

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **15.07.2011**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **15.07.2010 21.07.2010**
02.06.2011
(31) Číslo prioritní přihlášky: **2010129289 2010130350**
2011122407
(33) Země priority: **RU RU RU**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **29.05.2013**
(Věstník č. 22/2013)
(86) PCT číslo: **PCT/PCT/IB2011/0024**
04
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2012/007847**

(21) Číslo dokumentu:

2013-104

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 25/34 (2006.01)

(71) Přihlašovatel:

Epshtein Oleg Iliich, Moskva 127473, RU

(72) Původce:

Epshtein Oleg Iliich, Moskva 127473, RU
Sergeeva Svetlana Alexandrovna, Moskva 117535, RU
Dolgovyh Liudmila Fyodorovna, Chelyabinsk 454091, RU
Kheyefets Irina Anatolievna, Dolgoprudny 141707, RU
Dugina Julia Leonidovna, Moskva 125368, RU
Zabolotneva Julia Alexandrovna, Moskva 109559, RU
Tarasov Sergey Alexandrovich, Golitsyno 143040, RU

(74) Zástupce:

Rott, Růžička & Guttman Patentové, známkové a
advokátní kanceláře, Ing. Ivana Jirotková, Vinohradská
37, Praha 2, 12000

(54) Název přihlášky vynálezu:

Farmaceutické přípravky a metody léčby

(57) Anotace:

Řešení poskytuje farmaceutické přípravky, obsahující aktivovanou potencovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru, a jejich použití při léčbě obezity a souvisejících metabolických poruch. Řešení dále poskytuje farmaceutické přípravky, obsahující aktivovanou potencovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidního receptoru a aktivovanou potencovanou formu protilátek proti proteinu S-100, pro použití při léčbě závislosti na psychoaktivních látkách.

Farmaceutické přípravky a metody léčby

OBLAST TECHNIKY

- 5 Předložený vynález se týká farmaceutických přípravků, které mohou být použity při léčbě obezity a souvisejících metabolických poruch a pro léčení závislosti na psychoaktivních látkách, zejména nikotinu.

DOSAVADNÍ STAV TECHNIKY

- 10 Obezita je dnes považována za chronické onemocnění, které vyžaduje léčbu, aby se snížila s ním spojená zdravotní rizika. Nárůst obezity je znepokojivý kvůli zdravotním rizikům spojeným s obezitou, včetně ischemické choroby srdeční, mrtvice, hypertenze, cukrovky druhého typu, dyslipidémie, spánkové apnoe, osteoartritidy, chorob žlučníku, deprese a některých druhů rakoviny (například
15 děložní sliznice, prsu, prostaty a tlustého střeva). Negativní zdravotní důsledky obezity jsou druhou nejčastější příčinou zbytečných úmrtí ve Spojených státech. Viz: McGinnis M, Foegle W H., „*Actual Causes of Death in the United States*“, JAMA, 270, 2207 12 (1993).

- Má se za to, že 5–10% snížení tělesné váhy může podstatně zlepšit
20 metabolické hodnoty, jako je například hladina glukózy v krvi, zvýšený krevní tlak a koncentrace lipidů.

- Běžně dostupné léky, předepisované pro zvládání obezity, obecně snižují váhu tím, že navozují pocit sytosti nebo sníží vstřebávání tuků z potravy. Sytosti je dosaženo zvýšením synaptické hladiny noradrenalinu, serotoninu nebo obou.
25 Například stimulace serotoninového receptoru podtypu 1B, 1D a 2C a 1- a 2-adrenergických receptorů snižuje příjem potravy tím, že reguluje pocit sytosti. Viz: Bray GA, „*The New Era of Drug Treatment. Pharmacologic Treatment of Obesity: Symposium Overview*“ Obes. Res., 3 (suppl 4), (1995). Adrenergické látky (například diethylpropion, benzfetamin, fendimetrazin, mazindol a fentermin) působí tím, že
30 ovlivňují centrální receptory noradrenalinu a dopaminu podporou uvolňování



katecholaminu. Starší adrenergní léky na hubnutí (např. amfetamin, metamfetamin a fenmetrazin), které silně zasahují do dopaminových drah, se již nedoporučují vzhledem k riziku jejich zneužívání. Serotoninergní látky používané k regulaci chuti k jídlu, fenfluramin a dexfenfluramin, nejsou již k dispozici pro použití.

5 Vzhledem k vedlejším nežádoucím účinkům a vzniku závislosti, vyplývajícím z použití těchto psychoaktivních látek, není účinný a bezpečný lék s centrálním účinkem dosud k dispozici. A tak stále existuje potřeba účinnější a bezpečnější terapeutické léčby pro snížení nebo prevenci obezity a souvisejících metabolických poruch.

10 Kromě obezity existuje také neuspokojená potřeba léčby závislosti na návykových látkách.

Tabáková závislost představuje nejvýznamnější příčinu nemocí a úmrtí v naší společnosti, kterým by bylo lze předejít, odpovědnou za tisíce úmrtí ročně. Polovina všech kuřáků umírá na nemoci přímo spojené s užíváním tabáku a mnoho kuřáků
15 trpí značnou nemocností. Přibližně 15 milionů kuřáků se snaží přestat kouřit, ale jen jeden milion z nich každoročně uspěje v odvykání kouření.

Cigaretový kouř obsahuje velký počet velmi složitých látek, z nichž nejvýznamnější je nikotin, což je látka, která u kuřáků cigaret vyvolává závislost. Při léčbě závislosti na tabáku se ukázaly jako účinné některé farmakoterapie. Patří mezi
20 ně náhradní nikotinové terapie ve formě žvýkaček, náplastí, nosních sprejů a inhalátorů. Jako metoda léčby závislosti na nikotinu byly vyvinuty nenikotinové farmakologické terapie. K možným činidlům patří terapie blokující nikotin, léky ovlivňující serotonergní neurotransmisi, antidepresiva, anxiolytika, klonidin a smyslová náhrada v dýchacích cestách (Rose, 1996 a Cinciripini et al., 1998
25 Oncology 12: 249-256). Terapie blokující nikotin (označovaná také jako aplikace antagonistů receptorů nikotinu) využívá látky, které obsazují nikotinové receptory a tím zeslabují odměnu získanou z užití tabáku (Clarke, 1991 Br. J. Addict. 86: 501-505). Nicméně existuje potřeba efektivnější léčby závislosti na tabáku.

Kanabinoidní receptory patří do třídy receptorů buněčných membrán v rámci
30 superrodiny receptorů, spřažených s G proteinem. Kanabinoidní receptory jsou aktivovány třemi hlavními skupinami ligandů, (a) endokanabinoidy (produkovanými těly savců), (b) rostlinnými kanabinoidy (např. THC, produkovaný rostlinou konopí) a



(c) syntetickými kanabinoidy (např. HU-210, prvně syntetizován v roce 1988 z (1R,5S)-myrtenolu). Tyto kanabinoidy vyvolávají svůj účinek vazbou na kanabinoidní receptory, umístěné v buněčné membráně. Endokanabinoidy jsou zapojeny v široké škále fyziologických a patofyziologických procesů. V současnosti je většina léků používaných k interakci s endokanabinoidním systémem odvozena z konopí. Konopí získalo největší oblibu jako surovina pro výrobky, jako jsou marihuana a hašiš, a jeho pravidelné užívání může vést k vývoji závislosti.

Byly charakterizovány dva kanabinoidní receptory: kanabinoidní receptor 1 (CB1), centrální receptor nalézající se v savčím mozku a periferních tkáních a kanabinoidní receptor 2 (CB2), periferní receptor, nalézající se pouze v periferních tkáních. Receptor CB1 je exprimován hlavně v několika oblastech mozku, včetně limbického systému (amygdala, hippocampus), hypothalamu, mozkové kůry, mozečku a bazálních ganglií. Bylo prokázáno, že sloučeniny, které jsou agonisty nebo antagonisty jednoho nebo obou těchto receptorů, poskytují řadu farmakologických účinků. Viz například Pertwee, RG, *Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors*, Pharmacol. Ther, (1997), 74:129-180 a Di Marzo, V., Melck, D., Bisogno, T., DePetrocellis, L.: *Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action*, Trends Neurosci. (1998), 21: 521-528.

Léčebný účinek extrémně zředěné (neboli ultra-nízké) formy protilátek potencovaných podle homeopatické technologie (aktivovaná potencovaná forma) byl objeven původcem tohoto vynálezu, Dr. Olegem I. Epshteinem. US patent č. 7,582,294 popisuje lék pro léčení benigní prostatické hyperplazie nebo zánětu prostaty podáním homeopaticky aktivované formy protilátek proti prostatickému specifickému antigenu (PSA).

S-100 protein je kyselý cytoplazmatický protein, exprimovaný v nervovém systému. Bylo ukázáno, že S-100 protein má úlohu v úzkosti. Viz Ackermann et al., *S100A1-deficient male mice exhibit increased exploratory activity and reduced anxiety-related response*, Biochim. Biophys. Acta 2006, 63 (11): 1307-19; Diehl et al., *Long lasting sex-specific effects upon behavior and S100b levels after maternal separation and exposure to a model of post-traumatic stress disorder in rats*, Brain Res., 2007, 144: 107-16, na něž se zde odkazuje.



Bylo prokázáno, že ultra-nízké dávky protilátek proti S-100 proteinu mají anxiolytické, antiastenické, antiagresivní, protistresové, antihypoxické, antiischemické, neuroprotektivní a nootropické účinky. Viz 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; Epshtein 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. *Antibodies 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, na něž se zde odkazuje.

Nadále trvá potřeba nových léčivých přípravků s požadovanou terapeutickou účinností pro léčbu nadměrné tělesné hmotnosti nebo obezity a drogové závislosti.

