 30-일 사망률은 상당히 유지된다 (본원에 참고로 인용되는 Mehta *et al.*, Lancet 356:449-454 (2000)). 혈전증으로 인한 조직 손상의 대부분은 산화적 손상에 기인할 수 있다. 편위상 산화방지제 또는 산화적 손상을 억제하는 약제를 볼루스 주사에 의해 만성적으로 또는 급성으로 투여할 수 있다.
- [0040] 관상동맥 폐색으로 인해 심장에 불충분한 산소가 전달되어 나타나는 불안정 협심증이 병원에 입원하는 가장 일반적인 요인이며, 미국에서 매년 150만명의 사례가 있다.
- [0041] 심부정맥 혈전증은 둔부 및 무릎 관절성형술과 같은 외과적 수술의 빈번한 합병증이다. 유사한 고려가 임신 및 분만과 관련된 다양한 혈전증에 적용된다. 특정의 개인은 반복 정맥 혈전성 사건의 경향이 있으며, 현재 쿠마린-타입 약물과 같은 항혈전제로 치료되고 있다. 이러한 약물의 용량은 각 환자에서 적정되어야 하며, 효과적인 항혈전 용량과 출혈을 증가시키는 용량 간 차이는 작다. 치료의 일부로서 산화방지제와의 병용 요법이 혈전증 및 허혈과 관련된 산화 손상을 줄이는데 도움이 될 수 있다.
- [0042] 심부정맥 혈전증은 i) 심장에서 가장 먼 혈류 조사의 도플러 초음파 검사; ii) 다리의 정맥 조영; 또는 iii) 다리의 혈량측정법을 포함하나 이들에 한정되지 않는 검사로 검출될 수 있다.
- [0043] 폐 색전증은 지방, 공기, 혈전, 또는 종양 세포에 의한 폐동맥 봉쇄이다. 폐 색전증은 가장 빈번하게는 정맥, 특히 다리 또는 골반 (둔부) 내 정맥의 혈전에 의한다. 가끔은 기포, 지방 방울, 양수, 또는 기생충 무리 또는 종양 세포가 폐 혈관을 막히게 할 수 있다. 폐색전증의 한가지 요인은 다리 정맥내 혈전이며, 심부정맥 혈전증 (DVT)으로 불린다 (상기 참조). 스스로 많이 사라지지만, 일부는 심각한 질병 또는 심지어 사망을 초래할 수 있다.
- [0044] 폐 색전증의 위험 인자는 다음을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다: i) 침대에서의 장기 요양 또는 무활동 (비행기, 자동차 또는 기차에서의 장시간 여행 포함); ii) 경구 피임약 사용; iii) 수술 (특히 골반 수술); iv) 분만; v) 심각한 외상; vi) 화상; vii) 암; viii) 뇌졸중; ix) 심장마비; x) 심장 수술; 또는 xi) 둔부 또는 대퇴골 골절. 또, 특정 응고 장애 및/또는 자가면역 질환 (즉, 예를 들어, 항-카디올리핀 항체 증후군)이 있는 개인이 또한 더 높은 위험에 처할 수 있다.
- [0045] 폐색전증 증상은 모호할 수 있거나, 또는 기타 질환과 관련된 증상과 비슷할 수 있다. 그 증상은 다음을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다: i) 갑작스러운 기침; ii) 혈담 (상당량의 가시적인 혈담 또는 약하게 피가 섞인 가래); iii) 휴식 또는 활동시 갑작스런 숨가쁨 시작; iv) 호흡시 늑골 긴장 (가슴을 위로 굽히거나 부어 잡음); v) 흉통; vi) 빠른 호흡; 또는 vii) 빠른 심장 박동 (심빈박).
- [0046] 폐 색전증은 다음을 포함하나 이들에 한정되지 않는 검사를 이용하여 확인할 수 있다: i) 동맥 혈액 가스; ii) 펄스 옥시미터; iii) 흉부 x-선; iv) 폐 환기/관류 스캔; v) 폐 혈관촬영; vi) 심전도; 및 v) 컴퓨터 단층 흉부 혈관촬영.
- [0047] 혈전정맥염은 혈전으로 인한 정맥 팽창 (염증)이다. 이러한 증상은 보통 장시간 앉아 (예컨대 장시간 비행기 여행으로) 발생한다. 개인에게서 혈전의 기회를 증가시키는 질환은 또한 혈전정맥염으로 이어지기도 한다. 표재성 혈전정맥염이 피부 근처 정맥에 영향을 미친다.
- [0048] 보통 표재성 혈전정맥염과 관련되는 증상은 다음을 포함할 수 있으나 이에 한정되지는 않는다: i) 정맥 온기 (warmth) 및 압통; ii) 영향을 받은 신체 일부에서 통증; iii) 피부 붉어짐 (항상 존재하는 것은 아님); 또는 iv) 영향을 받은 신체 일부에서 염증 (팽창). 다음을 포함하나 이들에 한정되지 않는 객관적 검사를 행하여 혈전정맥염을 검출할 수 있다: i) 도플러 초음파; ii) 정맥 조영; 및 iii) 혈액 응고 조사.
- [0049] 허혈 위기가 시작되면, 사건 캐스케이드에 돌입하게 되어 위기를 더욱 심화시키고, 저지 및 치료를 어렵게 만든

다. 이들 허혈성 위기의 연속해서 저절로 계속되는 세가지 특징적인 양상이 주목할만한 가치가 있다. 허혈성 손상 부위에 영양소 및 산소 감소 외에, 상기 과정으로 염증성 손상 및 반응성 산소 종의 생성이 일어난다. 예를 들어, 허혈성 뇌졸중 후 산화 스트레스로 반응성 산소 중, 예컨대 과산화수소 (H_2O_2), 하이드록실 라디칼 ($HO\cdot$) 및 과산화물 음이온 라디칼 ($O_2\cdot^-$)이 발생하여 지질 과산화 및 단백질 변형으로 신경 및 혈관 손상 및 임상적 부족이 일어난다.

[0050] 허혈은 또한 리폭시게나제 활성화를 통해 류코트리엔 생산으로 이어지는 염증 캐스케이드에 따른 조직 손상을 야기한다. 리폭시게나제 (LOX)는 산소 분자를 다중불포화 지방산, 예컨대 아라키돈산에 도입하는 디옥시게나제이며, 산소 삽입 부위에 기초해 일반적으로 5-, 12-, 또는 15-LOX로서 분류된다. 최신 증거는 12/15-LOX가 허혈-유발 신경 세포 손상에 역할을 할 수 있음을 제안한다. 또한, 12-LOX의 활성화와 허혈에서 GSH 수준의 초기 감소간에 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 시험관내 세포 배양 분석을 이용하여, 12-LOX 저해제는 글루타메이트-유도 세포사를 봉쇄하고, 5- 및 12-LOX 저해제는 둘 다 해마 슬라이스 배양물에서 허혈성 손상을 봉쇄하는 것으로 판명되었다.

[0051] 본 발명은, 이하에 좀 더 상세히 설명되는 바와 같이, 전술한 임의의 허혈성 손상을 치료하는데 유용한 방법 및 조성물을 제공한다. 일 실시양태에 있어서, 본 발명은 허혈성 손상을 직접 또는 간접적으로 감소시키는 시스템아민 산물 (예를 들어, 시스템아민, 시스템아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염)의 용도를 제공한다. 일 실시양태에 있어서, 본 발명은 예를 들어, 시스템아민 산물의 투여로 대상체에서 아디포넥틴 수준을 촉진함으로써 허혈성 손상을 치료하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다.

[0052] 아디포넥틴 (종종 GBP-28, apM1, AdipoQ 및 Acrp30으로 일컬어짐)은 체내에서 ADIPOQ 유전자로 코딩되는 단백질이다. 아디포넥틴은 글루코스 수준, 지방산 이화작용 및 염증을 비롯한 다수의 대사과정을 조절하는 단백질 호르몬이다. 아디포넥틴은 지방 조직으로부터 혈류로 분비되고, 많은 호르몬에 비해 혈장에 매우 풍부하다. 호르몬 수준은 성인의 체지방과 반비례한다. 아디포넥틴은 모든 혈장 단백질의 약 0.01%이 5-10 $\mu g/mL$ 정도인 경우 혈류로 분비된다. 아디포넥틴 수준은 비당뇨인에 비해 당뇨인에서 감소된다.

[0053] 아디포넥틴은 자동적으로 더 큰 구조 (예를 들어, 고분자량 (HMW), 중분자량 (MMW) 및 저분자량 (LMW) 멀티머)로 자기 회합된다. 초기에, 3개의 아디포넥틴 분자가 함께 결합하여 호모트리머를 형성한다. 트리머는 자기 회합을 계속하여 헥사머 또는 도데카머를 형성한다. 아디포넥틴 모노머는 N-말단 신호 서열, 콜라겐성 도메인 및 C-말단 구형 도메인의 세 도메인을 가진다. 각 LMW 트리머의 콜라겐성 도메인 내에서 비결합된 Cys-36 잔기는 다른 트리머와 결합하여 MMW 헥사머를 형성하고, 이어서 더 큰 HMW 올리고머 멀티머를 형성할 수 있다 (예를 들어, 도 2A 참조).

[0054] 아디포넥틴 멀티머는 디설파이드 교환 반응 (아마도 hERO 및 ERp44를 통해)을 포함하는 과정에 의해 지방 세포 내에서 조립된 뒤, 방출되어 혈류에서 순환된다. 이들 단백질의 세포외 공간으로의 방출은 디설파이드 결합 형성을 통해 (예를 들어, 전자 전달 및 산화를 통해) 이루어지는 정확한 3-D 구조 배치에 의존한다. 과다 산화는 세포 내에서 단백질의 응집 및 과다축적으로 이어질 수 있다. 디설파이드 결합의 형성을 통한 접힘 실패는 아디포넥틴 단백질을 세포내적으로 분해된 채 남길 것이다. 인간 세포에서, Ero1-L알파 및 Ero1-L베타 (hEROs)는 티오레독신 도메인을 함유하는 ER 고유 단백질, Erp44의 도움으로 단백질 디설파이드 이소머라제 (PDI)-매개 디설파이드 결합 형성을 연속적으로 산화한다. ERp44는 hERO 및 카고 접힘 중간체와 혼합 디설파이드 (아마도 시스템아민 말단을 통해)를 형성한다. 정상적인 생리 조건하에서 LMW, MMW, 및 HMW 아디포넥틴 멀티머는 순환으로 분비되며, 이 경우 이들은 정상적으로는 상호전환할 수 없다. 이는 엄격히 통제되는 생산이며, 멀티머간 세포외 상호전환의 결여에 따른 아디포넥틴의 방출은 상이한 세포에서 상이한 신호-유도 기능을 가지는 아디포넥틴과 일치한다. LMW 형태는 특히, 간 및 골격근에서 인슐린 작용을 촉진함으로써 혈당 수준을 낮추는데 다른 형태보다 생물학적으로 더 활성적인 것으로 판명되었다. 아디포넥틴은 또한 허혈성 손상 후 유익한 역할을 하는 것으로 입증되었다. 또한, 아디포넥틴은 그의 항염증성 작용을 통해 뇌-보호 기능을 가지는 것으로 나타났다. 그러나, 아디포넥틴의 전달은 어렵고, 추가적인 연구 개발을 필요로 한다.

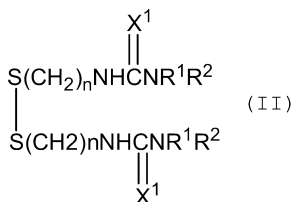
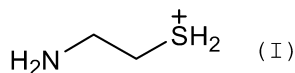
[0055] 이들 샤프론 단백질의 기능은 세포체의 최적의 세포내 조건 및 온화한 산화 환경에 의존한다. 과다 산화는 아디포넥틴 분자의 이상 접힘, 응집, 세포내 축적 및 궁극적으로는 분해로 이어질 수 있다. 따라서, 비만, 제II형 당뇨병, 인슐린 저항성, 심혈관 질환 및 비알콜성 지방간 질환 (NAFLD)과 같은 산화 스트레스와 관련된 상태에서 아디포넥틴의 생성 및 방출은 저하될 것이다. 또한, 비만, 당뇨병, 심혈관 질환 및 비알콜성 지방간 질환에

걸린 대상체는 허혈성 손상/위기에 걸릴 위험이 더 크다.

[0056] 상술한 바와 같이, 아디포넥틴 생합성은 아디포넥틴과 소포체 (ER) 샤프론 단백질 간 혼합 디설파이드 중간체의 형성 및 용해에 의존한다. 시스테아민 및 시스타민은 세포 과정에 대해 환원 등가물을 제공할 수 있는 능력을 가지는 설프히드릴 함유제이다. 본 발명은 시스테아민으로의 생체내 처리가 아디포넥틴의 순환 수준을 상당히 증가시킴을 입증하였다. 어떤 특정 작용 메커니즘에 결부되는 것을 원치 않지만, 데이터는 시스테아민이 환원 등가물의 공여로 세포 아디포넥틴의 폴로 "묶인 (tethered)" 결합된 디설파이드의 방출 작용을 할 수 있음을 제시한다. 다른 한편으로, 시스테아민은 순환 멀티머 아디포넥틴의 상호전환을 촉진하여 세포 수준으로 최대 효과 효능을 지니는 LMW 아디포넥틴의 농도를 증가시키는 작용을 할 수 있다. 시스테아민 산물의 투여는 추가로 HWM 아디포넥틴을 포함하는 아디포넥틴의 총량을 증가시킨다. 또한, 시스테아민은 자체가 허혈성 손상 부위에서 산화적 손상을 저지 또는 감소시킬 수 있는 산화방지 특성을 가진다. 상술된 여러가지 메커니즘과 관계없이, 데이터는 허혈성 손상을 감소시키는데 시스테아민 산물 (예를 들어, 시스테아민 또는 그의 유도체, 또는 시스타민 또는 그의 유도체)의 유익한 효과를 증명한다.

[0057] 시스테아민 ($\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$)은 그의 작은 크기 때문에 세포막을 쉽게 가로지를 수 있다. 현재 시스테아민은 리소좀내 시스틴 저장 장애인 시스틴증 치료용으로 FDA-승인을 받은 유일한 것이다. 시스틴증에서, 시스테아민은 시스틴을 시스테인 및 시스테인-시스테아민 혼합 디설파이드로 전환시킴으로써 작용하며, 이들 양자는 이어서 각각 시스테인 및 리신 수송체를 통해 리소좀을 떠날 수 있다 (Gahl *et al.*, *N Engl J Med*, 347(2):111-21, 2002). 시스테아민으로의 치료로 순환 백혈구에서 세포내 시스틴 수준을 저하시킬 수 있는 것으로 나타났다 (Dohil *et al.*, *J. Pediatr*, 148(6):764-9, 2006). 시스테아민 산물이 허혈 치료에 유용하다고 이전에 보고된 적은 없다.

[0058] 본 발명은 허혈성 손상 질환 및 장애의 치료에 유용한 시스테아민 산물을 제공한다. "시스테아민 산물"은 시스테아민 또는 그의 유도체, 또는 시스타민 또는 그의 유도체, 그의 생물학적 활성 대사물, 또는 시스테아민 또는 시스타민의 조합물을 가리키며, 전술한 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염, 에스테르, 아마이드, 알킬화 화합물, 프로드럭, 유사체, 인산화 화합물, 황산화 화합물, 또는 그의 기타 화학적으로 개질된 형태 등을 포함한다. 이러한 유도체로는, 예를 들어 에스테르화, 알킬화 (예를 들어, C1, C2 또는 C3), 표지 (예를 들어, 방사성 핵종 또는 다양한 효소로), 폐질화 (폴리에틸렌 글리콜로의 유도체화)와 같은 공유 폴리머 결합 또는 이들의 혼합과 같은 기술에 의한 화합물의 화학적으로 개질된 형태, 생물학적 활성 대사물을 포함한다. 일부 실시양태에 있어서, 시스테아민 산물은 하이드로클로라이드 염, 바이타르트레이트 염, 인산화 유도체, 및 황산화 유도체를 포함할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다. 기타 시스테아민 산물의 예는 2-아미노프로판 티올-1, 1-아미노프로판 티올-2, N- 및 S-치환된 시스테아민, AET, 아미노알킬 유도체, 포스포로티오에이트, 아미포스틴 (미국 특허 제4,816,482호)을 포함한다. 일 실시양태에 있어서, 시스테아민 산물에서 N-아세틸시스테인은 명백히 제외된다. 일 실시양태에 있어서, 시스테아민 산물은 하기 구조 I 및/또는 II의 것을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다:



[0059]

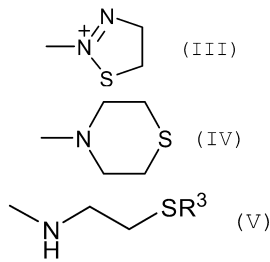
[0060] 상기 식에서,

[0061] n은 2 또는 3을 나타내고,

[0062] R₁ 및 R₂는 각각 수소 원자, 또는 하이드록시, 아미노, 알킬아미노 또는 디알킬아미노 기에 의해 임의로 치환된 알킬 기, 또는 사이클로알킬 또는 아릴 기를 나타내고,

[0063] X₁은 =N-CN, =N-NO₂, =N-COR₄, =N-NR-COOR₄, =N-NR-CONH₂, =N-SO₂R₄, =CH-NO₂, -CH-SO₂R₄, =C(CN)₂, =C(CN)COOR₄ 및 =C(CN)CONH₂로 구성된 군 중에서 선택되고, 여기서 R₄는 알킬 또는 아릴 기이다. 또 다른 측면으로, 시스테아

민 산물은 하기로 구성된 군 중에서 선택되는 임의의 수의 비독성 기에 연결된 시스테아민 라디칼을 포함할 수 있다:



상기 식에서,

R^3 은 수소 원자 또는 탄소원자수 1 내지 10의 직쇄 또는 분지형 알킬 기를 나타낸다.

시스테아민 산물의 약학적으로 허용가능한 염도 또한 포함되며, 약학적으로 허용가능한 음이온 및/또는 양이온을 포함한다. 약학적으로 허용가능한 양이온에는 특히 알칼리 금속 양이온 (예를 들어, Li^+ , Na^+ , K^+), 알칼리 토금속 양이온 (예를 들어, Ca^{2+} , Mg^{2+}), 비독성 중금속 양이온 및 암모늄 (NH_4^+) 및 치환된 암모늄 ($N(R')_4^+$) (여기서 R' 는 수소, 알킬, 또는 메틸, 에틸, 또는 하이드록시에틸을 포함하는 치환된 알킬이다), 특히, 트리메틸 암모늄, 트리에틸 암모늄, 및 트리에탄올 암모늄 양이온이 포함된다. 약학적으로 허용가능한 음이온에는 특히 할로겐화물 (예를 들어, Cl^- , Br^-), 설페이트, 아세테이트 (예를 들어, 아세테이트, 트리플로오로아세테이트), 아스코르베이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 시트레이트 및 락테이트가 포함된다.

본 발명은 특정 시스테아민 또는 시스타민 염 또는 에스테르 또는 유도체로 제한되지 않으며; 본 발명의 시스테아민 산물 조성물은 임의의 시스테아민 또는 시스타민, 시스테아민 또는 시스타민 유도체, 또는 시스테아민 또는 시스타민의 조합물을 포함한다. 조성물내에 활성 약제, 예를 들어, 시스테아민 또는 시스타민은 약리학적으로 허용가능한 염, 에스테르, 아마이드, 프로드럭 또는 유사체 또는 이의 조합물 형태로 투여될 수 있다. 활성 약제의 염, 에스테르, 아마이드, 프로드럭 및 유사체는 합성 유기 화학 기술 분야의 업자에 공지된 표준 과정에 따라 제조될 수 있으며, 예를 들면, [J. March, "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure," 4th Ed. (New York: Wiley-Interscience, 1992)]에 설명되어 있다. 예를 들어, 염기성 부가염은 하나 이상의 활성 약제의 자유 하이드록실 기와 적절한 염기의 반응을 포함하는 통상의 수단을 이용하여 중성 약물로부터 제조된다. 일반적으로, 중성 형태의 약물을 메탄올 또는 에탄올과 같은 극성 유기 용매에 용해시키고, 이에 염기를 첨가한다. 생성된 염을 침전시키거나, 또는 덜 극성인 용매를 첨가하여 용액으로부터 유리시킬 수 있다. 염기성 부가염을 형성하는데 적절한 염기에는 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화암모늄, 수산화칼슘, 트리메틸아민 등과 같은 무기 염기가 포함되나 이들로 제한되지는 않는다. 에스테르 제조는 약물의 분자 구조내에 존재할 수 있는 하이드록실기의 작용기화를 포함한다. 에스테르는 전형적으로 자유 알콜기의 아실-치환된 유도체 즉, $R-COOH$ (여기서 R 은 알킬, 전형적으로 저급 알킬임)의 카복실산으로부터 유도된 부분이다. 에스테르는 필요에 따라, 통상의 가수분해 또는 가수분해 공정을 이용하여 자유 라디칼로 전환될 수 있다. 아마이드 및 프로드럭의 제조는 유사한 방식으로 수행될 수 있다. 활성 약제의 다른 유도체 및 유사체는 합성 유기화학 분야의 업자들에 공지된 표준 기술을 이용하여 제조될 수 있거나, 또는 관련 문헌을 참조하여 유추할 수 있다.

시스테아민 산물은 표적 전달 또는 서방성 전달용으로 제형화될 수 있다. 예를 들어, 시스테아민은 필요에 따라, 소장 또는 하부 위장관의 목적 pH에서 전달을 촉진하기 위해 장용 코팅될 수 있다. 장용 코팅된 약물 또는 정제는 일반적으로 약물 또는 정제가 위장은 통과하여 고유한 형태 또는 실질적으로 고유한 형태로 유지되나, 소장에서는 용해되어 약물이 방출되도록 하는 물질 ("장용 코팅")로 코팅된 약물 또는 정제를 말한다. 겸상 적혈구 질환과 같은 만성 허혈 질환 및 장애를 치료하는 데에 장내 전달, 지연 방출 및 서방성 제제가 특히 적합하다.

본 발명의 임의의 제제는 서방성 형태로 투여될 수 있다. 서방성 제제는 제제를 반복 투여할 필요 없이 장시간 전달하는 이점이 있다.

서방성은, 예를 들어 와퍼(wafer), 면역비드, 마이크로캡슐 또는 시스테아민 산물 또는 조합 제제를 서서히 조절 방출할 수 있는 기타 물질과 같은 서방성 재료들을 이용하여 이를 수 있다. 이러한 방출 조절 물질들은 업계에 주지이며, 상업적 공급업자들로부터 입수할 수 있다. 또한, 생부식성 또는 생분해성 물질이 본 발명의 활성

약제와 함께 제제화될 수 있으며, 예컨대 폴리락트산, 폴리갈락트산, 재생 콜라겐, 다중층 리포솜 또는 기타 통상적인 데포 제제가 시스테아민 산물, 혈전증, 스핀 트랩제, 및 NMDA 길항제 제제들을 서서히 방출하도록 이식될 수 있다. 주입 펌프, 매트릭스 포착 시스템, 및 경피 전달 장치의 사용이 또한 본 발명에서 고려된다.

[0072] 활성 약제/제제는 또한 유리하게는 미셀 또는 리포솜내에 포위된다. 리포솜 캡슐화 기술은 주지이다. 리포솜은 수용체, 리간드 또는 항원에 결합할 수 있는 항체를 통해 특정 조직, 예컨대 신경 조직으로 표적화되거나 소정 조직으로 표적될 수 있다. 이들 제제의 제조는 당업계에 알려져 있다 (참조예: Pardridge, supra (1991), 및 Radin and Metz, Meth Enzymol. 98:613-618 (1983)).

[0073] 시스테아민 산물은 또한 추가적인 약학적으로 허용가능한 담체 또는 비히클을 포함할 수 있다. 약학적으로 허용가능한 담체 또는 비히클은 일반적으로 대상체에 투여하기에 적절하며 생물학적으로 무해하거나 원치 않는 효과를 일으키지 않는 물질을 가리킨다. 이와 같은 담체 또는 비히클은 전형적으로 약제의 비활성 성분이다. 전형적으로, 담체 또는 비히클은 임의의 바람직하지 않은 생물학적 효과를 일으키지 않거나 약학 조성물에 포함된 다른 성분과 유해한 방식으로 상호작용 없이, 활성 성분과 함께 대상체로 투여된다.

[0074] 시스테아민 산물 또는 기타 활성 성분은 약학적으로 허용가능한 염, 에스테르 또는 기타 유도체를 포함할 수 있다. 예를 들면, 염, 에스테르 또는 기타 유도체는 모 화합물과 비교하여 유사한 생물학적 효과를 가지는 생물학적 활성형을 포함한다. 예시적인 염에는 하이드로클로라이드 염 및 바이스타르트레이트(bistartate) 염이 포함된다.

[0075] 약학 담체는 특히 화합물에 염기성 또는 산성기가 존재하는 경우 약학적으로 허용가능한 염을 포함한다. 예를 들어, $-COOH$ 와 같은 산성 치환체가 존재하는 경우, 암모늄, 나트륨, 칼륨, 칼슘 등의 염이 투여용으로 고려된다. 또한, 산성기가 존재하는 경우, 화합물의 약학적으로 허용가능한 에스테르 (예를 들어, 메틸, tert-부틸, 피발로일옥시메틸, 숙시닐 등)가 화합물의 바람직한 형태로 고려되며, 이와 같은 에스테르는 서방성 또는 프로드럭 제제로서 사용하기 위해 용해도 및/또는 가수분해 특징을 변형시키기 위한 것으로 당분야에 공지되어 있다.

[0076] 염기성 기 (예컨대 아미노 또는 염기성 헤테로아릴 라디칼, 이를테면 피리딜)이 존재하는 경우, 산성 염, 예를 들어, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 아세테이트, 말레에이트, 파모에이트, 메탄설포네이트, p-톨루엔설포네이트 등이 투여 형태로서 고려된다.

[0077] 또한, 화합물은 물 또는 통상의 유기 용매와 용매화물을 형성할 수 있다. 이와 같은 용매화물도 또한 고려된다.

[0078] 본 발명의 활성 성분, 약제 또는 기타 조성물은 안정화제를 포함할 수 있다. 일반적으로, 안정화제는 약제, 특히 경구 약제 제제가 저장 환경 조건하에 분해되는 속도를 낮추는 화합물을 가리킨다. 특정 안정화제가 혈관내 전달용으로 적합하다. 예를 들어, 하나 이상의 다음 안정화제가 시스테아민 산물을 혈관내 전달용으로 제제화하는데 사용될 수 있다: α -토코페롤, 2,6-디-tert-부틸-4-메틸페놀 (BHT), 토코페롤 아세테이트, 2-tert-부틸-4-하이드록시아니솔 및/또는 3-tert-부틸-4-하이드록시아니솔 (BHA), 도데실 갈레이트, 아세테이트 및 아스코르브산.

[0079] 본원에 사용된 "치료적 유효량" 또는 "유효량"은 증상의 경감, 예를 들면, 관련 의학적 상태의 치료, 치유, 예방 또는 경감을 불러 오거나, 또는 이와 같은 상태의 치료, 치유, 예방 또는 경감율을 증가시켜, 전형적으로 치료군에서 통계학적으로 유의적인 개선을 제공하기에 충분한 스테아민, 시스테아민 유도체, 시스타민, 시스타민 유도체 또는 그의 염의 양을 말한다. 개별 활성 성분이 단독으로 투여된다고 언급되는 경우, 치료적 유효량은 그 활성 성분만을 의미한다. 조합물이 언급되는 경우, 치료적 유효량은 연속 또는 동시를 포함하여 병용 투여되는 경우 치료 효과를 내는 활성 성분의 조합 양을 가리킨다. 일 실시양태에 있어서, 시스테아민 산물의 치료적 유효량은 염증성 손상, 산화 손상, 산화제의 양 감소, 급성 또는 만성 허혈성 사건으로 인한 허혈성 손상의 감소, 아디포넥틴 수준 증가 및/또는 LMW 아디포넥틴 증가를 포함하나 이들로 제한되지 않는 증상을 경감시킨다.

[0080] 본원에 사용된, 용어 "허혈성 손상 경감량" 또는 "유효량"은 조직 손상을 경감시키거나, 행동 변화를 경감시키거나, 또는 손상된 조직의 재관류를 촉진시킴으로써 허혈성 손상의 감소를 일으키는데 유용한 시스테아민 산물을 포함하는 조성물의 양을 의미한다. 전신적으로 투여되는 유효량은 대상체의 체중에 따라 달라진다. 전형적으로, 전신적으로 투여되는 유효량은 약 0.1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg (예를 들어, 약 0.5 mg/kg 내지 약 20 mg/kg)이다. 유효량은 물론, 예를 들어, 대상체 (예를 들어, 사람과 같은 포유동물)의 연령 및 체중, 치료를 요하는 정확한 상태 및 그의 중증도 및 투여 경로 및 궁극적으로는 수행 의사 또는 수의사의 재량에 따라 달라질 것이다.

- [0081] 활성 성분으로서 시스테아민 산물을 함유하는 본 발명의 약학 조성물은 투여 경로에 따라 약학적으로 허용가능한 담체 또는 첨가제를 포함할 수 있다. 이와 같은 담체 또는 첨가제의 예로는 물, 약학적으로 허용가능한 유기 용매, 콜라겐, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐피롤리돈, 카복시비닐 폴리머, 카복시메틸셀룰로스 나트륨, 폴리아크릴산 나트륨, 알긴산나트륨, 수용성 텍스트란, 카복시메틸 전분 나트륨, 펙틴, 메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 잔탄검, 아라비아검, 카제인, 젤라틴, 한천, 디글리세린, 글리세린, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 바세린, 파라핀, 스테아릴 알콜, 스테아르산, 인간 혈청 알부민 (HSA), 만니톨, 소르비톨, 락토스, 약학적으로 허용가능한 계면활성제 등이 포함된다. 사용되는 첨가제는 본 발명의 투약 형태에 따라 상기 물질 또는 이들의 조합물로부터 적절히 선택되나, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0082] 약학 조성물의 제제는 선택된 투여 경로에 따라 다양할 것이다 (예를 들어, 용액, 에멀전). 투여될 시스테아민 산물을 포함하는 적절한 조성물은 생리학적으로 허용가능한 비히클 또는 담체중에서 제조될 수 있다. 용액 또는 에멀전의 경우, 적절한 담체로는 예를 들어 수성 또는 알콜성/염수 및 완충 매질을 비롯한 수용액, 에멀전 또는 현탁액이 포함된다. 비경구 비히클은 염화나트륨 용액, 링거 텍스트로즈, 텍스트로즈, 염화나트륨, 락테이트화된 링커 또는 고정 오일을 포함할 수 있다. 정맥내 비히클은 다양한 첨가제, 보존제 또는 유제, 영양제 또는 전해질 보충제를 포함할 수 있다.
- [0083] 각종 수성 담체, 예를 들어 물, 완충수, 0.4% 염수, 0.3% 글리신 또는 수성 현탁액은 수성 현탁액의 제조에 적합한 부형제와 함께 활성 화합물을 포함할 수 있다. 이와 같은 부형제는 현탁제, 예를 들면, 소듐 카복시메틸셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스, 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리돈, 트라가칸트검, 아카시아검이며; 분산제 또는 습윤제는 자연 발생 포스파티드, 예를 들면, 레시틴 또는 알킬렌 옥사이드와 지방산의 축합 산물, 예를 들면, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 또는 에틸렌 옥사이드와 장쇄 지방족 알콜의 축합 산물, 예를 들면, 헵타데카에틸렌옥시세탄올, 또는 지방산 및 헥시톨로부터 유래된 부분 에스테르와 에틸렌 옥사이드의 축합 산물, 예를 들면, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레이트, 또는 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유래된 부분 에스테르와 에틸렌 옥사이드의 축합 산물, 예를 들면 폴리에틸렌 소르비탄 모노올레이트이다. 수성 현탁액은 또한 하나 이상의 보존제, 예를 들면, 에틸, 또는 n-프로필, p-하이드록시벤조에이트, 하나 이상의 착색제, 하나 이상의 향미제, 하나 이상의 감미제 예를 들어, 수크로스 또는 사카린을 포함할 수 있다.
- [0084] 일부 실시양태에서, 본 발명의 시스테아민 산물은 저장을 위해 동결건조되고 사용전에 적절한 담체에서 재구성될 수 있다. 임의의 적절한 동결건조 및 재구성 기술이 이용될 수 있다. 동결건조 및 재구성으로 활성이 다양한 정도로 상실될 수 있으며, 이의 보상을 위해 사용 수준이 조절되어야 한다는 것은 당업자가 알고 있다.
- [0085] 물을 첨가하여 수성 현탁액을 제조하는데 적합한 분산가능한 분말 및 과립은 분산 또는 습윤제, 현탁제 및 하나 이상의 보존제와 혼합된 활성 화합물을 제공한다. 적합한 분산 또는 습윤제 및 현탁제는 상기에서 이미 언급된 것으로 예시된다. 추가적인 부형제, 예를 들면, 감미제, 향미제 및 착색제도 또한 존재할 수 있다.
- [0086] 일 실시양태에서, 본 발명은 장용 코팅된 시스테아민 산물 조성물의 용도를 제공한다. 장용 코팅은 시스테아민 산물이 장관, 전형적으로 소장 에 도달될 때까지 방출을 지연시킨다. 장용 코팅으로 인하여 소장으로의 운반이 향상됨으로써 위 부작용은 감소하면서 활성 성분의 섭취가 향상된다.
- [0087] 일부 실시양태에서, 제형이 소장 또는 pH가 4.5가 넘는 부위에 도달될 때 치료적 활성제를 방출하도록 코팅 물질이 선택된다. 코팅은 위장의 낮은 pH 환경에서는 고유한 상태로 유지되나, 환자의 소장에서 흔히 볼 수 있는 pH에서는 붕해 또는 용해되는 pH-민감성 물질일 수 있다. 예를 들어, 장용 코팅 물질은 pH 약 4.5 내지 약 5.5에서 수용액에 용해되기 시작한다. 예를 들면, pH-민감성 물질은 제형이 위장에서 모두 비워질 때까지 유의적인 용해를 겪지 않을 것이다. 소장의 pH는 십이지장구부(duodenal bulb)에서는 약 4.5에서 약 6.5로 점진적으로 증가되며, 소장의 원부에서는 약 7.2로 증가된다. 약 3시간 (예를 들어 2-3시간)의 소장 체류 시간에 상응하는 예측가능한 용해와 여기에서 재현적 방출이 허용되도록 하기 위하여 코팅은 소장내 pH 범위에서 용해가 시작되어야 한다. 따라서, 장용 폴리머 코팅의 양은 소장, 예컨대 소장의 근위 및 중간 부분내에서 약 3시간의 체류 시간 동안 실질적으로 용해되도록 하기에 충분한 양이어야 한다.
- [0088] 경구 섭취가능한 제형으로부터 약물의 방출을 저지하기 위해 수년간 장용 코팅이 사용되어 왔다. 조성물 및/또는 두께에 따라, 장용 코팅은 위장 하부 또는 소장의 상부에서 장용 코팅이 붕해되어 약물의 방출을 허용하기 전, 필요한 시간 동안 위산에 저항성이다. 일부 장용 코팅의 예는 그의 전체가 본원에 참고로 인용되는 미국 특허 5,225,202호에서 설명되었다. 미국 특허 5,225,202호에서 예시된 바와 같이, 이용된 일부 장용 코팅의 예는 밀랍 및 글리세릴 모노스테아레이트; 밀랍, 셀락 및 셀룰로스; 및 세틸 알콜, 마스틱 및 셀락, 뿐만 아니라 셀락 및 스테아르산 (미국 특허 2,809,918호); 폴리비닐 아세테이트 및 에틸 셀룰로스 (미국 특허 3,835,221호);