PODSTATA VYNÁLEZU

15

Vynález poskytuje v jednom aspektu farmaceutický přípravek, obsahující aktivovanou potencovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru. Přednostním lidským kanabinoidním receptorem je kanabinoidní receptor 1 (CB1). Předpokládá se, že aktivovanou potencovanou formou protilátky je v tomto aspektu vynálezu v celém lidském organismu kanabinoidní receptor 1. Konkrétně se předpokládají konkrétní sekvence uvedené v detailním popisu vynálezu. Předpokládá se, že aktivovaná potencovaná forma protilátky je k polypeptidickému fragmentu lidského kanabinoidního receptoru 1. Aktivovaná potencovaná forma protilátky je přednostně ve formě směsi homeopatických ředění C12, C30 a C200. V obzvláště výhodné variantě je aktivovaná forma protilátky ve formě směsi homeopatických ředění C12, C30 a C200, impregnované na pevný nosič. Předpokládá se, že aktivovanou potencovanou formou protilátky k lidskému kanabinoidnímu receptoru je monoklonální, polyklonální nebo přírodní protilátka. Přednostně je aktivovanou potencovanou protilátkou k lidskému kanabinoidního receptoru protilátka polyklonální. Protilátka proti lidskému kanabinoidního receptoru může být připravena postupným setinným ředěním spojeným s protřepáním každého ředění.

Dále vynález poskytuje způsob léčby obezity a souvisejících metabolických poruch, který zahrnuje podávání farmaceutického přípravku v jakékoli variantě nebo provedení farmaceutického přípravku podle vynálezu. Farmaceutický přípravek může být podáván pacientovi v jedné nebo ve dvou formách jednotkové dávky od jednou denně až po čtyřikrát denně. Zejména se uvažuje podávání dvakrát denně.

Dále vynález poskytuje způsob léčby závislosti na nikotinu, který zahrnuje podávání farmaceutického přípravku v jakékoli variantě nebo provedení farmaceutického přípravku podle vynálezu. Farmaceutický přípravek může být podáván pacientovi v jedné nebo ve dvou formách jednotkové dávky od jednou denně až po čtyřikrát denně. Zejména se uvažuje podávání dvakrát denně.

Dále vynález poskytuje způsob modifikace antropometrických parametrů savce s očekávaným užitkem z takové změny, který zahrnuje podávání farmaceutického přípravku v jakékoli variantě nebo provedení farmaceutického přípravku podle vynálezu. V jednom z provedení je antropometrickým parametrem obvod pasu. V jednom z provedení je antropometrickým parametrem poměr pasu a výšky. V jiném provedení je antropometrickým parametrem poměr pasu k bokům. K dispozici jsou různé varianty.

Dále vynález poskytuje způsob snížení tělesné hmotnosti savce, který zahrnuje podávání farmaceutického přípravku v jakékoli variantě nebo provedení farmaceutického přípravku podle vynálezu. V jedné variantě je tělesná hmotnost snížena o nejméně 5 %. V jiné variantě je tělesná hmotnost snížena o nejméně 10 %, tělesná hmotnost je snížena o nejméně 15 %. V další variantě je tělesná hmotnost snížena o méně než 15 %.

Dále vynález poskytuje způsob snížení nárůstu tělesné hmotnosti savce, který zahrnuje podávání farmaceutického přípravku v jakékoli variantě nebo provedení farmaceutického přípravku podle vynálezu. V jedné variantě je nárůst tělesné hmotnosti nižší o nejméně 10 % V jiné variantě je nárůst tělesné hmotnosti nižší o nejméně 30 %.

Dále vynález poskytuje způsob usnadnění snížení příjmu potravy u savce s očekávaným užitkem takového snížení, který zahrnuje podávání farmaceutického

přípravku v jakékoli variantě nebo provedení farmaceutického přípravku podle vynálezu.

Dále vynález poskytuje farmaceutický přípravek obsahující aktivovanou potencovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru a aktivovanou potencovanou formu protilátky proti S-100 proteinu. V jedné variantě je protilátkou proti S-100 proteinu protilátka proti celému S-100 proteinu. Sekvence pro S-100 protein jsou uvedeny v popisu přihlášky. Protilátka proti S-100 proteinu je přednostně ve formě směsi C12, C30 a C200 homeopatických ředění, impregnované na pevný nosič. Farmaceutický přípravek u tohoto provedení vynálezu může obsahovat protilátku proti S-100 proteinu, kterou je monoklonální, polyklonální nebo přírodní protilátka. S výhodou je protilátka proti S-100 proteinu polyklonální protilátka. Protilátka proti S-100 proteinu může být připravena postupným setinným ředěním spolu s protřepáváním každého ředění.

Dále vynález poskytuje způsob léčení pacienta trpícího závislostí na psychoaktivních látkách, který zahrnuje podávání farmaceutického přípravku, obsahujícího aktivovanou potencovanou formu protilátek proti lidskému kanabinoidnímu receptoru a aktivovanou potencovanou formu protilátek proti S-100 proteinu. Preferovanou psychoaktivní látkou je nikotin. Výhodně vede podávání uvedené kombinace ke statisticky významnému zlepšení schopnosti snášet odvykání kouření, jak bylo zjištěno analýzou údajů z MPSS testu. Podávání uvedené kombinace vede výhodně ke statisticky významnému snížení kouření u pacientů se středně těžkou nikotinovou závislostí, měřeno Fageströmovým testem závislosti na nikotinu. Podávání uvedené kombinace výhodně vede ke statisticky významnému snížení kouření u pacientů s těžkou nikotinovou závislostí, měřeno Fageströmovým testem závislosti na nikotinu.

Dále vynález poskytuje farmaceutický přípravek pro použití k léčbě pacienta se závislostí na psychoaktivních drogách uvedeným přípravkem, který je získán použitím a) potencovaného roztoku protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru a b) potencovaného roztoku aktivované potencované formy protilátky proti S-100 proteinu, z nichž každý byl připraven postupným opakovaným ředěním a opakovaným vertikálním protřepáním každého získaného roztoku v souladu

s homeopatickou technologií, a pak buď kombinací potencovaných roztoků smícháním, nebo alternativně impregnací hmoty nosiče uvedenou kombinací roztoků nebo oddělenými roztoky.

- 5 Dále vynález poskytuje farmaceutický přípravek pro použití při léčbě obezity a souvisejících metabolických poruch, který byl získán použitím potencovaného roztoku protilátek proti lidskému kanabinoidnímu receptoru, připraveného postupným opakovaným ředěním a opakovaným vertikálním protřepáním každého získaného roztoku v souladu s homeopatickou technologií, a potom případnou impregnací hmoty nosiče uvedeným roztokem.

10

PŘEHLED OBRÁZKŮ NA VÝKRESECH

Obrázek 1 ukazuje vliv ULD anti-CB1 a subutraminu na růst tělesné hmotnosti a příjem potravy.

Obrázek 2 ukazuje snížení tělesné hmotnosti po podání ULD anti0-0CB1.

- 15 Obrázek 3 ukazuje snížení hmotnosti pacientů o 5 % nebo více.

PODROBNÝ POPIS

Vynález je definován s odkazem na připojené patentové nároky. Dále jsou vysvětleny příslušné definice s ohledem na patentové nároky.

- 20 Výrazem „protilátka“, jak je použit v tomto dokumentu, se rozumí imunoglobulin, který se specificky váže, a proto je definován jako komplementární, na konkrétní prostorové a polární uspořádání další molekuly. Protilátky, jak se uvádějí v nárocích, mohou obsahovat kompletní imunoglobulin nebo jeho fragment, mohou být přirozené, polyklonální nebo monoklonální, a mohou zahrnovat různé třídy a izotypy, jako je IgA, IgD, IgE, IgG1, IgG2a, IgG2b a IgG3, IgM atd. Jejich fragmenty mohou
25 zahrnovat Fab, Fv a F(ab')₂, Fab' a podobně. Singulár „protilátka“ zahrnuje i množné číslo „protilátky“.

Výraz „aktivovaná potencovaná forma“, resp. „potencovaná forma“ s ohledem na protilátky uváděné v tomto dokumentu se používá k označení produktu



homeopatické potence jakéhokoli počátečního roztoku protilátek. „Homeopatická potence“ označuje použití metod homeopatie k předání homeopatické potence počátečnímu roztoku příslušné látky. I když ne výlučně, může „homeopatická potence“ zahrnovat například opakovaná po sobě jdoucí ředění v kombinaci s vnějším působením, zejména (mechanickým) protřepáváním. Jinými slovy, výchozí roztok protilátek je podroben řadě opakovaných ředění a opakovanému vertikálnímu protřepání každého získaného roztoku v souladu s homeopatickou technologií. Přednostní koncentrace výchozího roztoku protilátek v rozpouštědle, kterým je nejlépe voda nebo směs voda/ethanol, je v rozmezí od asi 0,5 do asi 5,0 mg/ml. Přednostní postup pro přípravu každé složky, tj. roztoku protilátek, je použití směsi tří vodných nebo vodně-alkoholových ředění primárního základního roztoku (mateřské tinktury) protilátek, ředěných 100^{12} , 100^{30} a 100^{200} krát, což je ekvivalentní setinným homeopatickým ředěním C12, C30, resp. C200. Příklady homeopatické potence jsou popsány v US patentech č. 7,572,441 a 7,582,294, na které se zde v plném rozsahu pro uvedený účel odkazuje. Zatímco v patentových nárocích se používá výraz „aktivovaná potencovaná forma“, v příkladech je používán výraz „ultra-nízké dávky“. Výraz „ultra-nízké dávky“ se stal odborným termínem v oblasti zkoumání a využití homeopaticky zředěných a potencovaných forem látky. Výraz „ultra-nízká dávka“ nebo „ultra-nízké dávky“ je míněn jako plně podporující a primární synonymum pro výraz „aktivovaná potencovaná“ forma, používaný v patentových nárocích.