및 폴리메타크릴산 에스테르의 중성 코폴리머 (Eudragit[®] L30D) (F. W. Goodhart et al., Pharm. Tech., pp. 64-71, April 1984); 메타크릴산 및 메타크릴산 메틸에스테르의 코폴리머 (Eudragits), 또는 금속 스테아레이트를 함유하는 폴리메타크릴산 에스테르의 중성 코폴리머가 있다 (Mehta et al., 미국 특허 4,728,512호; 4,794,001호). 이와 같은 코팅은 지방 및 지방산, 셀락 및 셀락 유도체 및 셀룰로스 산 프탈레이트의 혼합물, 예를 들어 자유 카복실 함량을 가지는 것을 포함한다. 적절한 장용 코팅 조성물에 대해서는 문헌 [Remington's at page 1590, and Zeitova et al. (미국 특허 4,432,966)]을 참고한다. 따라서, 시스테아민 산물 조성물의 장용 코팅으로 인하여 소장에서 흡수가 증가되어 효능이 개선될 수 있다.

[0089] 일반적으로, 장용 코팅은 위장의 낮은 pH 환경에서는 시스테아민 산물의 방출을 저지하나 다소 높은 pH, 전형적으로 4 또는 5의 pH에서는 이온화됨으로써, 소장에서 충분히 용해되어 이에 활성 약제를 점진적으로 방출시키는 폴리머 물질을 포함한다. 따라서, 가장 효과적인 장용 코팅 물질은 pKa가 약 3 내지 5의 범위인 다중산 (polyacid)이다. 적합한 장용 코팅 물질은 중합된 젤라틴, 셀락, 메타크릴산 코폴리머 타입 C NF, 셀룰로스 부티레이트 프탈레이트, 셀룰로스 하이드로젠 프탈레이트, 셀룰로스 프로피오네이트 프탈레이트, 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트 (PVAP), 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트 (CAP), 셀룰로스 아세테이트 트리멜리테이트 (CAT), 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 프탈레이트, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트, 디옥시프로필 메틸셀룰로스 숙시네이트, 카복시메틸 에틸셀룰로스 (CMEC), 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트 (HPMCAS), 및 전형적으로 메틸 아크릴레이트, 에틸 아크릴레이트, 메틸 메타크릴레이트 및/또는 에틸 메타크릴레이트와 아크릴산 에스테르 및 메타크릴산 에스테르의 코폴리머로부터 형성된 아크릴산 폴리머 및 코폴리머 (Eudragit[®] NE, Eudragit[®] RL, Eudragit[®] RS)를 포함하나 이들로 제한되지는 않는다. 예를 들면, 장용 코팅은 Eudragit[®] L30D, 트리에틸시트레이트 및 하이드록시프로필메틸셀룰로스 (HPMC)를 포함할 수 있으며, 이때 코팅은 최종 산물의 10 내지 13%로 포함된다.

[0090] 일 실시양태에서, 시스테아민 산물 조성물은 정제형(tablet form)으로 투여된다. 여러 실시양태에서, 정제는 먼저 시스테아민 산물을 장용 코팅하여 제조된다. 본원에서 정제의 형성 방법은 장용 코팅된 시스테아민 산물과, 임의로 희석제, 결합제, 윤활제, 붕해제, 착색제, 안정화제 등을 함유하는 분말을 직접 압축시키는 것이다. 다양한 실시양태에서, 정제는 부형제를 시스테아민 산물과 블렌딩하고, 정제와 장용 코팅을 압축하여 제조된다. 직접 압축의 대안으로, 습식-과립화, 건식-과립화 또는 롤러 압축 공정을 이용하여 압축 정제가 제조될 수 있다. 정제는 또한 적합한 수용성 윤활제를 포함하는 습윤 물질로 출발하여 압축이 아닌 성형처리될 수 있다. 시스테아민 산물의 섭취를 촉진하기 위해서 생물학적으로 이용가능한 철이 위/경구 제제에 포함될 수 있다.

[0091] 본 발명은 허혈성 손상 부위에서 대상체의 산화 손상을 감소시키기에 유효량으로 시스테아민 산물, 예를 들어, 시스테아민 또는 그의 유도체, 또는 시스타민 또는 그의 유도체를 투여하는 것을 포함하는, 산화 손상과 관련된 허혈성 손상 및 염증의 치료 방법을 제공한다. 상기 방법 및 조성물은 허혈성 사건 전, 그와 동시에 또는 그 후, 대상체에 시스테아민 산물을 전달하는 것을 포함한다. 일부 또는 임의의 실시양태에서, 시스테아민 산물은 급성 허혈성 사건과 동시에 또는 직후 일정 시간 내에 허혈성 손상을 감소시키기에 유효량으로 투여된다. 투여된 시스테아민 산물은 산화 손상을 감소시키거나, 아디포넥틴 생성/순환을 촉진하여 산화 손상을 억제하는 것을 비롯한 하나 이상의 효과를 가진다.

[0092] 본 발명은 대상체에 유효량의 시스테아민 산물, 예를 들어, 시스테아민 또는 그의 유도체, 또는 시스타민 또는 그의 유도체, 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 아디포넥틴 수준을 촉진하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 본 발명은 세포 또는 대상체를 시스테아민 산물과 접촉시키게 되면 시스테아민 산물이 부재하는 동일한 세포 또는 대상체와 비교하여 아디포넥틴 수준이 증가하는 것을 입증하였다. 일 실시양태에 있어서, 시스테아민 또는 그의 유도체, 또는 시스타민 또는 그의 유도체, 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염은 아디포넥틴의 저분자량 멀티머 생성을 촉진할 수 있다.

[0093] 본 발명은 대상체에서 아디포넥틴 수준을 증가시키고/시키거나 GSH 수준을 조절하기에 유효량으로 시스테아민 산물, 예를 들어, 시스테아민 또는 그의 유도체, 또는 시스타민 또는 그의 유도체, 또는 약학적으로 허용가능한 그의 염을 투여하는 것을 포함하는, 허혈성 손상 및 염증의 치료 방법을 제공한다. 상기 방법 및 조성물은 허혈성 사건 전, 그와 동시에 또는 그 후, 대상체에 시스테아민 산물을 전달하는 것을 포함한다. 일부 또는 임의의 실시양태에서, 시스테아민 산물은 급성 허혈성 사건과 동시에 또는 직후 일정 시간 내에 허혈성 손상을 감소시키고/시키거나 아디포넥틴 수준을 증가시키기에 유효량으로 투여된다. 일 실시양태에 있어서, 증가된 아디포넥틴 수준은 저분자량 아디포넥틴 멀티머의 증가된 수준이다.

- [0094] 본 발명은 아디포넥틴 수준 및 특히 LMW 아디포넥틴 수준을 증가시키기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 또한, 발명은 허혈성 손상을 치료하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 다른 실시양태에 있어서, 본 발명은 아디포넥틴의 수준을 증가시키기에 유효량의 시스테아민 산물로 아디포넥틴 수준 (예를 들어, LMW 아디포넥틴)의 증가를 필요로 하는 대상체를 치료하는 것을 제공한다. 대상체는 급성 허혈성 사건, 허혈성 손상에 있거나, 아마도 급성 허혈성 사건을 가질 것 같은 대상체일 수 있다. 대상체는 혈전성 장애가 있는 대상체일 수 있다. 대상체는 당뇨병인 (예를 들어, 제II형 당뇨병에 걸린 대상체) 또는 비만인 대상체일 수 있다. 일부 실시양태에 있어서, 당뇨병인 또는 비만인 대상체는 건강한 대상체 (예를 들어, 비-비만인 또는 비-당뇨인 대상체)와 비교해서 낮은 LMW 아디포넥틴 수준, 또는 높은 HMW 아디포넥틴 수준일 수 있다. 일부 실시양태에 있어서, 대상체는 당뇨병인 대상체가 아니다. 일부 실시양태에 있어서, 대상체는 파골레스테롤혈증을 갖지 않는다.
- [0095] 본 발명은 허혈의 위험을 증가시키는 만성 질환을 치료하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 허혈성 손상/위기의 위험을 증가시키는 만성 질환은 아테롬성동맥경화증 (동맥 루멘을 폐쇄하는 지질이 실린 플라크); (정상인 글루코스 수준 보다 낮은) 저혈당; (심장이 비정상적으로 빨리 뛰는) 심빈박; 저혈압 (예를 들면 패혈증 쇼크, 심부전에서 낮은 혈압); 혈전색전증 (혈전; 예를 들면, 암과 관련); 예를 들면 중앙 또는 상장간동맥 증후군의 경우에 혈관의 외부 압박; 색전증 (순환에서 이물질, 예를 들면, 양수 색전증); 겸상 적혈구 질환 (비정상적인 형상의 적혈구); 및 빈혈증을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다. 이러한 만성 질환을 치료하는데 있어서, 덜 빈번히 복용되고 경구 대(vs.) IV로 섭취될 수 있는 조성물 및 서방성/지연 방출성 제제가 특히 유용하다. 예를 들어, 본 발명은 4.5보다 높은 pH에서 방출되고, Cystagon[®] 보다 덜 빈번히 복용되는 장용 코팅된 시스테아민 산물을 제공한다. 이러한 전달을 위한 제제는 또한 생체이용가능한 철분 보충제 또는 시스테아민 산물의 섭취를 촉진하기 위한 성분을 포함할 수 있다. 대상체가 임상 상황인 경우, IV 투여는 장기간 사용될 수 있다. 예를 들어, 시스테아민 산물은 IV 투여용 안정화제를 포함하는 약학적으로 허용가능한 완충제에서 제제화될 수 있다.
- [0096] 본 발명은 또한 포유동물에 유효량의 시스테아민 산물을 단독으로 또는 본원에 기술된 바와 같은 기타 치료제 (예를 들어, 혈전용해제, 자유-라디칼 스캐빈저 등)와 조합으로 투여하는 것을 포함하는, 포유동물에서 재판류 동안 위험한 조직에 대한 손상을 억제하는 방법을 제공한다.
- [0097] 약제는 별도의 제제로서 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있거나, 또는 단일 제제로서 동시에 투여될 수 있다. 임의의 경우에, 다수 약제의 제2 또는 제3 등의 지연으로 조직 손상을 억제하는데 생체내 약제 조합의 상승적인 효과의 혜택을 잃어서는 안된다.
- [0098] 상술한 바와 같이, 시스테아민 산물 조성물은 경구, 비경구, 경안, 비강내, 경피, 점막을 통하여, 흡입 스프레이, 질내, 직장내, 뇌 척수액 속 또는 두개골내 주사를 통하여 투여될 수 있다. 본원에서 사용된 비경구는 피하 주사, 정맥내, 근육내, 낭내 주사 또는 주입 기술을 포함한다. 정맥내, 피부내, 근육내, 유방내, 복강내, 척수강내, 안구후부, 폐내 주사를 통한 투여 및/또는 특정 부위에 외과적 이식도 고려될 수 있다. 일반적으로, 상기 방법 중 임의의 한 방법에 의한 투여용 조성물에는 발열물질(pyrogen) 뿐만 아니라 수용체에 유해할 수 있는 다른 불순물이 필수적으로 없어야 한다. 또한, 비경구 투여용 조성물은 멸균된 것이어야 한다.
- [0099] 유효량의 시스테아민 산물을 도입하기 위해 두개내 주사 또는 뇌척수액으로의 직접 주사가 또한 이용될 수 있다. 시스테아민 산물은 본원에 기술된 바와 같은 다른 치료제와 조합될 수 있다.
- [0100] 혈관내 주입은 보통 주입 백 또는 병이나, 전기 작동 주입 주사기 내에 함유된 비경구 용액을 사용하여 수행된다. 용액은 주입 백 또는 병으로부터 중력 공급에 의해 또는 주입 펌프를 이용하여 대상체로 전달될 수 있다. 중력 공급 주입 시스템의 사용은 일부의 경우 비경구 용액의 투여 속도를 충분히 제어하지 못하며, 따라서 주입 펌프를 특히 비교적 고농도의 스핀 트랩/혈전용해제를 함유하는 용액과 함께 사용하는 것이 바람직할 수 있다. 전기 작동 주입 주사기는 투여 속도를 훨씬 더 크게 제어할 수 있다.
- [0101] 예를 들어 급성 허혈성 뇌졸중과 관련된 신경 손상 치료의 경우, 시스테아민 산물 제제 (예를 들어, 시스테아민, 시스타민 또는 이들 유도체 포함)의 적절한 1일 전신 용량은 대상체의 체중에 좌우되며, 약 0.1 μg /kg 내지 약 100 mg/kg 범위이지만, 약 0.1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 또는 약 0.5 mg/kg 내지 약 20 mg/kg의 용량도 또한 고려된다. 따라서, 전형적인 70 kg의 인간에 대한 전신 용량은 1일 약 7 μg 내지 약 7,000 mg일 수 있다. 국소적으로 투여되는 물질의 1일 용량은 대략 전신 용량의 한자릿수 미만일 것이다. 경구 투여 또한 고려된다.
- [0102] 시스테아민 산물은 허혈성 손상 (예를 들어, 급성 허혈성 손상) 부위에 국소적으로 투여될 수 있거나, 또는 전

신적으로 투여될 수 있다. 일 실시양태에 있어서, 시스테아민 산물은 허혈성 손상의 위험이 있는 대상체 (예를 들어, 겸상 적혈구 질환에 걸린 대상체)에 일정 시간에 걸쳐 만성적으로 또는 연속적으로 투여될 수 있다. 투여 경로 및 제제는 만성 또는 급성 치료에 따라 다를 수 있다.

[0103] 일 실시양태에 있어서, 시스테아민 산물은 허혈성 손상 시기 또는 허혈성 사건 또는 허혈성 손상 직 후 일정 시간 내에 급성적으로 투여될 수 있다. 기간은 허혈성 사건 후 수 분 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 그 이상의 분) 또는 10, 20, 30, 60, 90 120 또는 그 이상의 분에서 수 시간 (예를 들어, 3시간, 6시간, 10시간, 12시간 또는 그 이상)의 범위일 수 있다. 일 실시양태에 있어서, 시스테아민 산물은 허혈을 치료하는데 유용한 하나 이상의 추가의 약제와 조합으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 방법은 재관류 약제, 자유 라디칼 스캐빈저제, 스핀 트랩제 등과의 투여를 포함할 수 있다.

[0104] 다른 실시양태에 있어서, 대상체는 뇌졸중, 심장 허혈 또는 기타 허혈성 손상의 위험에 있으며, 예를 들어, 뇌졸중, 폐 또는 심장 허혈의 위험을 초래하는 상태를 경험했거나 경험 중에 있다. 이러한 상태의 예로서는 고혈압; 흡연; 당뇨병; 경동맥 또는 다른 동맥 질환; 말초 동맥 질환; 심방 세동; 기타 심장 질환; 일과성 허혈 발작 (TIA); 특정 혈액 장애 (예를 들어, 높은 적혈구 세포수; 겸상 적혈구 질환); 고 혈중 콜레스테롤; 육체적 불활동 및 비만; 과다 알콜; 특정 불법 약물; 이전 뇌졸중; 또는 이전 심장마비를 포함한다.

[0105] 만성 상태 (예를 들어, 겸상 적혈구 질환)에서는 서방성 또는 방출 조절형 제제가 적용될 수 있다. 급성 상태 (예를 들어, 허혈성 뇌졸중)에서는 즉시 방출제제가 IV 전달 (또는 기타 비경구 전달), 국소 뇌 전달 등을 통해 적당하다. 일부 실시양태에 있어서, 시스테아민 산물 조성물은 시스테아민 산물의 C_{max} 가 동일량의 시스테아민 산물을 함유하는 즉시 방출 투약 형태로 제공되는 C_{max} 보다 적어도 약 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 또는 100% 더 높은 지연 방출 또는 방출 조절 투약 형태이다. 일부 실시양태에서, C_{max} 는 즉시 방출 제형의 C_{max} 보다 최대 약 75%, 100%, 125% 또는 150% 더 높다. C_{max} 는 투약후 혈액내 시스테아민 산물의 최대 용량을 가리키는 것으로, 약물이 전신적으로 흡수되었다는 지표를 제공한다.

[0106] 일부 실시양태에서, 지연 또는 조절 방출 제형의 AUC는 즉시 방출 제형과 비교하여 최소 약 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 또는 50%, 또는 최대 약 50%, 60%, 75% 또는 100% 증가된다. AUC 또는 "곡선 아래 면적"은 약물의 투약후 시간에 따른 약물의 혈장 농도를 측정하여 유도된 약동학적 곡선을 말한다.

[0107] 원하는 약동학적 특성을 가지는 약학 조성물의 지연, 조절 또는 서방성/연장 방출형의 제제는 당분야에 공지되어 있으며, 다양한 방법으로 실시될 수 있다. 예를 들면, 경구 조절 전달 시스템은 용해-조절 방출 (예를 들어, 캡슐화 용해 조절 또는 매트릭스 용해 조절), 확산-조절 방출 (저장소 장치 또는 매트릭스 장치), 이온 교환 수지, 삼투 제어 방출 또는 위체류 시스템을 포함한다. 용해 조절 방출은, 예를 들어 불용성 폴리머내에 약물을 도입하고, 약물 입자 또는 과립을 다양한 두께의 폴리머 물질로 코팅시켜, 위장관내에서 약물의 용해 속도를 늦춤으로써 얻을 수 있다. 확산 조절 방출은, 예를 들어 폴리머 막 또는 폴리머 매트릭스를 통한 확산을 제어함으로써 얻을 수 있다. 삼투 조절 방출은, 예를 들어 반투성 막을 통한 용매의 유입을 조절하고 레이저로 천공된 오리피스를 통하여 약물을 밖으로 전달하게 함으로써 얻을 수 있다. 막의 한 측면상에 삼투압 및 유체 정압 차이가 유체 수송을 제어한다. 예를 들면, 제제의 밀도를 변경시키거나, 위장 내벽에 생체흡착을 변경시키거나 또는 위내에 부유 시간을 증가시키면 위내 체류가 연장될 수 있다. 좀더 상세한 것은 그의 전체내용이 본원에 참고로 인용되는 문헌 [Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Wise, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, NY (2000), 예로서 Chapter 22 ("An Overview of Controlled Release Systems")]을 참고한다.

[0108] 이들 제제내 시스테아민 산물의 농도는 매우 다양할 수 있으며, 중량으로 약 0.5% 미만, 통상 약 1% 또는 적어도 1%에서 15% 또는 20%일 수 있고, 주로 선택된 특정 투여 방식에 따라 유체 용적, 제조상 특징, 점도 등에 따라 선택된다. 투여가능한 조성물의 실제 제조 방법은 공지되었거나, 당업자에 자명하며, 예를 들면, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Science, 15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1980)]에 좀더 상세하게 설명되어 있다.

[0109] 시스테아민 산물은 치료적 유효량으로 조성물내에 존재하며; 전형적으로 조성물은 단위 제형내에 있다. 투여되는 시스테아민 산물의 양은 물론 대상체의 연령, 체중 및 전반적인 상태, 치료될 상태의 중증도 및 처방 의사의 판단에 따라 달라질 것이다. 적절한 치료량은 당업자에 공지된 것이고/것이거나, 문헌 및 관련 자료에 설명되어 있다. 현재 비-장용 코팅화된 용량은 체표면적 m^2 당 약 1.35 g이며, 1일 4 내지 5회 투여된다. 일 실시양태에 있어서, 용량은 만성 질환 상태 (예를 들어, 겸상 적혈구 질환)에 대해 1일 1회 또는 1일 다수회 투여되며, 급

성 상태 (예를 들어, 급성 허혈성 손상)에 대해 볼러스 또는 IV로 투여될 수 있다. 시스테아민 산물은 1일 1회 또는 2회 또는 3회 또는 4회 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 시스테아민 산물은 1일 4회 미만으로 주어진다. 일부 실시양태에서, 시스테아민 산물의 유효 용량은 1일 체중 kg당 0.01 mg 내지 1000 mg (mg/kg)의 범위, 또는 1일 체중 kg당 약 0.1 mg 내지 약 100 mg, 또는 약 0.5 mg 내지 약 20 mg일 수 있다. 추가적으로, 유효한 용량은 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg/ 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg, 50 mg/kg, 55 mg/kg, 60 mg/kg, 70 mg/kg, 75 mg/kg, 80 mg/kg, 90 mg/kg, 100 mg/kg, 125 mg/kg, 150 mg/kg, 175 mg/kg, 200 mg/kg일 수 있으며, 25 mg/kg 씩 최대 1000 mg/kg 까지 증가될 수 있거나, 또는 상기 값들 중 임의의 두 값 사이의 범위일 수 있다. 일부 실시양태에서, 시스테아민 산물은 체표면적 m²당 약 0.25 g 내지 4.0 g의 1일 총 용량으로 투여되며, 예를 들면, 적어도 약 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9 또는 2 g/m², 또는 최대 약 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.2, 2.5, 2.7, 3.0, 또는 3.5 g/m²이다. 일부 실시양태에 있어서, 시스테아민 산물은 체표면적 m²당 약 0.5 내지 2.0 g, 또는 체표면적 m²당 1 내지 1.5 g, 또는 체표면적 m²당 0.5 내지 1 g/, 또는 체표면적 m²당 약 0.7 내지 0.8 g, 또는 체표면적 m²당 약 1.35 g의 1일 총 용량으로 투여될 수 있다. 동일한 활성 성분의 염 또는 에스테르는 염 또는 에스테르 부분의 타입 및 중량에 따라 분자량이 달라질 수 있다. 제형의 투여를 위하여, 예를 들어, 장용 코팅된 시스테아민 산물을 포함하는 정제, 캡슐 또는 다른 경구 제형의 경우, 100 mg 내지 1000 mg 범위의 총 중량이 이용된다. 제형은 예를 들어, (i) 비정상적 또는 이상(abnormal) 총 아디포넥틴 수준과 관련된 질환, (ii) HMW:MMW, HMW:LMW, 또는 MMW:LMW 아디포넥틴의 불규칙 또는 비정상적 비, (iii) 만성 허혈 위험 또는 사건, 또는 (iv) 급성 허혈성 손상 (예를 들어, 뇌졸중 또는 기타 심혈관 질환)로 고통받는 환자에 경구적으로 투여된다. 투여는 질환 또는 장애 (예를 들어, 급성 사건 또는 만성 질환)에 따라, 수 시간, 수 일, 수 주, 수 개월 또는 수 년 지속될 수 있다.

[0110] 투여에 유용한 조성물은 이들의 효과를 증가시키는 섭취 또는 흡수 보강제와 함께 제제화될 수 있다. 이와 같은 보강제에는 예를 들면, 살리실레이트, 글리코콜레이트/리놀레이트, 글리콜레이트, 아프로티닌, 바시트라신, SDS, 카프레이트, 철 등이 포함된다. 예를 들어, 문헌 [Fix (J. Pharm. Sci., 85:1282-1285, 1996)] 및 [Oliyai and Stella (Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 32:521-544, 1993)]을 참조한다.

[0111] 장용 코팅된 시스테아민 산물은 약학 분야에 주지된 바와 같이, 부형제가 조성물내 임의의 성분에 대해 불안정화 효과를 나타내지 않는 한, 다양한 부형제를 포함할 수 있다. 따라서, 결합제, 벌크제, 희석제, 붕해제, 윤활제, 충전제, 담체 등과 같은 부형제가 시스테아민 산물과 조합될 수 있다. 고형 조성물의 경우, 희석제는 전형적으로 압축에 실질적인 크기를 제공하도록 정제의 부피를 증가시키는데 필요하다. 적절한 희석제에는 인산이칼슘, 황화칼슘, 락토스, 셀룰로스, 카올린, 만니톨, 염화나트륨, 건조 전분, 분말 한천 등이 포함된다. 결합제는 정제 제제에 화합 성질을 부여하여 정제가 압축 후에도 고유 상태가 유지되도록 하는데 이용된다. 적절한 결합제 물질에는 전분 (옥수수 전분 및 호화 전분 포함), 젤라틴, 당 (수크로스, 글루코스, 텍스트로즈 및 락토스 포함), 폴리에틸렌 글리콜, 왁스 및 천연 및 합성 검 예를 들어, 아카시아 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스 폴리머 (하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 하이드록시에틸 셀룰로스 등 포함), 및 Veegum이 포함되나, 이들로 제한되지는 않는다. 윤활제는 정제 제조를 용이하게 하기 위해 이용되며, 적절한 윤활제의 예로는 예를 들어서 스테아르산마그네슘, 스테아르산칼슘 및 스테아르산이 포함되며, 전형적으로 전체 정제 중량에 대해 약 1 중량%를 넘지 않는다. 붕해제는 투여후 정제의 붕해 또는 “분열 (breakup)”을 용이하게 하기 위해 이용되며, 일반적으로 전분, 클레이, 셀룰로스, 알긴, 검 또는 가교화 폴리머이다. 필요에 따라, 투여되는 약학 조성물은 또한 습윤 또는 유화제, pH 완충제 등, 예를 들어, 소듐 아세테이트, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 소듐 아세테이트, 트리에탄올아민 올레이트 등과 같은 비-독성 보조 물질을 소량 포함할 수 있다. 필요에 따라, 향미제, 착색제 및/또는 감미제도 또한 첨가될 수 있다. 경구 제제에 포함될 수 있는 기타 임의적 성분으로는 보존제, 현탁제, 농후제 등이 포함되나 이들로 제한되지 않는다. 충전제로는 예를 들면, 이산화실리콘, 산화티탄, 알루미늄, 활석, 카올린, 분말화된 셀룰로스, 미정질 셀룰로스 등과 같은 불용성 물질뿐만 아니라 만니톨, 우레아, 수크로스, 락토스, 텍스트로즈, 염화나트륨 등이 포함된다.

[0112] 약학 조성물은 또한 미국 특허 4,301,146호에 기술된 것과 같은 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 또는 폴리비닐피롤리돈 등의 안정화제도 포함할 수 있다. 기타 안정화제에는 셀룰로스 폴리머 예를 들어, 하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시에틸 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 셀룰로스 아세테이트 트리멜리테이트, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 프탈레이트, 미정질 셀룰로스 및 카복시메틸셀룰로스 나트륨; 및 비닐 폴리머 및 코폴리머, 예컨대 폴리비닐 아세테이트, 폴리비닐아세

테이트 프탈레이트, 비닐아세테이트 크로톤산 코폴리머, 및 에틸렌-비닐 아세테이트 코폴리머가 포함되나 이들로 제한되지는 않는다. 안정화제는 원하는 안정화 효과를 제공하는데 효과적인 양으로 존재한다; 일반적으로 안정화제에 대한 시스테아민 산물의 비는 적어도 약 1:500 w/w, 좀더 일반적으로 약 1:99 w/w의 비를 의미한다.

[0113] 정제는 시스테아민 산물을 우선 장용 코팅하여 만들 수 있다. 일 실시양태에 있어서, 본원에서 정제의 형성 방법은 장용 코팅된 시스테아민 산물을 임의로 희석제, 결합제, 윤활제, 붕해제, 착색제, 안정화제 등과 조합하여 포함하는 분말을 직접 압축하는 것이다. 여러 실시양태에 있어서, 정제는 부형제를 시스테아민 산물과 블렌딩하고, 정제와 장용 코팅을 압축하여 제조된다. 직접 압축의 대안으로, 습식-과립화, 건식-과립화 또는 롤러 압축 공정을 이용하여 압축 정제가 제조될 수 있다. 정제는 또한 적합한 수용성 윤활제를 포함하는 습윤 물질로 출발하여 압축이 아닌 성형처리될 수 있다.

[0114] 대안적인 실시양태에서, 장용 코팅된 시스테아민 산물을 과립화시키고, 과립을 정제로 압축하거나 또는 캡슐 안에 채워 넣는다. 캡슐 물질은 경질 또는 연질일 수 있으며, 전형적으로 젤라틴 밴드 등으로 밀봉된다. 경구용 정제 및 캡슐은 일반적으로 본원에 논의된 바와 같은 하나 이상의 통상적으로 사용되는 부형제를 포함한다. 여러 실시양태에서, 캡슐은 비밀봉 캡슐이다.

[0115] 장용 코팅된 시스테아민 산물을 포함하는 제형, 즉 정제 또는 캡슐 투여를 위해, 약 100 mg 내지 1000 mg 범위의 총 중량이 이용된다. 제형은 허혈 질환 및 장애 (예를 들어, 겸상 적혈구 질환, 급성 허혈성 사건, 뇌졸중, 심장마비 등)를 포함하나 이들에 한정되지 않는, 시스테아민 산물이 전형적으로 나타내는 증상으로 고통받는 환자에 경구적으로 투여된다.

[0116] 본 발명의 시스테아민 산물 조성물은 이상 아디포넥틴 수준 또는 비율과 관련된 허혈성 사건 또는 질환 및 장애를 치료하는데 유용한 다른 치료제와 조합으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 시스테아민은 혈전용해제, 자유-라디칼 스캐빈저, 스핀 트랩제 등과의 조합으로 정맥내로 투여될 수 있다.

[0117] 작용 메커니즘이 다른 2 이상의 약물을 조합하면 화합물에 대한 치료용량범위(therapeutic window)를 증가시키거나, 또는 경우에 따라 부작용을 감소시킴으로써 추가적인 혜택을 제공하거나, 부가 또는 상승적 효과를 통해 최대 허혈성 손상 보호를 제공할 수 있다. 허혈 캐스케이드의 활성화 결과를 감소시키는 것이 필요하지만, 혈전용해제는 재소통을 발생하기 때문에 가치있는 약제이다. 이는 뇌졸중이 혈전 또는 색전증의 결과인 경우 허혈 조직의 재관류를 가능하게 할 뿐만 아니라, 약물 및 영양소를 포함한 소분자의 경색 조직의 반암부로의 개선된 접근도 제공한다.

[0118] 본 발명의 방법 및 조성물은 시스테아민 산물 외에, (1) 산화방지제; (2) 혈전용해제, (3) NMDA 수용체 길항제 및 (4) 스핀 트랩제; 또는 (5) 전술한 것의 임의의 조합을 포함한다.

[0119] 산화방지제는 니트론 (STAZN), 폴리페놀, 플라보놀 (예를 들어, 바이칼레인) 및 페닐프로파노이드 (클로로젠산 및 피세틴)를 포함할 수 있으나, 이에 한정되지는 않으며, 신경보호제로서 및 뇌졸중에 의한 허혈성 손상을 치료하기 위해 본 발명의 방법 및 조성물에 유용하다. 여러 실시양태에 있어서, 그의 시스테아민 산물과 조합된 산화방지제에서 N-아세틸시스테인은 제외된다.

[0120] 다양한 혈전용해제가 또한 당업계에 공지되었으며 (예를 들어, 테넥테플라제) 및/또는 스핀 트랩제 (예를 들어, NXY-059)와의 조합물이 본 발명의 방법 및 조성물에 유용하다. 임의의 수의 혈전용해제가 본 발명의 방법 및 조성물에 사용될 수 있다. 본 발명의 방법 및 조성물에 사용될 수 있는 혈전용해제의 예로는 알테플라제, 테넥테플라제, 레테플라제, 스트렙타제, 엠보키나제, 파미테플라제, 네이트플라제, 데스모테플라제, 듀테플라제, 몬테플라제, 레테플라제, 라노테플라제, 및 ProlyseTM 이 포함한다. 기타 혈전용해제로는, 예를 들어, 마이크로플라스민, Bat-tPA, BB-10153 (트롬빈에 의해 플라스미노로 활성화된 인간 플라스미노겐의 공학적 형태) 및 흡혈박쥐 타액 플라스미노겐 활성화 인자 (DSPA) (예를 들어, DSPAa1)를 들 수 있다.