Jinak řečeno, protilátka je v „aktivované potencované“ nebo „potencované“ formě, pokud jsou přítomny tři faktory. Předně, „aktivovaná potencovaná“ forma protilátky je produkt procesu přípravy, uznávaného v oboru homeopatie. Zadruhé, musí „aktivovaná potencovaná“ forma protilátky mít biologickou aktivitu určenu metodami obecně přijímanými moderní farmakologií. A zatřetí, biologickou aktivitu, vykazovanou „aktivovanou potencovanou“ formou protilátky, není možno vysvětlit přítomností molekulární formy protilátky v konečném produktu homeopatického procesu.

Aktivovaná potencovaná forma protilátek může být například připravena podrobením počáteční izolované protilátky v molekulární formě postupným opakovaným ředěním spolu s vnějším působením, jakým je mechanické protřepání.

Vnější působení během snižování koncentrace může také spočívat například ve vystavení ultrazvukovým, elektromagnetickým nebo jiným fyzikálním vlivům. Publikace V. Schwabe „Homeopathic medicines“, M., 1967, patenty USA číslo 7,229,648 a 4,311,897, na něž zde k uvedenému účelu odkazujeme v plném rozsahu, popisují takové procesy, které jsou obecně přijatými metodami homeopatické potence v oboru homeopatie. Tento postup vede k jednotnému postupu snížení molekulární koncentrace počáteční molekulární formy protilátky. Tento postup se opakuje, dokud není dosaženo požadované homeopatické potence. Pro jednotlivou protilátku může být potřebná homeopatická potence určena biologickým testováním mezilehlých ředění v požadovaném farmakologickém modelu. I když ne výlučně, může „homeopatická potence“ zahrnovat například opakovaná po sobě jdoucí ředění v kombinaci s vnějším působením, zejména svislým (mechanickým) protřepáním. Jinak řečeno je výchozí roztok protilátek podroben řadě opakovaných ředění a opakovanému vertikálnímu protřepání každého získaného roztoku v souladu s homeopatickou technologií. Přednostní koncentrace výchozího roztoku protilátek v rozpouštědle, kterým je nejlépe voda nebo směs voda/ethanol, je v rozmezí od asi 0,5 do asi 5,0 mg/ml. Přednostní postup pro přípravu každé složky, tj. roztoku protilátek, je použití směsi tří vodných nebo vodně-alkoholových ředění primárního základního roztoku (mateřské tinktury) protilátek, ředěných 100^{12} , 100^{30} a 100^{200} krát, což je ekvivalentní setinným homeopatickým ředěním C12, C30, resp. C200. Příklady jak získat požadovanou homeopatickou potenci jsou popsány také například v patentech USA číslo 7,229,648 a 4,311,897, na něž pro uvedený účel odkazujeme. Postup použitelný na „aktivovanou potencovanou“ formu protilátek popsaných v tomto dokumentu je podrobněji popsán níže.

Pokud jde o homeopatickou léčbu lidských subjektů, je dosud předmětem značných kontroverzí. Zatímco vynález se opírá o přijaté homeopatické postupy při získání „aktivované potencované“ formy protilátek, k důkazu účinnosti u lidí nelze spoléhat pouze na homeopatii. Původcem tohoto vynálezu bylo překvapivě objeveno a v uznávaných farmakologických modelech dostatečně prokázáno, že rozpouštědlo získané nakonec z opakovaných ředění výchozí molekulární formy protilátky má konečnou aktivitu, která nesouvisí s přítomností stop molekulární formy protilátky

v cílovém ředění. Zde uváděné „aktivované potencované“ formy protilátky jsou testovány na biologickou aktivitu v uznávaných farmakologických modelech účinnosti, a to buď ve vhodných pokusech *in vitro*, nebo *in vivo* na vhodných zvířecích modelech. Pokusy, které zde jsou dále uvedeny, poskytují důkaz biologické
5 aktivity v těchto modelech. Klinické studie na lidech, rovněž uvedené zde níže, prokazují mimo jiné, že účinek pozorovaný na zvířecím modelu lze dobře převést na léčbu lidí. Studie na lidech rovněž poskytly důkaz o schopnosti „aktivovaných potencovaných“ forem popsaných v tomto dokumentu léčit konkrétní lidské choroby nebo poruchy, uznávané lékařskou vědou jako patologické stavy.

10 Mimoto nárokováná „aktivovaná potencovaná“ forma protilátky zahrnuje pouze roztoky nebo pevné přípravky s biologickou aktivitou, jež nemůže být vysvětlena přítomností molekulární formy protilátky, která zbývá z původního výchozího roztoku. Jinými slovy, pokud by se předpokládalo, že „aktivovaná potencovaná“ forma protilátky může obsahovat stopy původní molekulární formy protilátky, odborník
15 nemůže v přijatých farmakologických modelech přiřadit pozorované biologické aktivity zbývající molekulární formě protilátky s určitým stupněm pravděpodobnosti vzhledem k extrémně nízké koncentraci molekulární formy protilátky zbývající po opakovaných následných ředěních. Zatímco vynález není omezen žádnou konkrétní teorií, biologickou aktivitu „aktivované potencované“ formy protilátky podle vynálezu
20 není možné přičíst počáteční molekulární formě protilátky. Preferována je „aktivovaná potencovaná“ protilátka v kapalně nebo pevné formě, ve které koncentrace molekulární formy protilátky je pod hranicí detekce uznávaných analytických technik, jako jsou kapilární elektroforéza a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). Zvláště výhodná je „aktivovaná potencovaná“ forma
25 protilátky v kapalném nebo pevném stavu, ve které je koncentrace molekulární formy protilátky nižší než Avogadrovo číslo. Ve farmakologii molekulárních forem terapeutických látek je obecnou praxí vytvořit křivku dávka-odezva, kde je úroveň farmakologické odpovědi vynesena proti koncentraci aktivní látky podávané subjektu nebo testované *in vitro*. Minimální dávka léčiva, která produkuje jakoukoli zjistitelnou
30 reakci, je známa jako prahová dávka. Je zvláště výhodné, aby uvažovaná „aktivovaná potencovaná“ forma protilátky obsahovala molekulární protilátku, pokud



vůbec, v koncentraci nižší než je prahové dávka pro molekulární formu protilátky v daném biologickém modelu.

Výraz „CB1 receptor“ má svůj obecný odborný význam, a může zahrnovat přirozeně se vyskytující CB1 receptor a jeho varianty a modifikované formy. CB1
5 receptor může být z jakéhokoli zdroje, ale typicky je ze savců.

Výraz "obezita" označuje oblast hmotností, které jsou větší, než jaké se obecně považují za zdravé pro danou tělesnou výšku. Míra obezity se stanovuje pomocí hmotnosti a výšky výpočtem čísla s názvem „body mass index“ (BMI). U dospělého je BMI mezi 25 a 29,9 považován za nadváhu. Dospělý, který má BMI 30 nebo vyšší,
10 je považován za obézního. Vzorec BMI je následující:

$$\text{Hmotnost} - (\text{výška v palcích})^2 \times 703 = \text{BMI}$$

BMI neurčuje vždy přesně stupeň tělesné tloušťky. Rostoucí počet příspěvků ukazuje, že rozložení centrálního tuku (centrální obezita), může být mnohem více spojeno s metabolickými riziky než BMI. Zdá se, že měření míry centrální distribuce
15 tuku je důležité pro včasné odhalení následných zdravotních rizik, a to i mezi jednotlivci s normální váhou. S D Hsieh, H Yoshinaga a T Muto, International Journal of Obesity (2003) 27, 610-616. Viz také Price GM, Uauy R, Breeze E, Bulpitt CJ, Fletcher AE (August 2006). „Weight, shape, and mortality risk in older persons: elevated waist-hip ratio, not high body mass index, is associated with a greater risk of
20 death“ Am. J. Clin. Nutr. 84 (2): 449-60. Jako zástupné měřítko centrální obezity byl použit obvod pasu a z něj odvozené indexy, jako je poměr pas–boky a poměr pas–výška. Sung et. al., *Waist circumference and waist-to-height ratio of Hong Kong Chinese children*, BMC Public Health 2008, 8: 324. Měření antropometrických parametrů, například obvodu pasu, poměru pas–boky a poměru pas–výška, se tak
25 považována za ukazatel stupně tloušťky.

Výraz „poměr pas–boky“ je poměr obvodů pasu a boků. Poměr pas–boky se rovná obvodu pasu, dělenému obvodem boků. Poměr pas–boky větší než 0,9 u žen, a 1,0 u mužů, je spojen se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních onemocnění, a je indikací k léčbě obezity. V ideálním případě by ženy měly mít poměr pas–boky 0,8
30 nebo nižší a muži by měli mít poměr pas–boky 0,95 nebo nižší.



Výraz „poměr pas–výška“ osoby je definován jako obvod pasu, dělený výškou osoby. Pro osoby mladší 40 let je poměr pasu a výšky větší než 0,5 kritický, pro lidi ve věkové skupině mezi 40 a 50 lety je kritická hodnota mezi 0,5 a 0,6, a pro lidi nad 50 let kritické hodnoty začínají na 0,6.

5 Výraz „s obezitou související metabolické poruchy“ odkazuje na chronická onemocnění, která vyžadují léčbu za účelem snížení nadměrných zdravotních rizik spojených s obezitou, a příkladné poruchy zahrnují diabetes mellitus druhého typu, kardiovaskulární onemocnění a hypertenzi, hyperlipidemii a fibrinolytické abnormality.

10 Výraz „Fagerströmův test“ se vztahuje na standardní test nikotinové závislosti, která je testem pro posouzení intenzity návyku na nikotin. Viz Heatherton, T. F., Kozlowski, L.T., Frecker, R.C., Fagerström, K.O. „*The Fagerström test for Nicotine Dependence: A revision of the Fagerström Tolerance Questionnaire.*“ Br J Addict 1991; 86:1119-27. Test spočívá v krátkém sebehodnotícím šetření, které
15 měří závislost na nikotinu na stupnici 0-10, přičemž 10 je nejvyšší míra závislosti.