[0121] 페놀산은 예를 들어, 카페인산, 바닐린, 및 쿠마린산을 포함한다. 페놀산은 광범위하게 분포된 하이드록시벤조산 및 하이드록시신남산을 포함하는 다양한 그룹을 형성한다. 하이드록시신남산 화합물 (p-쿠마린산, 카페인산, 페룰산)은 글루코스 또는 하이드록시 카복실산과의 단순 에스테르로서 가방 빈번하게 발견되는 반면, 하이드록시벤조산 화합물 (p-하이드록시벤조산, 갈산, 엘라그산)은 주로 글루코사이드 형태로 존재한다. 종종 페놀산은 플라보노이드, 알콜, 하이드록시지방산, 스테롤 및 글루코사이드와 접합된 에스테르 또는 글리코사이드로서 발생된다.

[0122] NXY-059와 같은 니트론-기반 스핀 트랩제 및 혈전용해제, 예컨대 테넥테플라제는 현재 가장 유망한 약물 후보의

2중이기 때문에, 급성 허혈성 뇌졸중 (AIS) 치료용으로 개발 중에 있다.

- [0123] 니트록사이드 및 니트론과 같은 스핀 트랩제는 생물학적 전령체인 산화질소의 안정화된 형태이다. 다른 산화방지제와 달리, 스핀 트랩제는 과산화제로 작용하지 않을 뿐만 아니라, 자유 라디칼 연쇄 반응을 전개하지 않는다. 유사하게, 이들 제제는 퍼옥시니트라이트를 생성하는 과산화물과 산화질소의 반응을 억제한다. 따라서, 스핀 트랩제 및, 파킨슨병, 뇌졸중, 허혈성 손상, 심장마비, 및 연령관련 치매와 같은 질환 및 장애를 위해 현재 개발 또는 사용 중에 있는 치료제와의 병용 치료가 본 발명에 포함된다.
- [0124] 니트론 및 니트로소 스핀 트랩 화합물은 상업적으로 입수가능하다. 예시적인 니트론 및 니트로소 스핀 트랩 화합물은 디소듐 2,4-디설포페닐-N-tert-부틸니트론 (NXY-059), N-t-부틸- α -페닐니트론, 3,5-디브로모-4-니트로소벤젠설포산, 5,5-디메틸-1-피롤린 N-옥사이드, 2-메틸-2-니트로소프로판, 니트로소디설포산, α -(4-피리딜-1-옥사이드)-N-t-부틸니트론, 3,3,5,5-테트라메틸피롤린 N-옥사이드, 2,4,6-트리-t-부틸니트로소벤젠, PTIYO (4-페닐-2,2,5,5-테트라메틸이미다졸린-1-일옥시-5-옥사이드) 및 템폴 (4-하이드록시 2,2,6,6-테트라메틸피페리딘-1-옥실) 등을 포함한다.
- [0125] 본 발명의 다른 측면으로, 혈전용해제와 조합시 행동 이행을 향상시키는 NMDA (N-메틸-D-아스파테이트) 수용체 길항제를 포함하는 방법 및 제제가 제공된다. NMDA 수용체 길항제의 예는 3-알파-올-5-베타-프레그난-20-온 헤미숙시네이트, 케타민, 메만틴, 텍스트로메토판, 텍스트로판, 및 텍스트로메토판 하이드로브로마이드를 포함한다. NR2B 선택적 NMDA 길항 활성을 가지는 페놀 또는 페놀 증가물로 치환된 피페리딘 유도체 및 유사체는 국제 특허 출원 WO 90/14087호, WO 90/14088호, WO 97/23202호, WO 97/23214호, WO 97/23215호, WO 97/23216호, WO 97/23458호, WO 99/21539호, WO 00/25109호, 유럽 특허 출원 EP 648744 A1호 및 미국 특허 5,436,255호에 기술되어 있다. 동일한 생물학적 활성을 가지는 2-벤즈사졸린은 하부 구조 함유 화합물이 국제 특허 출원 WO 98/18793호 및 WO 00/00197호에 기술되어 있다. 융합 헤테로사이클릭 구조를 가지는 다른 NR2B 선택적 NMDA 길항제가 국제 특허 출원 WO 01/30330호, WO 01/32171호, WO 01/32174호, WO 01/32177호, WO 01/32179호, WO 01/32615호, WO 01/32634호에 기술되어 있다.
- [0126] 시스테아민 산물을 단독으로 또는 하나 이상의 추가의 약제와 조합하여 포함하는 특정 치료제의 효과를 알아보기 위한 검정이 감시를 위한 행동 중점을 제공하고 화합물(들)의 효능 비교가 가능한 색전증 뇌졸중 모델에서 수행될 수 있다. 행동 중점이 감시될 수 있을 뿐만 아니라 중점 및 병적 측면을 측정하기 위한 조직화학적 기술도 이용될 수 있다.
- [0127] 아디포넥틴 수준 및/또는 다양한 아디포넥틴 멀티머의 비를 측정함으로써 본 발명의 방법 또는 조성물의 효과가 또한 평가될 수 있다. 또한, 효과는 허혈성 손상에 의한 조직 손상의 지표인 임상적 관찰, 진단법 등으로 평가될 수도 있다. 용량 조정 및 치료는 예를 들어, 아디포넥틴 수준 이탈 또는 이상과 관련된 허혈성 사건 또는 질환 또는 장애의 중증성에 따라, 전문의가 행할 수 있다.
- [0128] 수 개의 허혈성 손상 동물 모델을 이용하여 본 발명의 치료 효능을 평가할 수 있다. 예를 들어, 엔도텔린-1은 허혈성 뇌졸중중에 내인적으로 생성되고 세포의 전체 손실 및 장애에 연루되는 강력한 혈관수축제이다. 재관류로 지속적인 혈관수축 후 뇌졸중 및 세포사 유도를 위해 외인성 엔도텔린-1이 또한 사용될 수 있다. 이는 중뇌 동맥 근처에 주사 후 또는 소 조직 용적 (예를 들어, 외피 회색 물질, 백색 물질 또는 피질하부 조직)에서 초점 뇌졸중을 유도하기 위해 미량 주사될 수 있다. 이는 친재현성 (pro-regenerative) 치료제 후보를 평가하기 위해서 종종 초점 뇌졸중의 모델로 사용된다. 이 뇌졸중 모델의 한가지 장점은 매우 낮은 사망률로 고도의 재현성이 있는 경색을 일으킨다는 점이다.
- [0129] 다른 모델에서, 혈전 (혈전색전증 MCAO) 등의 입자 또는 인공 구체를 허혈성 뇌졸중의 동물 모델로서 동물의 경동맥에 주입하여 중뇌 동맥 (MCA) 폐색을 일으켰다. 시험관내에서 형성된 응결을 주사하거나, 동소(in situ) 응고를 위해 트롬빈을 혈관내에 서서히 주입하여 혈전색전증 MCAO를 이루었다. 혈전색전증 모델은 인간의 심장 색전증 뇌졸중의 병리생리학과 가장 가깝다. 뇌 순환에 구체를 주사하는 경우, 그 크기가 뇌 경색의 패턴을 결정한다: 매크로구체 (300 - 400 μ m)는 근위 MCA의 폐색으로 이뤄지는 것과 유사한 경색을 유발하는 반면, 마이크로구체 (~ 50 μ m) 주사에 의해서는 원위 확산성 색전증이 유발된다. 그러나, MCAO의 질 - 및 따라서 뇌 경색 용적은 매우 가변적이며, 주사된 혈전의 자연 용해의 특정 속도에 의해 가중되는 것이 사실이다.
- [0130] 허혈성 뇌졸중의 다른 동물 모델에서는 MCA를 외과적으로 절개하고, 예를 들어, 전기소작기 또는 결찰에 의해 영구 폐색시킨다. 폐색은 MCA의 근위 또는 원위부에서 행해질 수 있다. 후자는, 허혈성 손상을 뇌 피질로 제한한다. MCAO는 일시적 또는 영구적인 일반적 경동맥 폐색과 조합될 수 있다. 이들 모델은 소개두가 필요하다.

- [0131] 일시적 경두개 MCAO 모델이 사용될 수 있으며, 영구 경두개 MCAO의 것과 유사한데, 여기서는 정해진 초점 뇌 허혈 기간 후 MCA가 재관류된다. 영구 MCAO와 마찬가지로, 개두가 필요하고, 일반 경동맥 (CCA) 폐색이 조합될 수 있다. 하나의 MCA 및 양 CCA의 폐색은 초점 뇌 허혈의 세 혈관 폐색 모델로서 불린다.
- [0132] 허혈성 손상의 유도 전, 그 동안 또는 그 후에 치료제를 투여함으로써 시스테아민 산물이 임의의 전술한 동물 모델에서의 그의 사용을 위해 분석될 수 있다. 치료제 효과는 시스테아민 산물을 투여받지 않은 대조군과 비교한 조직학 또는 행동 결손으로 측정될 수 있다.
- [0133] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법은 지방세포를 단리하고, 지방세포를 시스테아민 산물의 존재 또는 부재 하에 배양하여 검정될 수 있다. 시스테아민 산물은 다양한 용량으로 지방세포와 접촉될 수 있다. 효과는 세포 배양시 아디포넥틴 수준 또는 멀티머의 변화를 측정하여 검정될 수 있으며, 여기서 아디포넥틴 증가 또는 아디포넥틴 멀티머의 비율 변화는 약제가 아디포넥틴 수준에 효과가 있음을 보여주는 것이다.
- [0134] 하기 실시예는 본 발명을 더욱 상세히 설명하기 위한 것이며, 전술한 발명 및 특허청구범위를 제한하고자 하지 않는다.
- [0135] **실시예**
- [0136] 시스테아민 바이타르트레이트 (Mylan Pharma,VA) 캡슐은 The Coating Place Inc. (Verona, WI)에 의해 모델 600 Wurster 장치를 사용하여 장용 코팅되었다.
- [0137] **실시예 1**
- [0138] 지방 생검 지방 조직 (AT) 샘플을 37°C에서 1시간 동안 회전 수조에서 콜라게나제 소화시켰다. 이어, 소화된 AT를 425 μ m 나일론 메쉬를 통해 여과하여 지방 세포를 분리하였다. 분리된 지방 세포 (FC)를 생리 식염 완충제 (Phillips 2008)로 2회 세척하고, 여과한 후, 다시 2회 세척하였다. FC를 50xg으로 회전시켜 농축하였다. 1 ml FC를 9 ml의 한정 배양 배지 (Phillips 2008)에 재현탁시키고, FC를 37°C에서 10시간 밤새 회수하였다.
- [0139] 지방세포를 단리하고, 밤새 회수한 후, 90 μ M 시스테아민의 존재 또는 부재 하에 배양하고, (45, 90, 180, 24 시간)의 시점에 배지를 수집하였다. 20 μ L 배지의 웨스턴 블롯 분석을 비-환원 5X 로딩 완충제로 수행하였다. 블롯, 블롯킹하고, 일차 항체 (밤새 1:500 항-아디포넥틴 마우스 모노클로날)와 인큐베이션시켰다. 블롯을 세척하고, 이차 항체 (염소-항-마우스 IR 800)와 인큐베이션시킨 후, LICOR 덴시토미터에서 밀도계측을 수행하였다 (도 1 참조).
- [0140] 아디포넥틴에 대한 시스테아민 효과의 경시 변화를 알아보기 위하여 배지를 교환하고, FC를 9 ml의 한정 배지 $\pm$ 90 μ M 시스테아민에 재현탁시켰다. FC 함량 및 배지로의 아디포넥틴 분비를 0, 45, 90, 180분 및 24시간에 중복 배양으로 분석하였다. FC 함량 분석을 위해, 단리된 FC를 알려진 바와 같이 추출하였다 (Phillips, 2008). 단백질을 비-환원, 비-열 변성 SDS PAGE 전기영동법으로 분리하고, 1:500 일차 모노클로날 항-아디포넥틴 항체 (BD Transduction Laboratories) 및 1:20,000 LiCOR Odyssey 이차 항체를 사용한 면역블롯팅을 위해 니트로셀룰로스로 옮겼다. LiCOR Odyssey 기기 (LiCOR, Lincoln, NE)를 이용하여 신호 검출 및 정량적 분석을 마쳤다. 멀티머에 대한 AU를 샘플당 총 AU로 나누어 세포 아디포넥틴의 멀티머 함량을 결정하였다. 조정 배지의 멀티머 함량을 세포 함량에 대해 결정하고, 이 퍼센트를 ELISA (Millipore Billerica, Massachusetts)에 의해 측정된 배지내 총 아디포넥틴과 곱하였다.
- [0141] **실시예 2**
- [0142] 생검에 의해 NAFLD로 확정 진단되고 알려진 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 수준이 $\geq$ 60 IU/L인 11명의 10세 이상 어린이가 참여하였다. 이들은 새로이 진단을 받았거나, 연구 참여 전 적어도 3개월 동안 비타민 E 또는 인슐린-감작 약물과 같은 NAFLD용 특정 치료제를 투여받지 않았다. 모두 3개월 이상 식사 및 운동을 비롯한 케어 생활방식 (care lifestyle) 변화 표준을 따랐다. 연구의 일차 결과는 EC-시스테아민 치료의 24주에 정규화 ($\leq$ 40 IU/L) 또는 기본선 혈청 ALT의 $\geq$ 50% 감소로 측정되었다; 이들 대상체는 반응자로서 간주되었다.
- [0143] 대상체를 24주 동안 치료하고, 치료 중단 후 24주 간 관찰하였다. 섭취한 평균 EC-시스테아민 용량은 24주 동안 1일 2회 654 mg 또는 15.2 mg/kg/일 (중간 용량 900 mg)이었다.