Výraz „Mood and Physical Symptoms Scale“ (MPSS) odkazuje na stupnici vyvinutou krátce po roce 1980, určenou k posouzení příznaků abstinence cigaret. (West R, Hajek P: Evaluation of the mood and physical symptoms scale (MPSS) to assess cigarette withdrawal. *Psychopharmacology* 2004, 177 (1-2): 195-199).
20 Základní prvky MPSS zahrnují 5-bodové hodnocení depresivní nálady, podrážděnosti, neklidu, potíží se soustředěním a hladu a 6-bodový žebříček síly nutkání ke kouření a času stráveného tímto nutkáním.

Výraz „Hospital Anxiety and Depression Scale“ (HADS) odkazuje na subjektivní stupnici pro screening příznaků úzkosti a deprese u hospitalizovaných pacientů
25 a ambulantních pacientů. Viz Zigmond, A.S., Snaith, R.P., *The Hospital Anxiety and Depression scale*, Acta Psychiatr. Scand., 1983, sv. 67, str. 361-370.

Vynález poskytuje farmaceutický přípravek k podávání pacientům, kteří to potřebují, přičemž farmaceutický přípravek obsahuje aktivovanou potencovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidního receptoru.

30 Vynález dále poskytuje farmaceutický přípravek k podávání pacientům, kteří to potřebují, přičemž farmaceutický přípravek obsahuje aktivovanou potencovanou



formu protilátky proti lidskému kanabinoidního receptoru a b) aktivovanou potencionovanou formu protilátky proti proteinu S-100.

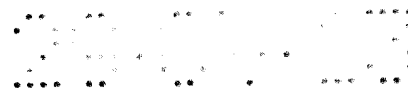
Farmaceutický přípravek podle tohoto provedení vynálezu může být v kapalně formě nebo v pevné formě. Každá z aktivovaných potencionovaných forem protilátek
5 obsažených ve farmaceutickém přípravku je připravena z výchozí molekulární formy protilátky prostřednictvím procesu používaného v homeopatické technice. Výchozí protilátky mohou být monoklonální nebo polyklonální protilátky připravené v souladu se známými postupy, například jak je popsáno v *Immunotechniques*, G. Frimel, M., „Meditasya“, 1987, pp. 9 - 33; „Hum. Antibodies. *Monoclonal and recombinant*
10 *antibodies, 30 years after*“ autorů Laffly E., Sodoyer R. -2005- Vol. 14. - N° 1-2, pp. 33–55; obojí je zde uvedeno jako odkaz.

Předpokládá se, že farmaceutická kombinace pro léčbu obezity a závislosti na nikotinu je podávána ve výši 6-8 tablet denně. V jedné variantě způsob podávání zahrnuje 2 tablety třikrát denně. V další variantě způsob podávání zahrnuje 3 tablety
15 dvakrát denně. V další variantě způsob podávání obsahuje 4 tablety dvakrát denně. V další variantě způsob podávání zahrnuje 1 tabletu šestkrát denně. V další variantě, způsob podávání zahrnuje 2 tablety čtyřikrát denně.

Monoklonální protilátky mohou být získány například prostřednictvím hybridomové technologie. Počáteční fází procesu je imunizace založená na zásadách již
20 vyvinutých pro přípravu polyklonálního antiséra. Další fáze práce zahrnují produkci hybridních buněk vytvářejících klony protilátek s identickou specifíčností. Jejich samostatná izolace se provádí za použití stejných metod jako v případě přípravy polyklonálního antiséra.

Polyklonální protilátky lze získat prostřednictvím aktivní imunizace zvířat. Pro
25 tento účel například vhodná zvířata (např. králíci) obdrží sérii injekcí vhodného antigenu, a to buď lidského kanabinoidního receptoru nebo proteinu S-100. Imunitní systém zvířat generuje odpovídající protilátky, které jsou odebírány od zvířat známým způsobem. Tento postup umožňuje přípravu séra bohatého monospecifickými protilátkami.

30 V případě potřeby může být sérum obsahující protilátky vyčištěno, např. pomocí afinitní chromatografie, frakčního srážení solemi nebo iontovýměnné chromatografie.



Výsledné vyčištěné, protilátkami obohacené sérum může být použito jako výchozí materiál pro přípravu aktivované potencované formy protilátek. Přednostní koncentrace výsledného výchozího roztoku protilátek v rozpouštědle, nejlépe vodě nebo směsi voda-ethanol, je v rozmezí od asi 0,5 do asi 5,0 mg/ml.

- 5 Přednostním postupem pro přípravu aktivované potencované formy protilátek podle tohoto vynálezu nebo kombinace protilátek podle vynálezu je použití směsi tří vodně-alkoholových ředění primárního základního roztoku protilátek, ředěných 100^{12} , 100^{30} a 100^{200} krát, což je ekvivalentní setinným homeopatickým ředěním C12, C30, resp. C200. K přípravě pevné lékové formy je pevný nosič napuštěn požadovanou
10 naředěnou směsí získanou prostřednictvím homeopatického procesu. Pro získání pevné formy jednotné dávky kombinace podle vynálezu je hmota nosiče napuštěna každým ředěním. Pro přípravu požadované kombinace lékové formy jsou vhodná obě pořadí impregnace.

- 15 Ve výhodném provedení je výchozí látkou pro přípravu aktivované potencované formy podle vynálezu polyklonální protilátka zvířecího původu k odpovídajícímu antigenu, jmenovitě k lidskému kanabinoidnímu receptoru a/nebo proteinu S-100.

- 20 Pro získání aktivované potencované formy polyklonální protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru může být požadovaný antigen aplikován jako imunogen do laboratorního zvířete, přednostně králíka. Za účelem získání polyklonálních protilátek proti lidskému kanabinoidnímu receptoru je možné použít celou molekulu lidského kanabinoidního receptoru. Za vhodný antigen je konkrétně považována následující sekvence (SEQ. ID. NO: 1) lidského kanabinoidního receptoru:



SEQ. ID. Č. 1: LIDSKÝ CB1 RECEPTOR

	Met	Lys	Ser	Ile	Leu	Asp	Gly	Leu	Ala	Asp	Thr	Thr	Phe	Arg	Thr
	1				5					10					15
	Ile	Thr	Thr	Asp	Leu	Leu	Tyr	Val	Gly	Ser	Asn	Asp	Ile	Gln	Tyr
5	16				20					25					30
	Glu	Asp	Ile	Lys	Gly	Asp	Met	Ala	Ser	Lys	Leu	Gly	Tyr	Phe	Pro
	31				35					40					45
	Gln	Lys	Phe	Pro	Leu	Thr	Ser	Phe	Arg	Gly	Ser	Pro	Phe	Gln	Glu
	46				50					55					60
10	Lys	Met	Thr	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Gln	Leu	Val	Pro	Ala	Asp	Gln
	61				65					70					75
	Val	Asn	Ile	Thr	Glu	Phe	Tyr	Asn	Lys	Ser	Leu	Ser	Ser	Phe	Lys
	76				80					85					90
	Glu	Asn	Glu	Glu	Asn	Ile	Gln	Cys	Gly	Glu	Asn	Phe	Met	Asp	Ile
15	91				95					100					105
	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Leu	Asn	Pro	Ser	Gln	Gln	Leu	Ala	Ile	Ala
	106				110					115					120
	Val	Leu	Ser	Leu	Thr	Leu	Gly	Thr	Phe	Thr	Val	Leu	Glu	Asn	Leu
	121				125					130					135
20	Leu	Val	Leu	Cys	Val	Ile	Leu	His	Ser	Arg	Ser	Leu	Arg	Cys	Arg
	136				140					145					150
	Pro	Ser	Tyr	His	Phe	Ile	Gly	Ser	Leu	Ala	Val	Ala	Asp	Leu	Leu
	151				155					160					165
	Gly	Ser	Val	Ile	Phe	Val	Tyr	Ser	Phe	Ile	Asp	Phe	His	Val	Phe
25	166				170					175					180
	His	Arg	Lys	Asp	Ser	Arg	Asn	Val	Phe	Leu	Phe	Lys	Leu	Gly	Gly
	181				185					190					195
	Val	Thr	Ala	Ser	Phe	Thr	Ala	Ser	Val	Gly	Ser	Leu	Phe	Leu	Thr
	196				200					205					210
30	Ala	Ile	Asp	Arg	Tyr	Ile	Ser	Ile	His	Arg	Pro	Leu	Ala	Tyr	Lys
	211				215					220					225
	Arg	Ile	Val	Thr	Arg	Pro	Lys	Ala	Val	Val	Ala	Phe	Cys	Leu	Met
	226				230					235					240



	Trp Thr Ile Ala Ile Val Ile Ala Val Leu Pro Leu Leu Gly Trp	
	241	245 250 255
	Asn Cys Glu Lys Leu Gln Ser Val Cys Ser Asp Ile Phe Pro His	
	256	260 265 270
5	Ile Asp Glu Thr Tyr Leu Met Phe Trp Ile Gly Val Thr Ser Val	
	271	275 280 285
	Leu Leu Leu Phe Ile Val Tyr Ala Tyr Met Tyr Ile Leu Trp Lys	
	286	290 295 300
	Ala His Ser His Ala Val Arg Met Ile Gln Arg Gly Thr Gln Lys	
10	301	305 310 315
	Ser Ile Ile Ile His Thr Ser Glu Asp Gly Lys Val Gln Val Thr	
	316	320 325 330
	Arg Pro Asp Gln Ala Arg Met Asp Ile Arg Leu Ala Lys Thr Leu	
	331	335 340 345
15	Val Leu Ile Leu Val Val Leu Ile Ile Cys Trp Gly Pro Leu Leu	
	346	350 355 360
	Ala Ile Met Val Tyr Asp Val Phe Gly Lys Met Asn Lys Leu Ile	
	361	360 370 375
	Lys Thr Val Phe Ala Phe Cys Ser Met Leu Cys Leu Leu Asn Ser	
20	376	375 385 390
	Thr Val Asn Pro Ile Ile Tyr Ala Leu Arg Ser Lys Asp Leu Arg	
	391	395 400 405
	His Ala Phe Arg Ser Met Phe Pro Ser Cys Glu Gly Thr Ala Gln	
	406	410 415 420
25	Pro Leu Asp Asn Ser Met Gly Asp Ser Asp Cys Leu His Lys His	
	421	425 430 435
	Ala Asn Asn Ala Ala Ser Val His Arg Ala Ala Glu Ser Cys Ile	
	436	440 445 450
	Lys Ser Thr Val Lys Ile Ala Lys Val Thr Met Ser Val Ser Thr	
30	451	455 460 465
	Asp Thr Ser Ala Glu Ala Leu	
	466	470 472



SEQ. ID. Č. 2: LIDSKÝ CB2 RECEPTOR

	Met	Glu	Glu	Cys	Trp	Val	Thr	Glu	Ile	Ala	Asn	Gly	Ser	Lys	Asp
	1				5					10					15
	Gly	Leu	Asp	Ser	Asn	Pro	Met	Lys	Asp	Tyr	Met	Ile	Leu	Ser	Gly
5	16				20					25					30
	Pro	Gln	Lys	Thr	Ala	Val	Ala	Val	Leu	Cys	Thr	Leu	Leu	Gly	Leu
	31				35					40					45
	Leu	Ser	Ala	Leu	Glu	Asn	Val	Ala	Val	Leu	Tyr	Leu	Ile	Leu	Ser
	46				50					55					60
10	Ser	His	Gln	Leu	Arg	Arg	Lys	Pro	Ser	Tyr	Leu	Phe	Ile	Gly	Ser
	61				65					70					75
	Leu	Ala	Gly	Ala	Asp	Phe	Leu	Ala	Ser	Val	Val	Phe	Ala	Cys	Ser
	76				80					85					90
	Phe	Val	Asn	Phe	His	Val	Phe	His	Gly	Val	Asp	Ser	Lys	Ala	Val
15	91				95					100					105
	Phe	Leu	Leu	Lys	Ile	Gly	Ser	Val	Thr	Met	Thr	Phe	Thr	Ala	Ser
	106				110					115					120
	Val	Gly	Ser	Leu	Leu	Leu	Thr	Ala	Ile	Asp	Arg	Tyr	Leu	Cys	Leu
	121				125					130					135
20	Arg	Tyr	Pro	Pro	Ser	Tyr	Lys	Ala	Leu	Leu	Thr	Arg	Gly	Arg	Ala
	136				140					145					150
	Leu	Val	Thr	Leu	Gly	Ile	Met	Trp	Val	Leu	Ser	Ala	Leu	Val	Ser
	151				155					160					165
	Tyr	Leu	Pro	Leu	Met	Gly	Trp	Thr	Cys	Cys	Pro	Arg	Pro	Cys	Ser
25	166				170					175					180
	Glu	Leu	Phe	Pro	Leu	Ile	Pro	Asn	Asp	Tyr	Leu	Leu	Ser	Trp	Leu
	181				185					190					195
	Leu	Phe	Ile	Ala	Phe	Leu	Phe	Ser	Gly	Ile	Ile	Tyr	Thr	Tyr	Gly
	196				200					205					210
30	His	Val	Leu	Trp	Lys	Ala	His	Gln	His	Val	Ala	Ser	Leu	Ser	Gly
	211				215					220					225
	His	Gln	Asp	Arg	Gln	Val	Pro	Gly	Met	Ala	Arg	Met	Arg	Leu	Asp
	226				230					235					240



	Val	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Leu	Gly	Leu	Val	Leu	Ala	Val	Leu	Leu	
	241				245					250					255	
	Ile	Cys	Trp	Phe	Pro	Val	Leu	Ala	Leu	Met	Ala	His	Ser	Leu	Ala	
	256				260					265					270	
5	Thr	Thr	Leu	Ser	Asp	Gln	Val	Lys	Lys	Ala	Phe	Ala	Phe	Cys	Ser	
	271				275					280					285	
	Met	Leu	Cys	Leu	Ile	Asn	Ser	Met	Val	Asn	Pro	Val	Ile	Tyr	Ala	
	286				290					295					300	
	Leu	Arg	Ser	Gly	Glu	Ile	Arg	Ser	Ser	Ala	His	His	Cys	Leu	Ala	
10	301				305					310					315	
	His	Trp	Lys	Lys	Cys	Val	Arg	Gly	Leu	Gly	Ser	Glu	Ala	Lys	Glu	
	316				320					325					330	
	Glu	Ala	Pro	Arg	Ser	Ser	Val	Thr	Glu	Thr	Glu	Ala	Asp	Gly	Lys	
	331				335					340					345	
15	Ile	Thr	Pro	Trp	Pro	Asp	Ser	Arg	Asp	Leu	Asp	Leu	Ser	Asp	Cys	
	346				350					355					360	

20 Jako imunogen (antigen) pro imunizaci králíků se přednostně používá fragment polypeptidu lidského kanabinoidního receptoru. K získání polyklonálních protilátek, aby se získal fragment polypeptidu lidského kanabinoidního receptoru, je možné použít jako imunogen (antigen) syntetický peptid lidského kanabinoidního receptoru. Vhodné sekvence (lidského CB1 receptoru) pro takový antigen, jsou následující:

SEQ. ID. Č. 3:

```

Gln Arg Gly Thr Gln Lys
310                                     315

Ser Ile Ile Ile
5      316             319

```

SEQ. ID. Č. 4:

		Glu	Lys	Leu	Gln	Ser	Val	Cys	Ser	Asp	Ile	Phe	Pro	His
		258		260					265					270
10		Ile	Asp	Glu	Thr	Tyr	Leu							
		271			275	276								

SEQ ID Č. 5:

```

15
Ile Gln Arg Gly Thr Gln Lys
309 310 315
Ser Ile Ile Ile His Thr Ser Glu Asp Gly Lys Val Gln Val Thr
316 320 325 330
Arg Pro Asp Gln Ala Arg Met
331 335 337
20

```

SEQ ID Č. 6:

															Lys
															300
	Ala	His	Ser	His	Ala	Val	Arg	Met	Ile	Gln	Arg	Gly	Thr	Gln	Lys
25	301				305					310					315
	Ser	Ile	Ile	Ile	His	Thr	Ser	Glu	Asp	Gly	Lys	Val	Gln	Val	Thr
	316				320					325					330
	Arg	Pro	Asp	Gln	Ala	Arg	Met	Asp	Ile	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	
	331				335					340					344

SEQ ID Č. 7:

Met Ser Val Ser Thr
461 465

	Asp	Thr	Ser	Ala	Glu	Ala	Leu
5	466				470		472

SEQ ID Č. 8:

				Thr	Glu	Phe	Tyr	Asn	Lys	Ser	Leu	Ser	Ser	Phe	Lys
				79	80					85					90
10	Glu	Asn	Glu	Glu	Asn	Ile	Gln	Cys	Gly	Glu	Asn	Phe	Met	Asp	Ile
	91				95					100					105
	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Leu	Asn	Pro	Ser						
	106				110				114						

15 **SEQ ID Č. 9:**

Pro Leu Asp Asn Ser Met Gly Asp Ser Asp Cys Leu His Lys His
421 425 430 435
Ala Asn
436 437

SEQ ID Č. 10:

25 Gly Thr Gln Lys
312 315
Ser Ile Ile Ile His Thr Ser Glu Asp Gly
316 320 325

SEQ ID Č. 11:

30 Met Thr Ala Gly Asp Asn Pro Gln Leu Val Pro Ala Asp Gln
62 65 70 75



Val Asn Ile Thr Glu Phe Tyr Asn Lys Ser Leu Ser Ser Phe Lys
 76 80 85 90
 Glu Asn Glu Glu Asn Ile Gln Cys Gly Glu Asn Phe Met Asp Ile
 91 95 100 105
 5 Glu Cys Phe Met Val Leu Asn
 106 110 112

SEQ ID Č. 12:

Val Val Ala Phe Cys Leu Met
 234 235 240
 10 Trp Thr Ile Ala Ile Val Ile
 241 245 247

SEQ ID Č. 13:

Glu Phe Tyr Asn Lys Ser Leu Ser Ser Phe Lys
 80 85 90
 Glu Asn Glu Glu Asn Ile Gln Cys Gly Glu Asn Phe Met Asp Ile
 91 95 100 105
 Glu Cys Phe Met Val Leu Asn Pro Ser Gln Gln Leu Ala Ile Ala
 106 110 115 120
 20 Val Leu Ser Leu Thr Leu
 121 125 126

SEQ ID Č. 14:

Asn Glu Glu Asn Ile Gln Cys Gly Glu
 92 95 100

SEQ ID Č. 15:

Gly Ser Pro Phe Gln Glu
 55 60
 30 Lys Met Thr Ala Gly Asp Asn Pro Gln Leu Val Pro Ala Asp Gln
 61 65 70 75

Val	Asn	Ile	Thr	Glu	Phe	Tyr	Asn	Lys	Ser	Leu
76				80					85	86

5 **SEQ ID Č. 16:**

Ala Tyr Lys
223 225

Arg Ile Val Thr Arg Pro Lys Ala Val Val Ala Phe Cys Leu Met
226 230 235 240

10 Trp Thr Ile Ala Ile Val Ile Ala Val Leu Pro Leu Leu Gly Trp
 241 245 250 255

Asn
256

15

Příklad postupu přípravy výchozích polyklonálních protilátek proti lidskému kanabinoidnímu receptoru může být popsán následovně. 7 až 9 dnů před odběrem krevního vzorku jsou králíkům aplikovány 1 až 3 nitrožilní injekce požadovaného antigenu, aby se zvýšila úroveň polyklonálních protilátek v jejich krevním řečišti. Po imunizaci jsou odebrány vzorky krve k testování hladiny protilátek. Obvykle je maximální úroveň imunitní reakce rozpustného antigenu dosažena za 40 až 60 dnů po prvním podání antigenu. Po dokončení prvního očkovacího cyklu mají králíci 30-denní rehabilitační období, po němž je znovu provedena imunizace dalšími 1 až 3 intravenózními injekcemi.