- [0144] 준비 연구 동안 혈액을 미리 정해진 간격으로 수집하였다. 혈청을 분석 시까지 -80 °C에서 보관하였다. NAFLD에 걸린 11명의 대상체 중 10명 및 단지 치료 이후 16주 이하에서 충분한 혈청 부피를 얻을 수 있었다.
- [0145] 총 및 멀티머 아디포넥틴 수준을 다음과 같이 취한 혈청에서 측정하였다: (1) 시스테아민 치료 0 및 24주 및 치료 중단 후 16주 (즉, 40주)에 다시 수집된 NAFLD에 걸린 대상체; (2) 실온 및 37 °C에서 및 또한 시스테아민 90 μM와 1시간 동안 37°C에서 인큐베이션 후 예비-치료된 0-주의 NAFLD에 걸린 대상체 및 NAFLD에 걸리지 않은 성인; 및 (3) 용량-반응 프로파일을 확립하기 위해 시스테아민과 다양한 농도 (15, 30, 45, 60, 90, 120 μM)로 1시간 동안 37°C에서 배양하기 전 및 후, 예비-치료된 0-주의 NAFLD에 걸린 대상체.
- [0146] 소듐 도데실 설페이트 폴리아크릴아미드 겔 전기영동법 (SDS-PAGE)을 표준 램라이 (Laemmli) 방법에 따라 수행하였다. 비-환원, 비-열 변성 조건을 위한 샘플 완충제는 3% SDS; 50 mmol/l 트리스-HCL, pH 6.8 및 20% 글리세롤을 함유하였다. 트리스-아세테이트 실행 완충제로 3-8% 트리스-아세테이트 겔 (Invitrogen, Carlsbad CA)을 사용하여 제조업자의 지시사항에 따라 단백질을 분리하였다. 면역블롯팅을 위해, 단백질을 니트로셀룰로스 막으로 옮겼다. 막을 Tween (트리스-완충 염수, 0.1% Triton-X-100)로 세척하고, 모노클로날 항체 (1:500 BD Transduction Laboratories, San Diego, CA)와 인큐베이션시켰다. 0.1% Tween을 함유한 트리스-완충 염수로 세척한 후 (4 x 5 min), 막을 L-COR 이차 항체 (LI-COR Biotechnology, Lincoln NE)와 1:20,000으로 인큐베이션시켰다. 아디포넥틴 멀티머가 검출되었고, LICOR 영상 장치 및 소프트웨어 분석 프로그램을 이용하여 정량하였다. 밴드 밀도를 총 밀도 (세포 아디포넥틴) 또는 ELISA (Millipore, Billerica, MA)에 의해 측정된 총 아디포넥틴으로 나누어 아디포넥틴 멀티머의 상대 분포를 측정하였다. 이어, 아디포넥틴 멀티머 백분율에 총 아디포넥틴 수준을 곱해 절대 올리고머 값을 계산하였다.
- [0147] 다른 실험에서, 25 μL 총 샘플 부피 (5 μL 회석 혈청 + 15 μL 물 + 5 μL 5X LB)를 37°C에서 1시간 동안 시스테아민 존재 또는 부재 하에 배양하였다. 대조군을 시스테아민 없이 제조하고, 실온에서 1시간 동안 벤처에서 배양하였다. 이어 제조물을 2 x 15-웰 1.5 mm 3-8% 트리스-아세테이트 겔에서 실행시켰다. 일차 항체 - 마우스 항-아디포넥틴 1:500, 4°C에서 하룻밤 및 이차 항체 - 염소 항-마우스 IR800 1:20,000.
- [0148] 기본선 및 시스테아민으로 처리하고 24주 및 치료 중단 후 16주 (즉, 참여 40주 후)에 다시 10명의 대상체로부터 취한 혈청을 분석하였다. 10명의 대상체 중 7명이 반응자였다. 3명의 대상체는 AST/ALT 수준이 감소하였으나, 연구 종점에 이르지 못했다. 기본선과 비교하여, 24주 (P = .47) 또는 40주 (P = .43)에서 평균 BMI 측정에 유의적인 변화는 없었다. 모든 연구 대상체에서 24주 (55 IU/L, P = .003) 및 40주 (71 IU/L, P = .055)에서 평균 ALT가 기본선 (123 IU/L)으로부터 감소되었다. 24주 (32 IU/L, P = .001), 및 40주 (35 IU/L, P = .012)에서 평균 AST가 기본선 (60.9 IU/L)으로부터 감소되었다. 반응자의 경우, 평균 랩틴 수준은 각각 21.3, 15.7, 및 19.5 ng/mL이었으며, 0- 내지 24- 주 시점 사이에 유의적인 감소가 있었다 (P = .04) (도 2B).
- [0149] **건강한 대상체 - 1시간 90 μM 시스테아민.**
- [0150] HMW 수준은 기본선과 비교하여 변화가 없었다. NAFLD에 걸린 대상체와 유사하게, 기본선과 비교하여 LMW 수준의 평균 퍼센트 증가 (P < .005) 및 또한 MMW 수준의 평균 퍼센트 감소 (P < .01)가 검출되었다 (도 7). HMW, MMW, LMW 멀티머로 구성된 평균 총 아디포넥틴 수준 퍼센트는 시스테아민과 인큐베이션 후, 각각 42.9%, 46.0%, 및 11.1%에서 각각 42.7%, 39.3%, 및 18.0%로 변화되었다.
- [0151] 혈청 아디포넥틴 멀티머의 감소에 대한 시스테아민의 역치 용량을 측정하기 위해, 혈청을 수집하고, 다양한 농도의 시스테아민과 인큐베이션시켰다. 6 μl의 회석 GB 혈청을 24 μL 물 및 다양한 농도의 시스테아민과 인큐베이션시켰다. 샘플을 조직 배양 인큐베이터에서 37 °C에서 1시간 동안 인큐베이션시켰으며, 대조 튜브에는 시스테아민을 첨가하지 않았다. 각 튜브에 5 μL의 5×비-환원 로딩 완충제를 첨가하였다. 샘플을 와동하고, 3-8% 트리스-아세테이트 겔에 로딩하여 125 V 정전류에서 75분 동안 실행하였다. 겔을 옮기고, 블로킹하였다. 이어, 블롯을 3% BSA/TBS 중 항-아디포넥틴 항체 1:500과 밤새 인큐베이션시켰다. 블롯을 세척하고, 이차 항-마우스 항체와 1시간 동안 인큐베이션시켰다. LICOR 덴시토미터에서 밀도계측을 수행하였다. 결과를 정량하고, 도 8 내지 9에 나타내었다.
- [0152] **아디포넥틴 멀티머-24주 EC-시스테인.**
- [0153] 모든 대상체에서, 24주의 시스테아민 바이타르트레이트 치료 후, HMW, MMW, LMW, 및 총 아디포넥틴의 기본선으로부터 평균 퍼센트 증가는 각각 53% (P = .02), 19% (P = .02), 29.4% (P = .03), 및 49.3% (P = .05)이었다 (도 3 및 5). 24-주와 40-주 시점에 치료 종료 사이에서 HMW (P = .02), MMW (P = .01), LMW (P = .009), 및 총 아디포넥틴 (P = .01)에 유의적인 평균 퍼센트 감소가 있었다. 40-주 시점에, 모든 아디포넥틴 멀티머 수준

은 기본선의 2% 이내였다. 이는 평균 ALT 및 AST 수준에 대한 경향을 따르지 않았으며, 40주에 기본선 수준으로 돌아오지 않았다. 총 아디포넥틴 수준은 0 주에서 24주까지 49.3%로 증가하였으며 ($P = .05$), 24주에서 부터 40주에 기본선 수준으로 감소되었다 ($P = .01$). 24주의 시스테아민 치료 후 모든 멀티머 형태의 수준이 증가하였지만, 아디포넥틴 멀티머의 상대 비율은 HMW에 대해 유의적으로 증가되었고 (12.2%-14.9%, $P = .02$), MMW에 대해 감소되었으며 (73.7%-70.3%, $P = .03$), LMW에 대해서는 변화되지 않은 채로 남아 있었다 (14.1%-14.8%). 반응자인 NAFLD에 걸린 7명의 대상체의 경우, HMW, MMW, LMW, 및 총 아디포넥틴에 대한 평균 퍼센트 변화율은 24주에서 기본선으로부터 각각 87.7%, 13.7%, 33.9%, 및 57.5%로 증가되었다.

[0154] **아디포넥틴 멀티머-1시간 시스테아민.**

[0155] 실온 및 37°C에서 예비처리 아디포넥틴 멀티머 수준에 차이가 관찰되지 않았다 (도 4). 시스테아민과 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하였더니 예비처리에 비해 LMW 수준의 평균 퍼센트는 증가하였고 ($P < .0001$), 또한 MMW 수준의 평균 퍼센트는 감소되었다 ($P < .0001$). HMW 수준은 기본선과 비교하여 변화되지 않았다. HMW, MMW, 및 LMW 멀티머로 이루어진 총 아디포넥틴 수준의 평균 백분율은 시스테아민과 배양 후 각각 8.2%, 63.3%, 및 28.5%로부터 각각 8.6%, 54.7%, 및 36.7%로 변화되었다 (도 13 참조).

[0156] **용량 반응 프로파일.**

[0157] 혈청을 15, 30, 45, 및 60 μM 농도의 시스테아민에서 배양한 경우, HMW 수준은 기본선 보다 약 10% 증가되었다. MMW 수준은 모든 시스테아민 농도에서 기본선 보다 낮았다. 사용한 모든 농도에서 시스테아민으로 처리한 후 평균 LMW 수준은 기본선 보다 >60% 위로 증가되었다 (도 11). LMW의 가장 큰 증가 퍼센트인 77%는 120 μM 시스테아민 농도에서 달성되었으며, 동시에 HMW 및 MMW 수준은 기본선 아래로 감소되었다.

[0158] **실시예 3**

[0159] 상기 데이터는 시스테아민이 아디포넥틴 멀티머화에 다음 두가지 효과를 가짐을 보여준다: (1) 매일 치료 후 인간에게서 모든 아디포넥틴 멀티머 수준을 증가시키는 생체내 효과, 및 (2) 90 μM 시스테아민에 1시간 동안 노출된 인간 혈청에서 LMW 아디포넥틴이 신속하고 유의적으로 상승하는 시험관내 효과. 지금까지 순환 아디포넥틴 수준을 증가시키는 한정된 수의 약물만이 존재하고 있긴 하지만, 아디포넥틴의 멀티머 분포를 변경한 것은 없다.

[0160] 허혈/재관류 연구를 한 아디포넥틴 녹아웃 마우스에서의 선행 연구는 재조합 아디포넥틴을 투여받은 동물이 조직학적으로 심근 허혈성 손상이 덜하고, 또한 그의 심근 기능이 더 잘 유지되고 있음을 입증하였다. 재조합 아디포넥틴은 용이하게 이용가능하지 않다. 상기 데이터는 시스테아민이 NAFLD에 걸린 인간 및 또한 건강한 성인 대조군으로부터 취한 혈청에서 혈청 LMW 아디포넥틴 수준을 신속히 증가시킴을 보여준다. 또한, 시스테아민은 강력한 산화방지제인 것으로 알려져 있으며, 또한 글루타티온을 유도하고, 반응성 산소 종을 제거하고, 방사선-보호성 뿐만 아니라 조직 트랜스글루타미나제 활성을 억제하는 것으로 드러났다.

[0161] 허혈성 손상 및 시스테아민 치료를 분석하기 위하여, 시스테아민 바이타르트레이트로 예비처리되거나 나이브(naive)인 마우스 (C57BL/6-수컷-12주령, 25 g)에서 연구를 다음과 같이 수행하였다.

[0162] LAD 동맥 결찰 수술 2시간 전에, 예비처리한 동물에 시스테아민을 60 mg/kg으로 2회 (120 mg/kg/일) 복강내 투여하였다. 60분의 결찰 시간 후, 차단을 제거하고, 다른 용량의 시스테아민을 재관류를 받은 즉시 및 또한 재관류 후 4일 동안 1일 2회 주사로 투여하였다. 대조군에는 시스테아민 대신 동일 부피의 대조 IV 용액을 투여하였다. 염증 및 혈장 시스테아민 대리 마커의 수준을 측정하기 위해, 허혈 부피의 혈액을 기본선 및 허혈성 손상 후 미리 정한 시점에 수집하였다. IR 직후, 및 IR 3일 후 동물에서 심장초음파검사/혈류역학 조사를 시행하였다. 희생시키기 전에, LAD를 채폐색시키고, 비-허혈 영역을 기술하기 위해 에반스 블루 (Evan's Blue)를 JVC를 통해 주사하였다. 심근 조직을 2,3,5-트리페닐테트라졸륨 클로라이드 (대사 활성 및 불활성 또는 경색 조직 구분), H&E 및 또한 TUNEL 염색하였다. 심장초음파검사는 심실 부피 데이터 및 벽 기능을 제공하였다. 혈류역학 조사는 수축 데이터 (특히 심장 수축 데이터)를 제공하였다.

[0163] 지금까지 7마리의 마우스가 조사되었다. 4마리에게는 대조 용액을, 3마리에게는 시스테아민을 투여하였다. 대조 마우스는 평균 초기 체중이 25.8 g (25 내지 27 g 범위)이고, 말기 체중이 22.5 g (21 내지 24 g)이었다. 13% 감소가 있었다. 동물은 개흉 후 무기력하였으며, 먹이를 잘 먹지 않았다.

[0164] 시스테아민 마우스는 평균 초기 체중이 21.3 g (21 내지 22 g 범위)이고, 말기 체중이 18.3 g (18 내지 19 g)이

었다. 14% 감소가 있었다. 동물은 개흉 후 무기력하였으며, 먹이를 잘 먹지 않았다.

[0165] 수술 후 동물에게 피하 염수 볼러스를 규칙적으로 투여하였으나, 혈류역학/에코 연구 시간에 부분 탈수가 있을 수 있다. 그러나, 양 군은 유사하게 영향을 받았다. 탈수는 부피 및 기능을 감소시킴으로써 혈류역학/에코 연구에 영향을 미칠 수 있다.

[0166] **허혈성 손상.**

[0167] 시스테아민과 대조군 사이에서는 위험 영역 (AAR)에 대한 경색 영역 (IA) (즉, IA/AAR) ($p=0.004$) 및 IA/LV (좌심실) ($p=0.008$) 비에 유의적인 감소가 있었다. 허혈성 손상의 상대량은 대조군에 대해 시스테아민 처리군이 거의 절반 정도였다 (예를 들어 도 14A-B; 표 A-B의 원 데이터 참조).

[0168] 표 A:

	LV 영역	AAR	IA	AAR/LV (대조군) (%)	IA/AAR (대조군) (%)	IA/LV (대조군) (%)
RD21	110.80	27.32	18.61	24.65	68.13	16.80
RD22	85.61	25.75	15.32	30.08	59.48	17.89
RD24	90.99	27.27	14.19	29.97	52.05	15.60
RD26	79.94	29.71	16.23	37.26	54.61	20.35
평균	91.84	27.51	16.09	30.49%	58.57%	17.66%
SD	13.42	1.636	1.877	5.176	7.081	2.023

[0169] 아세테이트/아스코르브산을 투여받은 4 대조군 마우스에 대한 원 데이터

[0170] LV = 좌심실

[0171] AAR = 위험 영역

[0172] IA = 허혈 영역

[0173] 표 B:

	LV 영역	AAR	IA	AAR/LV (시스테아민) (%)	IA/AAR (시스테아민) (%)	IA/LV (시스테아민) (%)
RD27	73.99	24.64	9.37	33.31	38.02	12.66
RD28	178.34	32.02	11.14	17.95	34.78	6.24
RD29	63.25	12.84	3.46	20.31	26.92	5.47
평균	105.2	23.17	7.99	23.86%	33.24%	8.12%
SD	63.57	9.675	4.022	8.271	5.708	3.948

[0174] 아세테이트/아스코르브산과 혼합된 시스테아민을 투여받은 3 대조군 마우스에 대한 원 데이터

[0175] LV = 좌심실

[0176] AAR = 위험 영역

[0177] IA = 허혈 영역

[0178] IA/AAR 및 IA/LV 백분율은 대조군에 대해 시스테아민 처리군이 거의 절반 정도였다

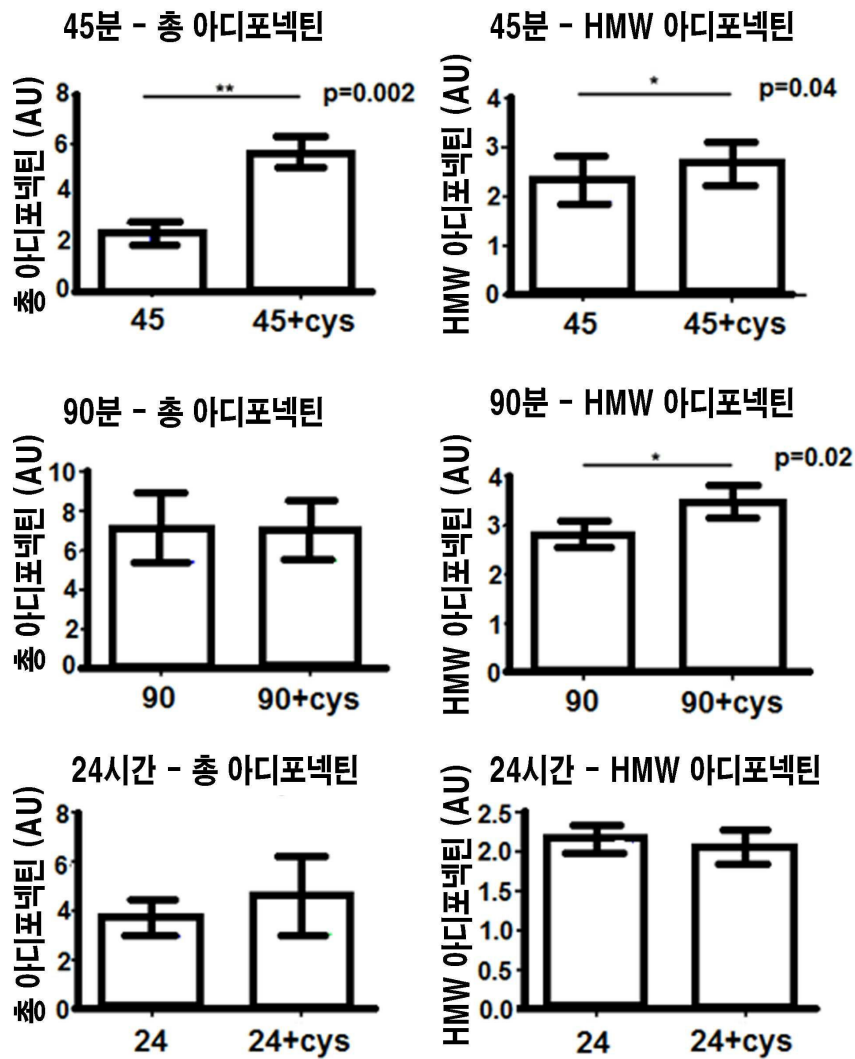
[0179] **확장 말기 부피 (EDV).**

[0180] MI 후 EDV의 증가는 허혈성 손상으로 인한 심실 확장을 제시한다. 간격 감소 (24 내지 72시간)가 바람직할 수 있다. 대조군에서 24시간 및 72시간에서 측정된 평균 EDV 간에 유의 차는 없었다 ($p=0.59$). 그러나, 시스테아민 군에서 24시간 및 72시간에서 측정된 평균 EDV 간에는 유의 차가 있었다 ($p=0.032$) (예를 들어, 도 15A-B 참조).