25 K získání antiséra s obsahem požadovaných protilátek je imunizovaným králíkům odebrána krev a umístěna do 50 ml centrifugační zkumavky. Sraženina vytvořená na stěnách se odstraní dřevěnou špachtlí a do sraženiny uprostřed zkumavky se pak vloží tyčinka. Krev se pak umístí přes noc v mrazicím boxu při teplotě asi -40°C . Následujícího dne se sraženina na špachtli odstraní a zbývající kapalina se odstředí
30 po dobu 10 minut při 13 000 otáčkách za minutu. Supernatant je cílené antisérum. Získané antisérum je typicky žluté. K antiséru se přidá 20 % NaN_3 (hmotnostní koncentrace) do konečné koncentrace 0,02 % a uchová se před použitím ve



zmrazeném stavu při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo bez NaN_3 při teplotě $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pro oddělení cílové protilátky ke kanabinoidnímu receptoru z antiséra je vhodný následující postup absorpce na pevné fázi:

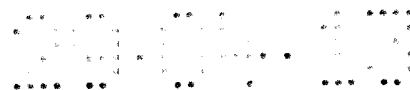
10 ml králíčího antiséra se zředí stejným objemem $0,15\text{ M NaCl}$, pak se přidá
5 6,26 g Na_2SO_4 , promíchá a inkubuje 12-16 hodin při teplotě $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sediment se odstraní odstředěním, zředí 10 ml fosfátového pufru a dialyzuje přes noc při pokojové teplotě proti témuž pufru. Po odstranění usazeniny se roztok nanese na sloupec DEAE-celulózy vybalancovaný fosfátovým pufrem. Frakce protilátky se stanoví měřením optické hustoty eluátu při 280 nm.

10 Izolované surové protilátky se vyčistí pomocí afinitní chromatografie navázáním získané protilátky na kanabinoidní receptor umístěný v nerozpustné matici chromatografického media s následnou elucí koncentrovaným vodným roztokem solí.

Výsledný roztok pufru se použije jako výchozí roztok procesu homeopatického ředění pro přípravu aktivované potencované formy protilátek. Počáteční koncentrace
15 výchozího roztoku antigenem čištěné polyklonální králíčí protilátky ke kanabinoidnímu receptoru je přednostně 0,5 - 5,0 mg/ml, s výhodou 2,0 až 3,0 mg/ml.

Specifický mozkový S-100 protein, exprimovaný neurony a gliovými buňkami (astrocyty a oligodendrocyty), vykonává v CNS přímo nebo prostřednictvím interakce s jinými proteiny řadu funkcí zaměřených na zachování normálního fungování
20 mozku, včetně ovlivňování procesu učení a paměti, růstu a životaschopnosti neuronů, regulace metabolických procesů v tkáních neuronů a dalších. Pro získání polyklonálních protilátek proti specifickému mozkovému proteinu S-100, se používá specifický mozkový protein S-100, jehož fyzikální a chemické vlastnosti jsou popsány v článku M. V. Starostin, S. M. Sviridov, Neurospecific Protein S-100, *Progress of*
25 *Modern Biology*, 1977, Vol. 5, pp. 170-178; který se nachází v knize M. B. Shtark, *Brain-Specific Protein Antigens and Functions of Neuron*, „Medicine“, 1985; pp. 12-14. Specifický mozkový protein S-100 se oddělí z mozkové tkáně býka následujícím postupem:

- býčí mozková tkáň zmrazená v kapalném dusíku se převede na prášek pomocí
30 specializovaného mlýnku;



- bílkoviny jsou extrahovány v poměru 1:3 (hmotnost/objem), za použití extrakčního pufru s homogenizací;
- homogenát se zahřívá po dobu 10 minut při teplotě 60 °C a pak se ochladí na 4 °C v ledové lázni;
- 5 - termolabilní proteiny se odstraní odstředěním;
- provede se frakcionace síranem amonným v několika fázích, s následným odstraněním precipitovaných bílkovin;
- frakce obsahující S-100 protein se vysráží pomocí 100% nasyceného síranu amonného při poklesu pH na 4,0, požadovaná frakce je pak oddělena
- 10 - centrifugací;
- sraženina se rozpustí v minimálním objemu pufru obsahujícího EDTA a merkaptoethanol, pak se dialyzuje deionizovanou vodou a lyofilizuje;
- následuje frakcionace kyselých proteinů chromatografií na iontoměničích, DEAE-celulóze DE-52 a pak DEAE-Sephadexu A-50;
- 15 - shromážděné a dialyzované frakce, které obsahují S-100 protein, jsou rozděleny podle molekulové hmotnosti gelovou filtrací na Sephadexu G-100;
- vyčištěný S-100 protein se dialyzuje a lyofilizuje.

Molekulová hmotnost vyčištěného specifického mozkového proteinu S-100 je 21000 daltonů.

- 20 Vzhledem k vysoké koncentraci asparagové a glutamové kyseliny je specifický mozkový protein S-100 velmi kyselý a při elektroendoosmóze v diskontinuálním pufrovém systému na polyakrylamidovém gelu zaujímá extrémní anodovou pozici, což usnadňuje jeho identifikaci.

- 25 Polyklonální protilátky proti S-100 proteinu lze získat také pomocí metody, podobné metodě popsané pro kanabinoidní receptory protilátek s použitím adjuvans. Jako imunogen (antigen) pro imunizaci králíků může být použita celá molekula S-100 proteinu:

15

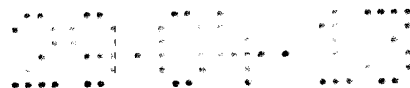
30

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											
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											
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													

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
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			
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		

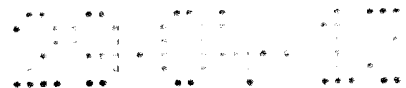


K získání antiséra se připraví specifický mozkový protein S-100 nebo směs proteinů S-100 (antigenů) v komplexu s methylovaným albuminem býčího séra jako nosičem s Freundovým kompletním adjuvans a přidá se k oddělenému specifickému mozkovému proteinu S-100, který se aplikuje v množství 1–2 ml subdermální injekcí
 5 do oblasti hřbetu laboratornímu zvířeti – králíkovi. Imunizace se opakuje 8. a 15. den. Odběr krve se provádí (například ze žíly v uchu) 26. a 28. den.

Titr získaného antiséra je 1:500 až 1:1000, s extraktem nervové tkáně vytváří jednoduchý precipitační pruh, ale nereaguje s výtažky z heterologních orgánů a vytváří jediný precipitační vrchol jak s čistým S-100 proteinem, tak i s extraktem
 10 nervové tkáně, což naznačuje, že získané antisérum je monospecifické.

Aktivovaná potencionovaná forma protilátek podle vynálezu může být připravena z výchozího roztoku homeopatickou potenciací, nejlépe metodou poměrného snižování koncentrace sériovým ředěním 1 dílu každého předcházejícího roztoku (počínaje výchozím roztokem) s 9 díly (pro desetinná ředění), nebo s 99 díly (pro
 15 setinná ředění), nebo s 999 díly (pro tisícinná ředění) neutrálního rozpouštědla, počínaje výchozím roztokem protilátky v rozpouštědle, přednostně ve vodě nebo směsi voda-etanol, v rozmezí koncentrace od asi 0,5 do asi 5,0 mg/ml, spojeným s vnějším působením. Vnější působením se přednostně rozumí vertikální protřepání (dynamizace) každého ředění. Přednostně se pro každé další zředění na
 20 požadovanou úroveň nebo ředicí faktor použijí oddělené nádoby. Tato metoda je uznávána v homeopatické technice. Viz např. publikaci V. Schwabe „Homeopathic medicines“, M., 1967, str. 14-29, na kterou k tomuto účelu odkazujeme.

Například k přípravě 12-setinného ředění (označeného C12), se rozředí jeden díl výchozího základního roztoku protilátek proti lidskému kanabinoidnímu receptoru
 25 o koncentraci 3,0 mg/ml 99 díly neutrálního vodného nebo vodně-alkoholového rozpouštědla (přednostně 15% ethanol) a pak mnohokrát (10 a více) opakovaně svisle protřepe, aby se vytvořilo 1. setinné ředění (označované jako C1). 2. setinné ředění (C2), se připravuje z prvního setinného ředění C1. K přípravě 12. setinného ředění se tento postup opakuje 11krát. To znamená, že dvanácté setinné ředění C12
 30 představuje roztok, získaný 12. sériovým ředěním jednoho dílu výchozího základního roztoku protilátek proti lidskému kanabinoidnímu receptoru o koncentraci 3,0 mg/ml



99 díly neutrálního rozpouštědla v různých nádobách, což odpovídá setinnému homeopatickému ředění C12. Podobné postupy s příslušným ředicím faktorem se provedou s cílem získat roztoky C30 a C200. Pro kontrolu účinnosti v požadovaném biologickém modelu mohou být testována mezilehlá ředění. Preferovanou aktivovanou potencovanou formou protilátek tvořících vynález jsou pro každou aktivovanou potencovanou formu směs ředění C12, C30 a C200. Při použití směsi různých homeopatických ředění (především setinného) účinné látky jako biologicky aktivní kapalné složky je každá součást složení (např. C12, C30, C200) připravena odděleně v souladu s výše popsáním postupem, dokud se nezíská předposlední ředění (např. C11, C29 a C199), a pak se jeden díl každé složky přidá do nádoby podle složení směsi a smíchá s potřebným množstvím rozpouštědla (např. s 97 díly pro setinné ředění).

Je možné použít účinnou látku jako směs různých homeopatických ředění, např. desetinného a/nebo setinného (D20, C30, C100 nebo C12, C30, C50 atd.), jejíž účinnost je stanovena experimentálně testováním ředění na vhodném biologickém modelu, například v modelech popsáných zde v příkladech.

V průběhu potenciace a snižování koncentrace může být vertikální protřepání nahrazeno vnějším působením ultrazvuku, elektromagnetických polí nebo jiným podobným vnějším vlivem, uznávaným v homeopatické technice.

Farmaceutický přípravek podle vynálezu může přednostně být ve formě kapaliny nebo v pevné jednotkové dávkové formě. Pokud se farmaceutický přípravek skládá ze dvou protilátek, jeho kapalné provedení zahrnuje směs dvou protilátek, přednostně v poměru 1:1 aktivovanou potencovanou formu protilátek proti lidskému kanabinoidnímu receptoru a aktivovanou potencovanou formu protilátek proti proteinu S-100. Přednostním kapalinovým nosičem je voda nebo směs voda-ethanol.

Jednotka pevné lékové formy farmaceutického přípravku podle vynálezu může být připravena napuštěním pevného farmaceuticky přijatelného nosiče směsí aktivovaných potencovaných forem vodných nebo vodně-alkoholových roztoků aktivních složek. Pokud se farmaceutický přípravek skládá ze dvou protilátek, účinné složky jsou smíchány, přednostně v poměru 1:1, a použity v kapalné lékové formě.



Alternativně může být nosič napuštěn každým požadovaným ředěním postupně. Přijatelná jsou obě pořadí impregnace.

Farmaceutický přípravek v pevné jednotkové lékové formě se přednostně skládá z granulí farmaceuticky vhodného nosiče, který byl předem nasycen vodným nebo vodně-alkoholovým roztokem zředěných protilátek v aktivované potencované formě. Pevná léková forma může být v jakékoliv modifikaci známé ve farmaceutické praxi, včetně tablety, kapsle, pastilky, a jiných. Jako neaktivní lékovou přísadu lze použít glukózu, sacharózu, maltózu, škrob, izomaltózu, izomalt a jiné mono-, oligo- a polysacharidy používané při výrobě léčiv, jakož i technologické směsi výše uvedených neaktivních složek léčivých přípravků s jinými farmaceuticky přijatelnými pomocnými látkami, například izomaltem, krosповidonem, cyklamátem sodným, sacharinátem sodným, bezvodou kyselinou citronovou, atd.), včetně mazadel, rozvolňovadel, pojiv a barviv. Preferovanými nosiči jsou laktóza a izomalt. Dávková léková forma může dále obsahovat standardní farmaceutické pomocné látky, například mikrokrytalickou celulózu a stearat hořečnatý.

Příklad přípravy pevné jednotky lékové formy je uveden dále. K přípravě pevné perorální formy jsou 100 - 300 μm granule laktózy napuštěny vodným nebo vodně-alkoholovým roztokem aktivované potencované formy protilátek proti lidskému kanabinoidnímu receptoru a/nebo aktivované potencované formy protilátek proti proteinu S-100 v poměru 1 kg roztoku na 5 nebo 10 kg laktózy (1:5 - 1:10). K docílení impregnace se granule laktózy vystaví nasycení ponořením ve fluidní varné lázni (například v zařízení „Hüttlin Pilotlab“ společnosti Hüttlin GmbH) s následným sušením ohřátým vzduchem při teplotě nižší než 40 °C. Odhadované množství sušených granulí (10-34 hmotnostních dílů) nasycených aktivovanou potencovanou formou protilátek je umístěno v mixéru a smícháno s 25 až 45 hmotnostními díly "nenasycené" čisté laktózy (používá se pro snížení nákladů, zjednodušení a zrychlení technologického procesu bez snížení účinnosti čištění), společně s 0,1 až 1 hmotnostním dílem stearátu hořečnatého, a 3-10 hmotnostními díly mikrokrytalické celulózy. Získaná tabletová hmota je po rovnoměrném rozmíchání tabletována přímým suchým lisováním (např. v tabletovacím lisu Korsch - XL 400) se vytvářejí okrouhlé pilulky o hmotnosti 150 až 500 mg, přednostně 300 mg. Tabletováním se získají 300 mg pilulky, které jsou nasyceny vodně-alkoholovým



roztokem (3,0-6,0 mg na 1 pilulku) kombinace aktivované potencionované formy protilátek. Každá složka této kombinace, použité k impregnaci nosiče, je ve formě směsi setinných homeopatických ředění, přednostně C12, C30 a C200.

5 Přestože vynález není omezen na konkrétní teorii, předpokládá se, že zde popisovaná aktivovaná potencionovaná forma protilátek neobsahuje molekulární formu protilátky v natolik dostatečném množství, aby bylo možné biologickou aktivitu připsat takové molekulární formě. Biologická aktivita farmaceutického přípravku podle vynálezu a kombinovaného farmaceutického přípravku podle vynálezu je dostatečně prokázána v připojených příkladech.

10 Farmaceutický přípravek obsahující aktivovanou potencionovanou formu protilátek proti lidskému kanabinoidního receptoru může být použit pro podávání pacientům s obezitou a souvisejícími metabolickými poruchami.

15 Jak je uvedeno v připojených příkladech, podávání aktivované potencionované formy protilátky podle vynálezu má za následek snížení tělesné hmotnosti, snížení růstu tělesné hmotnosti, snížení centrální obezity a usnadnit snížení spotřeby potravin.

V jednom z provedení poskytuje tento vynález způsob léčení obezity a souvisejících metabolických poruch podáním farmaceutických přípravků, obsahujících aktivovanou potencionovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidního receptoru, přednostně kanabinoidního receptoru 1.

20 V jiném provedení vynález poskytuje způsob usnadňující snížení spotřeby potravy subjektem, u něž se očekává přínos z takového snížení, podáváním farmaceutického přípravku, obsahujícího aktivovanou potencionovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru, přednostně kanabinoidnímu receptoru 1.

25 V jiném provedení jsou k dispozici postupy pro změnu antropometrických parametrů, např. obvodu pasu, poměru obvodu pasu a boků a poměru obvodu pasu k výšce. V jednom z provedení jsou poskytnuty postupy pro zmenšení obvodu pasu subjektu, přičemž postup zahrnuje podávání, u subjektu, který to potřebuje, farmaceutických přípravků obsahujících aktivovanou potencionovanou formu protilátek proti lidskému kanabinoidnímu receptoru v množství účinném pro zmenšení obvodu pasu subjektu. V jednom provedení je lidským kanabinoidním receptorem lidský
30 kanabinoidní receptor 1. V jednom provedení se obvod pasu subjektu zmenší



nejméně o asi 1 %. V jiných provedeních se obvod pasu subjektu zmenší nejméně o asi 1,5 %, 2 %, 2,5 %, 3 % nebo 3,5 % v porovnání se subjektem před podáváním farmaceutických přípravků obsahujících aktivovanou potencovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidního receptoru. V jednom provedení se obvod pasu subjektu zmenší nejméně o asi 1 cm. V jiných provedeních se obvod pasu subjektu zmenší nejméně o asi 2 cm, 3 cm nebo 4 cm v porovnání se subjektem před podáváním farmaceutických přípravků obsahujících aktivovanou potencovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru.

V jiném provedení jsou poskytnuty postupy pro snížení tělesné hmotnosti subjektu, přičemž způsob zahrnuje podávání u subjektu, který to potřebuje, farmaceutických přípravků obsahujících aktivovanou potencovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru v množství účinném pro zmenšení tělesné hmotnosti subjektu. V jednom provedení je lidským kanabinoidním receptorem lidský kanabinoidní receptor 1. V jednom provedení se tělesná hmotnost subjektu zmenší nejméně o asi 15 %. V jiných provedeních se tělesná hmotnost subjektu zmenší o asi 5 %, 10 % nebo 15 % v porovnání se subjektem před podáváním farmaceutických přípravků obsahujících aktivovanou potencovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru.

V jiném provedení jsou poskytnuty postupy pro omezení růstu tělesné hmotnosti subjektu, přičemž postup zahrnuje podávání subjektu, který to potřebuje, farmaceutických přípravků, obsahujících aktivovanou potencovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru v množství účinném pro omezení růstu tělesné hmotnosti subjektu. V jednom provedení je lidským kanabinoidním receptorem lidský kanabinoidní receptor 1. V jednom provedení je růst tělesné hmotnosti subjektu omezen o nejméně asi 60 %. V jiných provedeních je růst tělesné hmotnosti subjektu omezen o nejméně asi 10 %, 25 %, 30 %, 50 %, nebo 60 % v porovnání se subjektem před podáváním farmaceutických přípravků obsahujících aktivovanou potencovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru.

Farmaceutický přípravek obsahující aktivovanou potencovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru a aktivovanou potencovanou formu

protilátky proti proteinu S-100 může být použit pro podávání pacientům trpícím závislostí na psychoaktivních látkách, přednostně závislostí na nikotinu.

Přihlašovatel překvapivě zjistil, že kombinace aktivované potencionované formy protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru s aktivovanou potencionovanou formou protilátky proti proteinu S-100 je použitelná při léčení drogové závislosti.

V jednom provedení je kombinace aktivované potencionované formy protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru s aktivovanou potencionovanou formou protilátky proti proteinu S-100 použitelná při léčení závislosti na nikotinu.

Podávání farmaceutického přípravku, obsahujícího aktivovanou potencionovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru 1 a aktivovanou potencionovanou formu protilátky proti proteinu S-100 při léčbě pacientů s nikotinovou závislostí zlepšuje parametry kvality života, hodnocené takovými měřítky, jako jsou deprese a úzkost.

Bylo experimentálně prokázáno, že podávání farmaceutického přípravku obsahujícího aktivovanou potencionovanou formu protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru 1 a aktivovanou potencionovanou formu protilátky proti proteinu S-100 při léčbě pacientů se závislostí na nikotinu zvyšuje schopnost tolerovat odvykání kouření jednodušeji a snadněji, měřeno analýzou údajů testu MPSS.