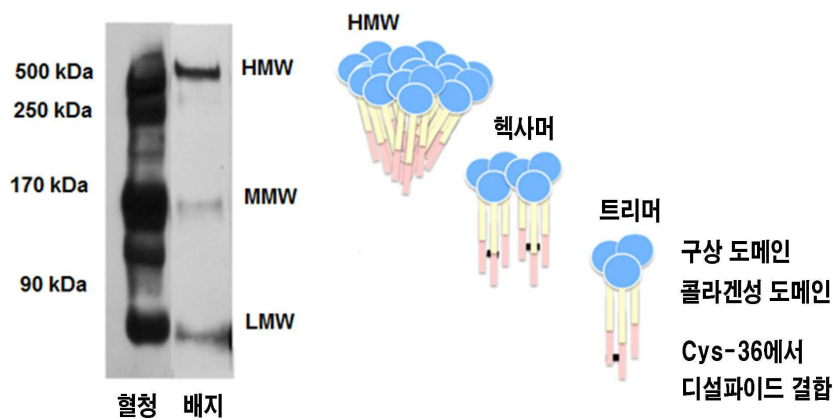
- [0183] **EDV 백분율 변화.**
- [0184] 두 군에서의 EDV를 비교하기 위해, 각각의 두 군에 대해 24시간 시점으로부터 실제 심실 부피 (μL)에서의 백분율 변화를 계산하였다. 시스테아민 처리 군은 72시간 시점에 대조군에 비해 EDV에서의 백분율 감소가 (24시간에 비해) 상당히 더 컸다 ($p=0.04$) (도 16 참조).
- [0185] **수축기말 부피 (ESV).**
- [0186] MI 후 ESV의 증가는 심실 수축성 감소를 제시한다. 대조군 ($p=0.01$) 및 시스테아민 군 ($p=0.025$) 에서 24시간 및 72시간에서 측정된 평균 ESV 간에 유의 차가 있었다 (예를 들어, 도 17A-B 참조).
- [0187] **ESV 백분율 변화.**
- [0188] 두 군에서의 ESV를 비교하기 위해, 각각의 두 군에 대해 24시간 시점으로부터 실제 심실 부피에서의 백분율 변화를 비교하였다. 시스테아민 처리 군은 72시간 시점에 대조군과 비교해 ESV에서의 백분율 감소가 상당히 더 컸다 ($p=0.039$) (예를 들어, 도 18 참조).
- [0189] 상술된 실시예는 당업자들에게 본 발명의 방법, 처리 및 조성물의 실시양태를 어떻게 만들고 사용하는지를 제시하기 위해 제공되는 것이며, 본 발명자들이 그의 발명으로서 고려하는 것의 영역을 제한하려는 것이 아니다. 당업자들에게 자명한 본 발명을 실시하기 위한 상술된 방법의 변형은 하기 청구범위의 범주내에 속하는 것으로 의도된다. 본원 명세서에 언급된 모든 특허 및 문헌들은 본 발명과 관련된 당업자들의 기술 수준을 가리킨다. 본원 명세서에 언급된 모든 참조문헌은 각 참조문헌들이 그의 전체가 참고로 인용되고 있는 것처럼 동일한 정도로 참고로 인용된다.

도면

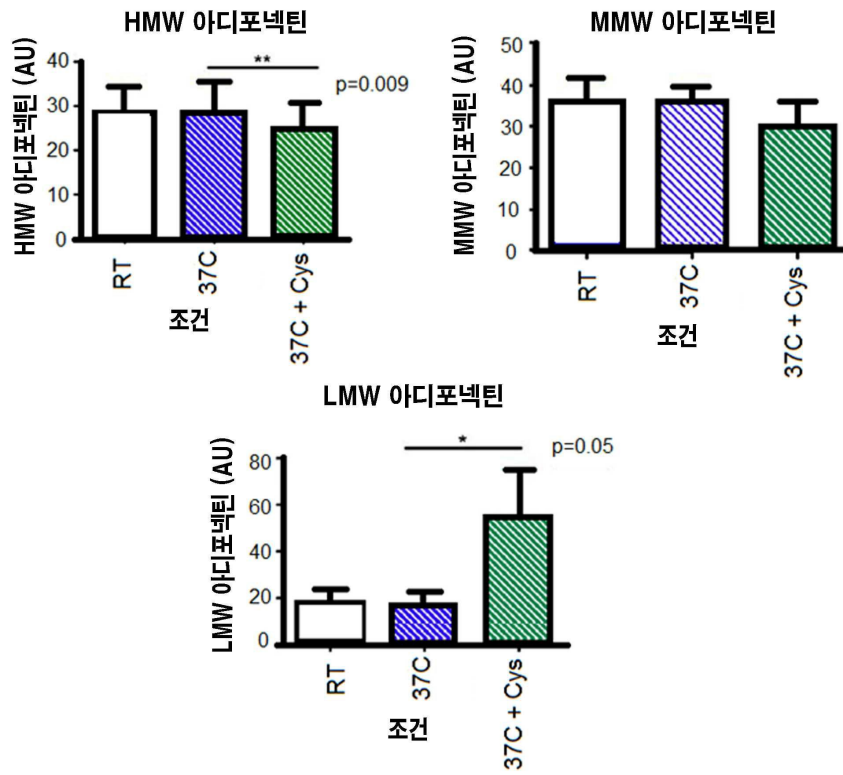
도면1



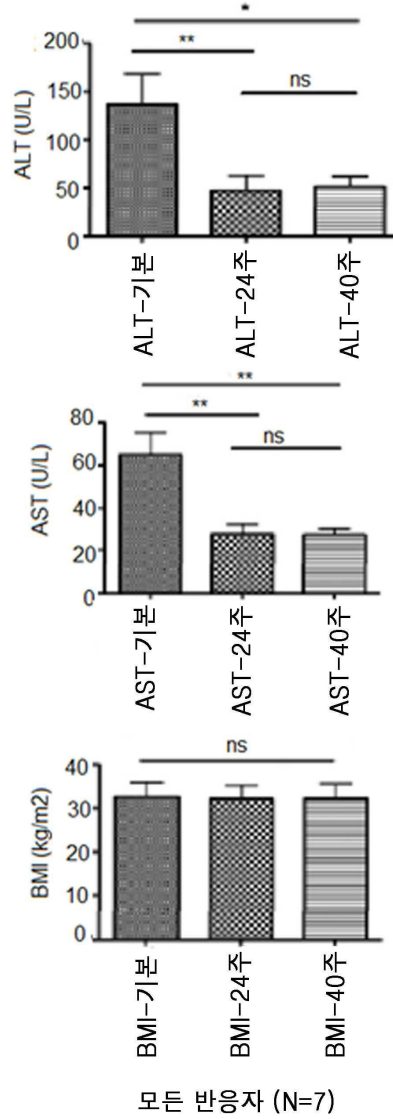
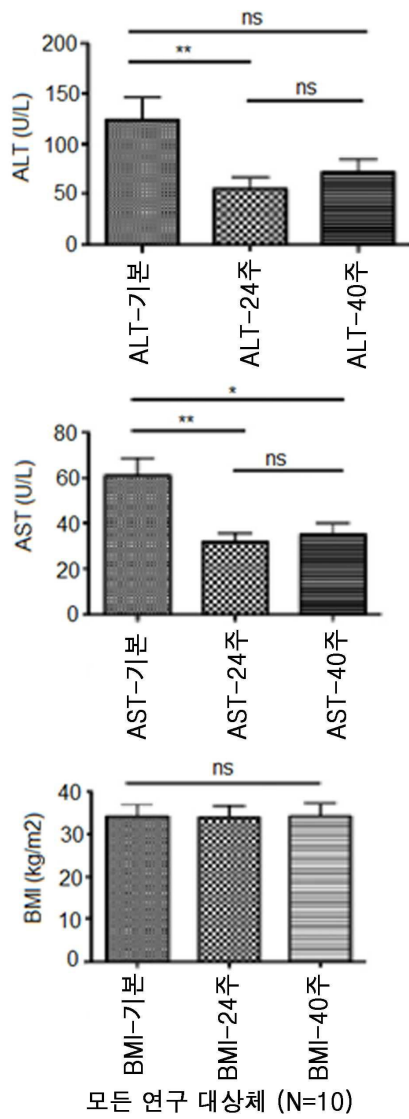
도면2a



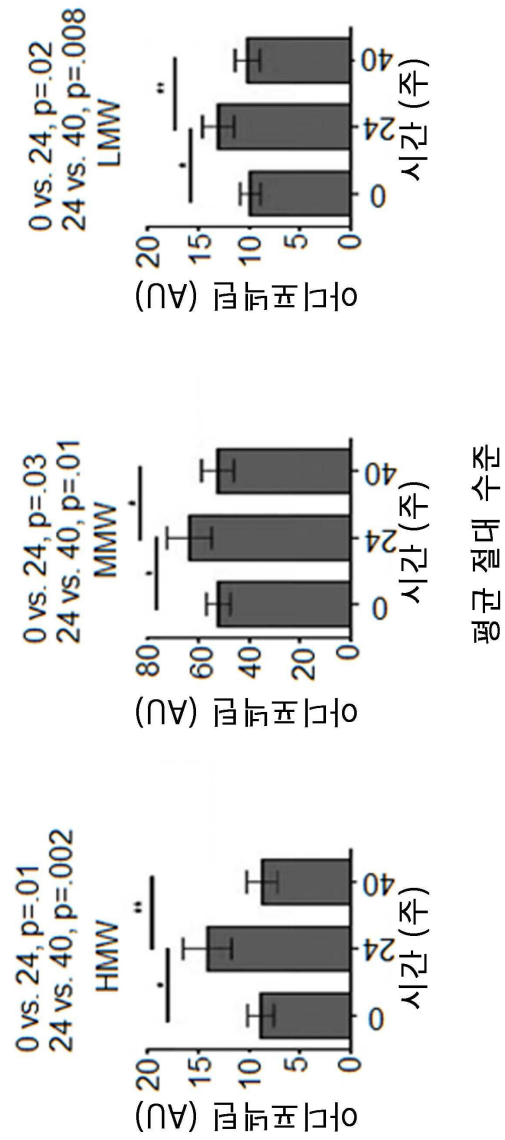
도면2b



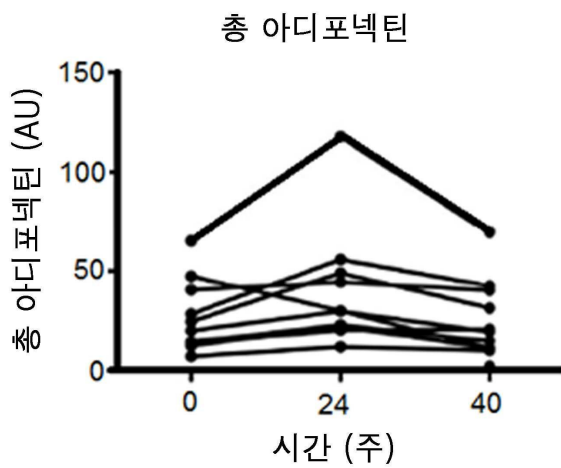
도면2c



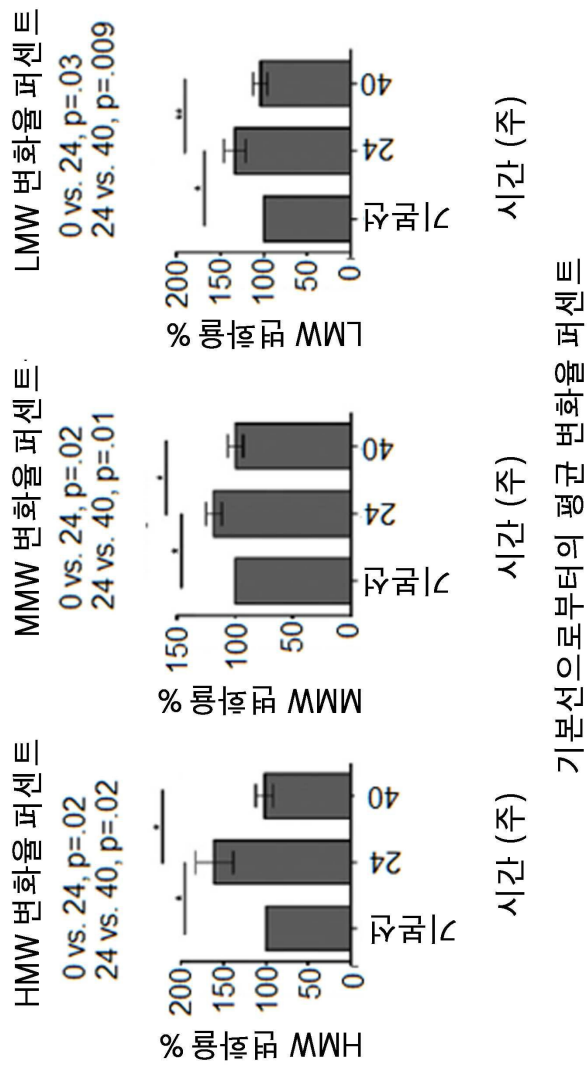
도면3



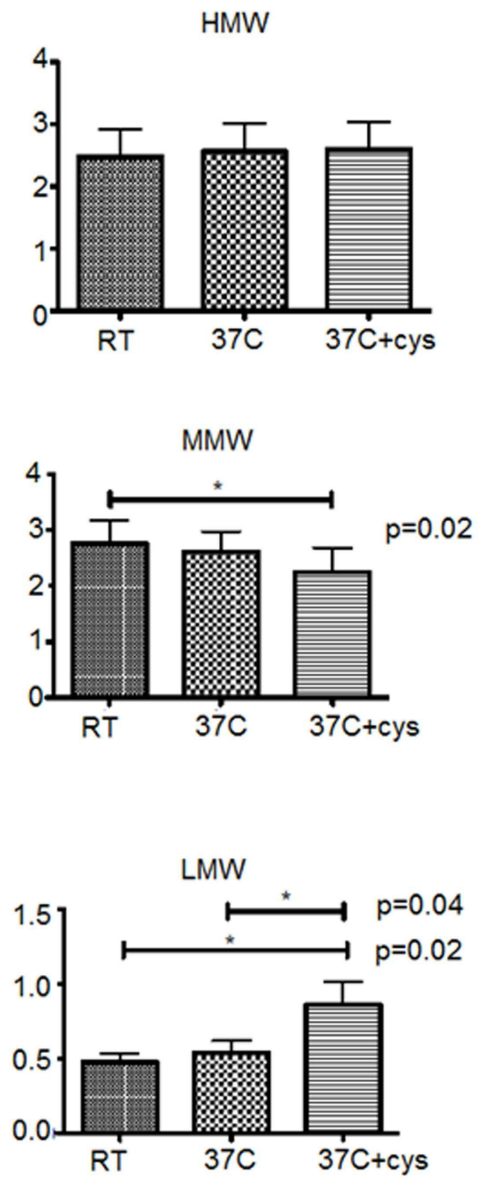
도면4



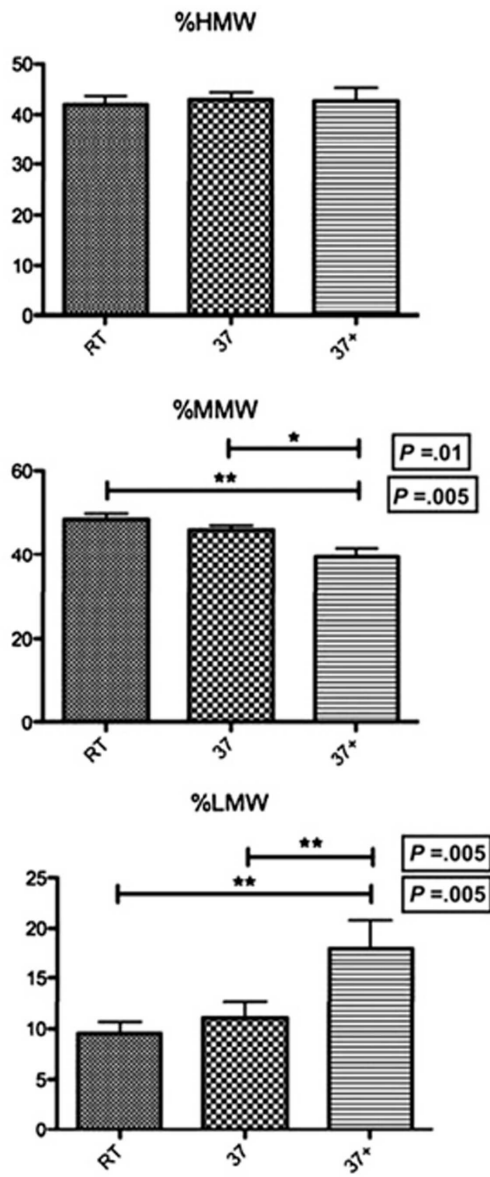
도면5



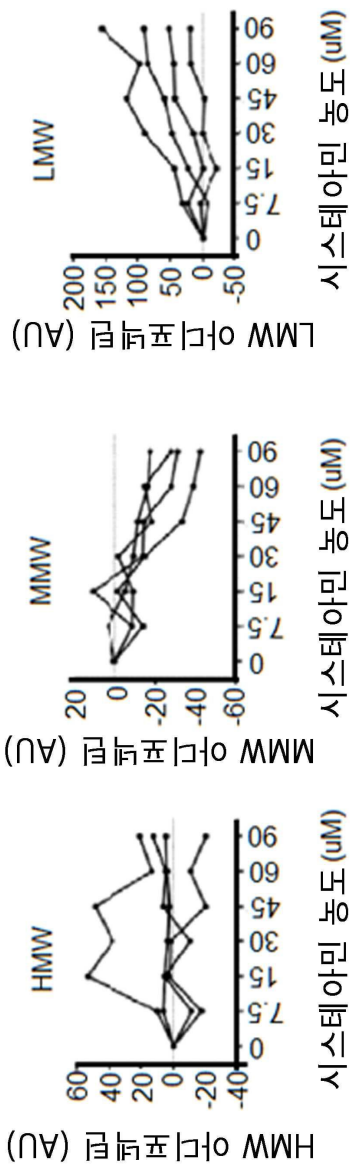
도면6



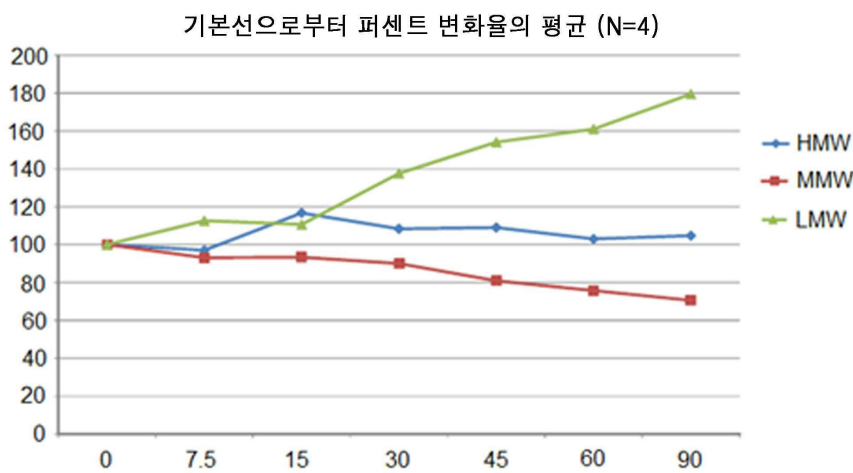
도면7



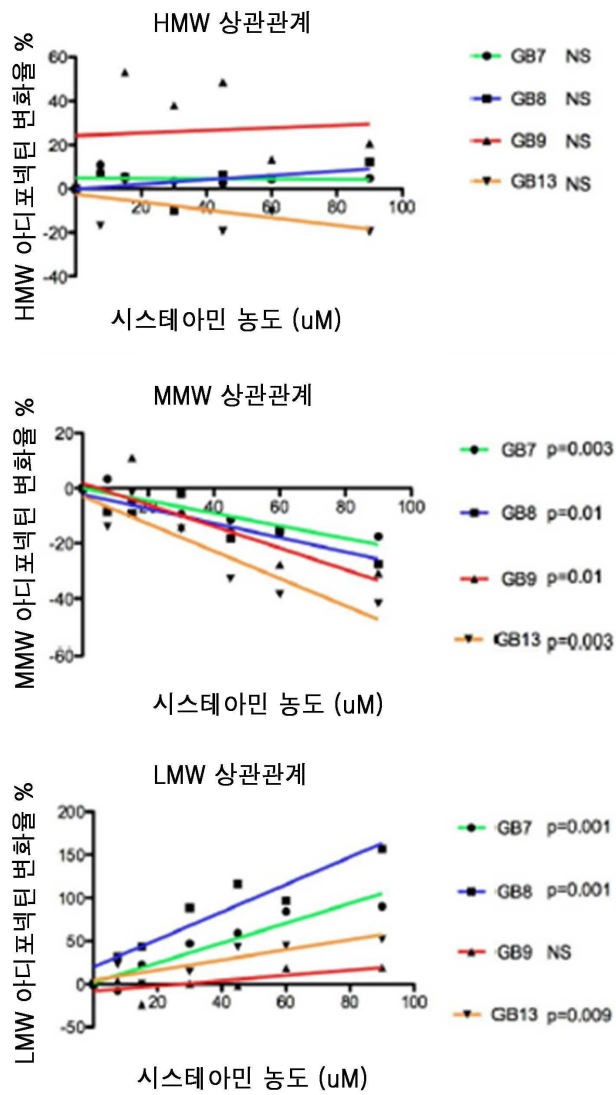
도면8



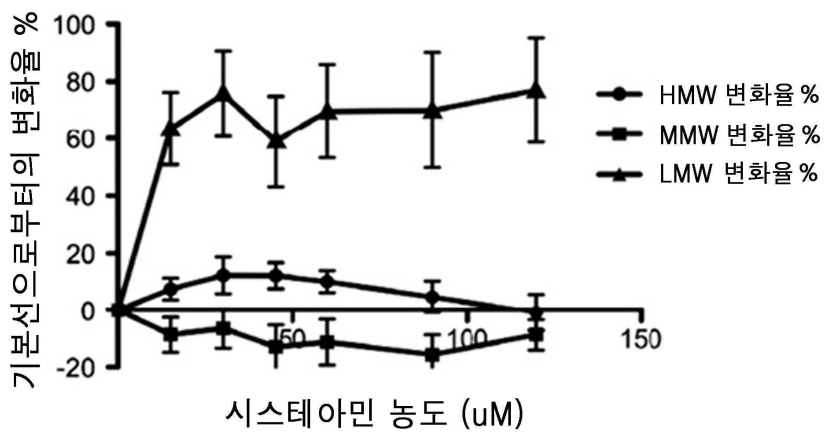
도면9



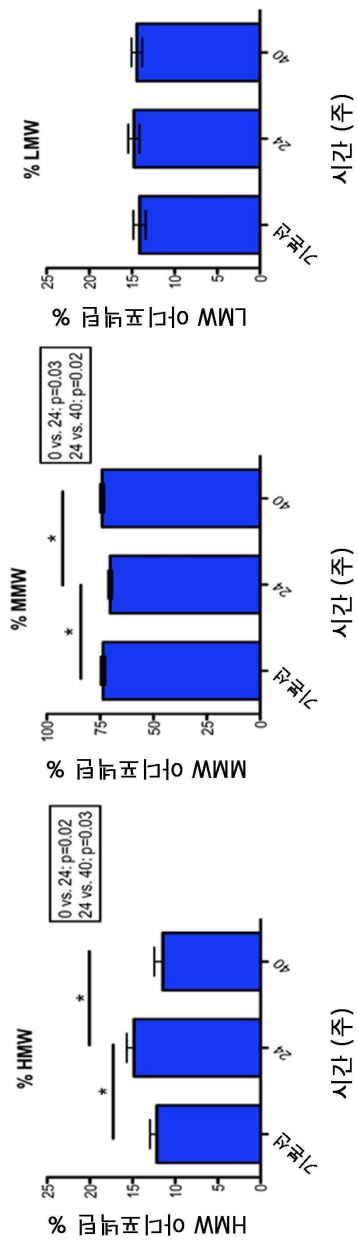
도면10



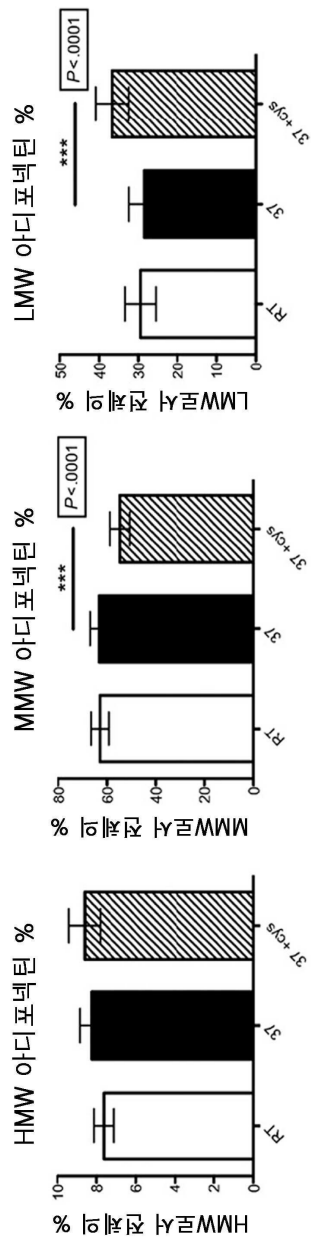
도면11



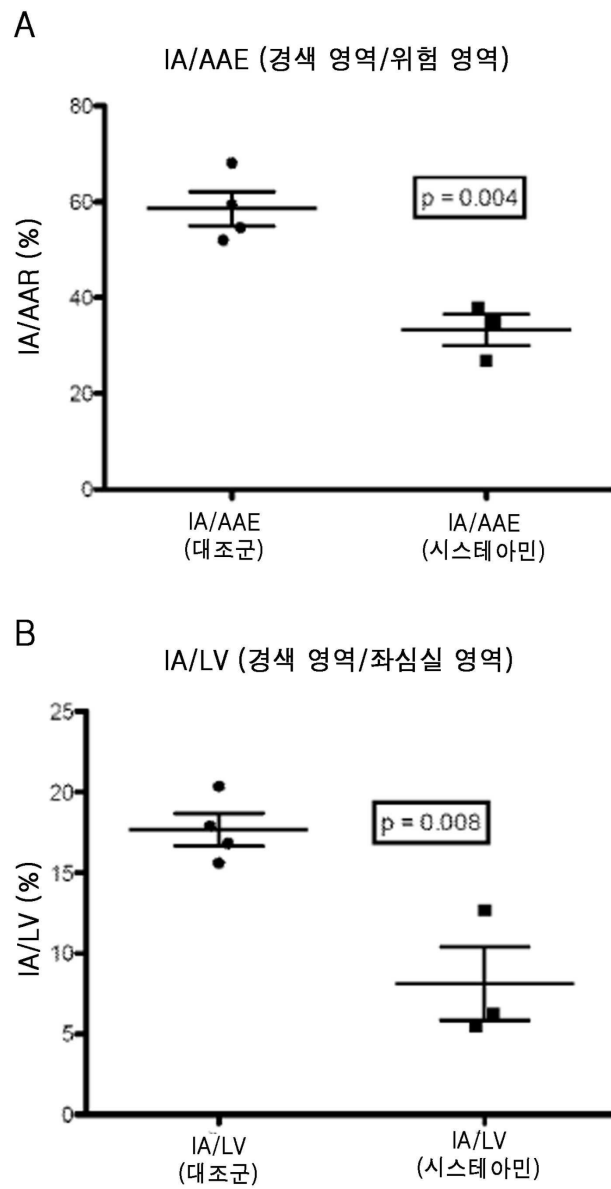
도면12



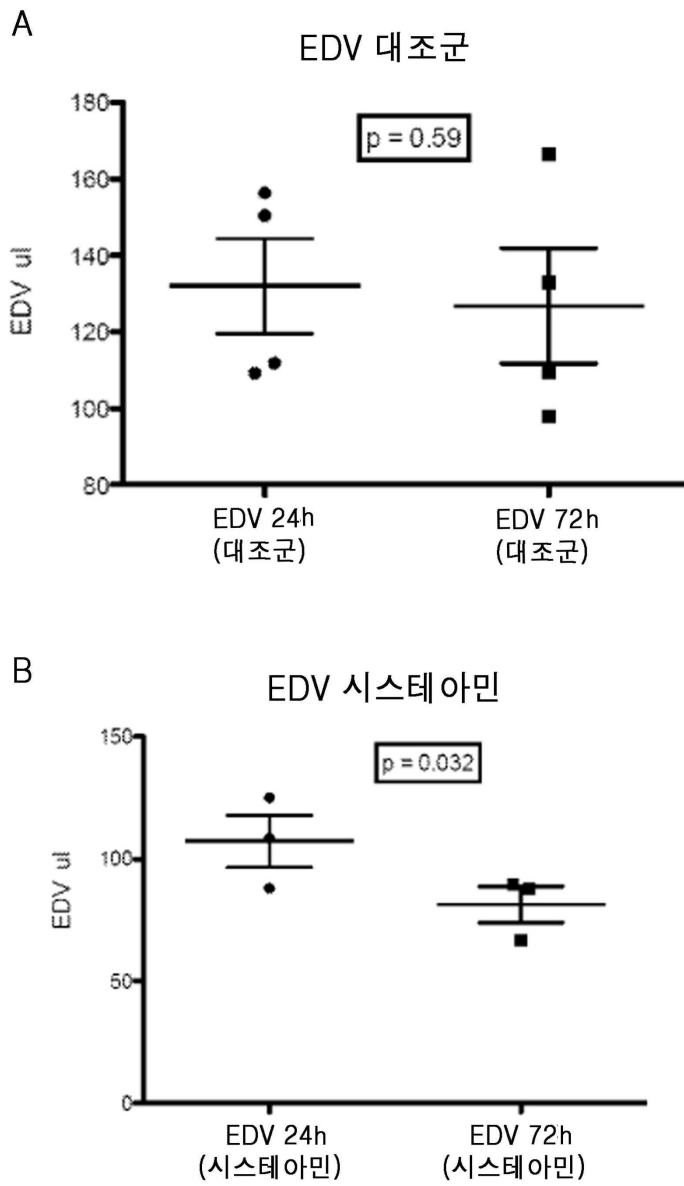
도면13



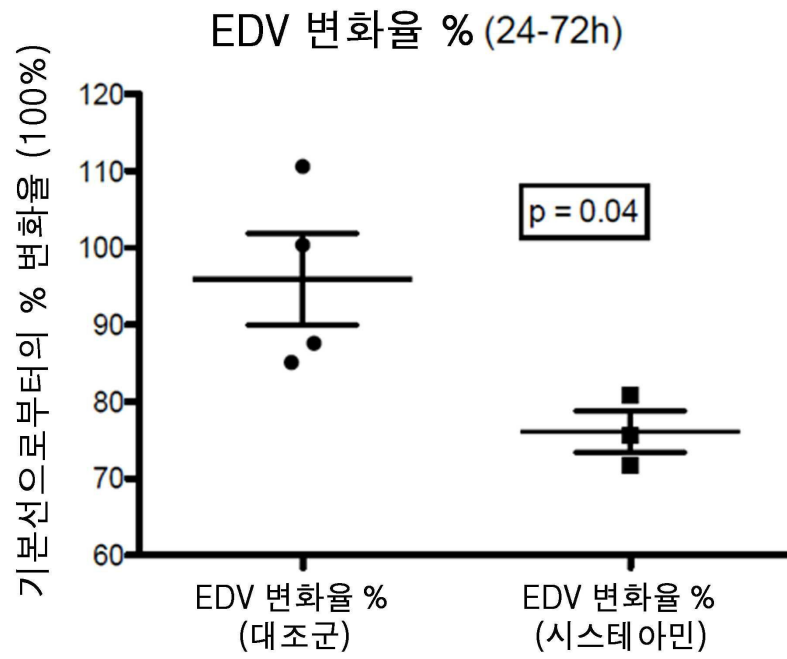
도면14



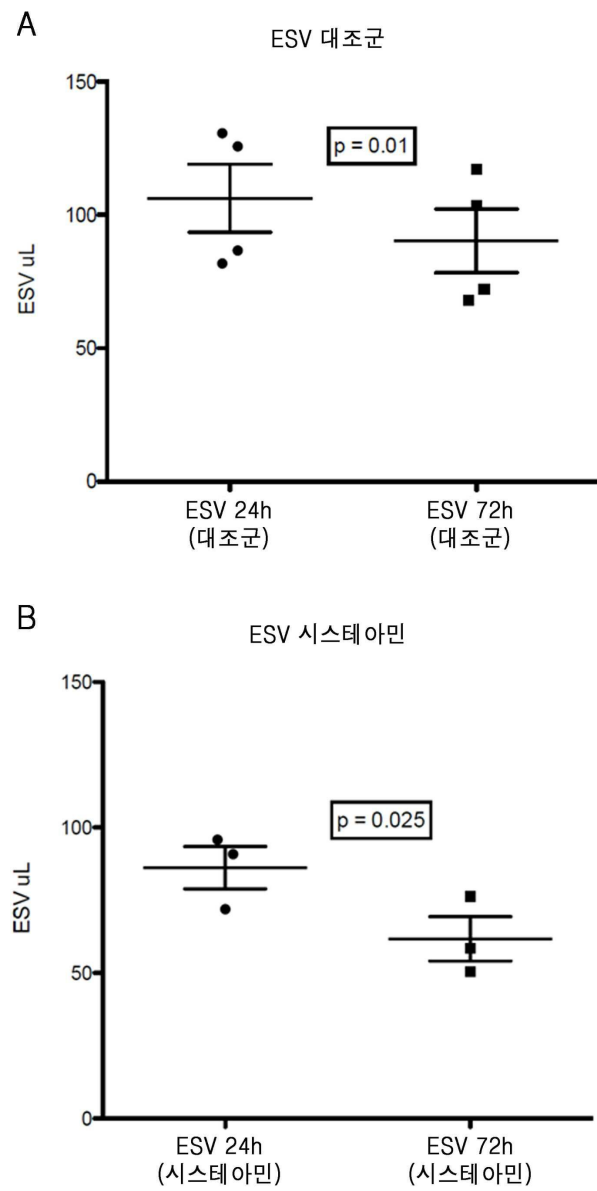
도면15



도면16



도면17



도면18