Bylo experimentálně prokázáno, že podávání přípravku pacientům s nepříliš závažnou nikotinovou závislostí > 4 , měřeno Fageströmovým testem nikotinové závislosti, vede ke snížení kouření o nejméně 23 % za 4 týdny; nejméně 36 % za 8 týdnů a nejméně o 41 % za 12 týdnů. Bylo také experimentálně prokázáno, že podávání přípravku pacientům s nepříliš závažnou závislostí na nikotinu vede ke statisticky významnému snížení počátečního průměrného počtu bodů ve Fagerströmově testu o nejméně $1,34 \pm 0,14$.

Bylo experimentálně prokázáno, že podávání přípravku pacientům s těžkou závislostí na nikotinu ≥ 7 , měřeno Fageströmovým testem nikotinové závislosti, vede ke snížení kouření o nejméně 11 % za 4 týdny; nejméně 22 % za 8 týdnů a nejméně 30 % za 12 týdnů. Bylo také experimentálně prokázáno, že podávání přípravku pacientům s nepříliš závažnou závislostí na nikotinu vede ke statisticky významnému



snížení počátečního průměrného počtu bodů ve Fagerströmově testu o nejméně $4,42 \pm 0,30$.

V jednom provedení se rovněž uvažuje samostatné podávání přípravku ve dvou nezávisle připravených lékových formách jednotkové dávky, z nichž každá obsahuje
5 jednu z aktivovaných potencovaných forem protilátek.

Vynález je dále objasněn s odkazem na připojené neomezující příklady.

PŘÍKLADY

PŘÍKLAD 1.

10 Ve dvou režimech, v režimu agonisty a v režimu antagonisty, byl *in vitro* testován účinek ultra-nízkých dávek polyklonálních králíčích protilátek proti lidskému kanabinoidnímu receptoru typu 1 (ULD anti-CB1), čištěnému antigenem, získaných hyper-zředěním počátečního základního roztoku 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} krát (směs setinných homeopatických ředění C12, C30 a C200) na funkci kanabinoidního
15 receptoru typu 1.

Režim agonisty:

Před zavedením do jamek na desce (deska s 96 jamkami o objemu po 250 μ l) byly buňky suspendovány v HBSS pufru (Invitrogen), který obsahoval 20 mM HEPES (pH = 7,4). Buňky byly předtím inkubovány po dobu 10 minut při teplotě
20 místnosti s přidáním 20 μ l preparátu ULD anti-CB1. Po preinkubaci byl přidán aktivátor adenylátcyklázy NKH477. Buňky byly lyzovány inkubací po dobu 10 minut při teplotě 37 °C. Do jamek byly přidány fluorescenční akceptor (cAMF, značený D2) a fluorescenční donor (protilátky cAMF, značené europium kryptátem).

Jako základní kontrola byla buněčná suspenze předem inkubována místo ULD
25 anti-CB1 s pufrem HBSS (20 μ l). Jako stimulovaná kontrola byla buněčná suspenze předem inkubována místo ULD anti-CB1 s referenčním agonistou CP 55940 (20 μ l).

Funkční aktivita (koncentrace cAMF) byla hodnocena homogenní fluorescenční metodou s časovým rozlišením (HTRF). Intenzita fluorescence v základní kontrole



byla považována za pozadí a její hodnota byla odečtena od intenzity fluorescence zjištěné u experimentu (ULD anti-CB1) a kontroly (CP 55940):

5 Změřená specifická reakce buňky na zavedení ULD anti-CB1 byla vypočtena podle vzorce: intenzita fluorescence v experimentu (ULD anti-CB1) — intenzita fluorescence bazální kontroly.

Změřená specifická reakce buňky na zavedení referenčního agonisty (CP 55940) byla vypočtena podle následujícího vzorce: intenzita fluorescence kontroly (CP 55940) minus intenzita fluorescence bazální kontroly.

10 Výsledky byly vyjádřeny v procentech specifické odpovědi buňky na zavedení referenčního agonisty v stimulované kontrole:

Odpověď referenčního agonisty (v procentech) = ((naměřená specifická reakce / specifická reakce kontroly na zavedení referenčního agonisty) x 100 %).

Režim antagonisty:

15 Před zavedením do jamek na desce (deska s 96 jamkami o objemu po 250 µl), byly buňky suspendovány v HBSS pufru (Invitrogen), který obsahoval 20 mM HEPES (pH = 7,4). Buňky byly předtím inkubovány po dobu 5 minut při teplotě místnosti s přidáním 20 µl roztoku ULD anti-CB1. Po přidání referenčního CP 55940 agonisty do jamek byly buňky inkubovány po dobu 10 minut při teplotě místnosti. Do jamek byl pak přidán aktivátor adenylátcyklázy NKH477. Buňky byly lyzovány
20 inkubací po dobu 10 minut při teplotě 37 °C. Do jamek byly přidány fluorescenční akceptor (cAMF, označený D2) a fluorescenční donor (protilátky cAMF, značené europium kryptátem).

Jako základní kontrola byla buněčná suspenze předem inkubována místo ULD anti-CB1 s referenčním antagonistou AM 281 (20 µl). Do jamek se základní
25 kontrolou nebyl přidán referenční agonista CP 55940. U stimulované kontroly byla buněčná suspenze předem inkubována v přítomnosti pufru HBSS, který obsahoval 20 mM HEPES (pH = 7,4) a referenčního agonistu CP 55940 (20 µl).

Funkční aktivita (koncentrace cAMF) byla hodnocena homogenní fluorescenční metodou s časovým rozlišením (HTRF). Intenzita fluorescence v základní kontrole



byla považována za pozadí a její hodnota byla odečtena od intenzity fluorescence zjištěné u experimentu (ULD anti-CB1) a kontroly (CP 55940):

5 Změřená specifická reakce buňky na zavedení ULD anti-CB1 byla vypočtena podle vzorce: intenzita fluorescence v experimentu (ULD anti-CB1) — intenzita fluorescence bazální kontroly.

Změřená specifická reakce buňky na zavedení referenčního agonisty (CP 55940) byla vypočtena podle následujícího vzorce: intenzita fluorescence kontroly (CP 55940) minus intenzita fluorescence bazální kontroly.

10 Výsledky byly vyjádřeny v procentech specifické odpovědi buňky na zavedení referenčního agonisty v kontrole:

Inhibice odpovědi referenčního agonisty (v procentech) = $100 \% - ((\text{naměřená specifická reakce} / \text{specifická reakce kontroly na zavedení referenčního agonisty}) \times 100 \%)$.

15 Jako výsledek tohoto šetření bylo prokázáno (viz tabulka 1), že ULD anti-CB1 mění funkční aktivitu kanabinoidního receptoru typu 1, měřeno vnitrobuněčnou intracelulární koncentrací cAMF.

20 Zkoušená látka (ultra-nízké dávky protilátek vůči kanabinoidnímu receptoru typu 1 (směs homeopatických ředění C12, C30 a C200) vykazovala aktivitu agonisty ke kanabinoidnímu receptoru typu 1. Velikost agonistického účinku byla 21 %, vztaženo k vlivu standardního agonisty CP 55940 (standardní agonistický účinek se bere jako 100 %).



Tabulka 1

receptor	testovaná látka	obsah ULD anti-CB1 v jamce (obj. %) (celkový objem v jamce byl 200 µl)	režim agonisty		režim antagonisty		vysvětlení
			% odpovědi k ULD anti-CB1	standardní agonista	% inhibice antagonisty	standardní antagonisty	
CB1 receptor	ULD anti-CB1	10 %	21	CP 55940	0	AM 281	ULD anti-CB1 vykazuje agonistický vliv o velikosti 21 % vzhledem ke standardnímu agonistovi

PŘÍKLAD 2

5 Zkoušenou látkou byl vodný roztok ultra-nízké dávky polyklonálních králíčích protilátek proti lidskému kanabinoidního receptoru typu 1 (ULD Anti-CB1), čištěnému antigenem, získaných hyper-zředěním počátečního základního roztoku 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} krát (směs setinných homeopatických ředění C12, C30 a C200).

10 Ve studii bylo použito 40 myších samců z linie C57B1 (hmotnost na začátku studie: 13,5-15,5 g). 10 myší obdrželo normální krmivo (standardní dietu); 30 myší obdrželo normální krmivo s vysoce kalorickými přísadami (vysokokalorická dieta) a současně buď destilovanou vodu (kontrola, 0,4 ml/myš) nebo subutramin (10 mg

15 tobolky Meridia, společnosti Abbott GmbH, Německo) (10 mg/kg) nebo ULD anti-CB1 (0,4 ml/myš). Všechny přípravky byly podávány ve stravě jednou denně v průběhu 5 měsíců. Byla změřena spotřeba krmiva myši před zavedením testovaných látek. Spotřeba krmiva myši byla také měřena každý týden poté. Spotřeba krmiva byla hodnocena jako průměrné množství potravy (v gramech), spotřebované myši po 1 a 2 měsících studie, a jako průměrné množství krmiva na

20 10 g hmoty myšího těla.

Během celého sledovaného období spotřebovaly myši na nízkokalorické dietě v průměru o 15 % méně krmiva než myši na vysokokalorické dietě (tabulka 2). Jak Subutramin, tak ULD anti-CB1 snižovaly spotřebu krmiva. Účinek subutraminu se



- projevoval poněkud výrazněji: týdenní spotřeba krmiva se snížila o 19,3 % ($p < 0,05$), zatímco ULD anti-CB1 snižovala spotřebu krmiva o 9,3 % vzhledem ke kontrole ($p > 0,05$). Tabulka 2 ukazuje výsledky studie, konkrétně vliv ULD anti-CB1 a subutraminu na spotřebu krmiva myši linie C57B1 (průměrné hodnoty po 5 měsících pozorování), $M \pm m$.

Tabulka 2

přípravek	denní spotřeba potravy (g/myš)	denní spotřeba potravy (gramů na 10 g tělesné hmotnosti myši)
standardní dieta	$2,95 \pm 1,42$	$1,35 \pm 0,05$
vysokokalorická dieta + destilovaná voda	$3,4 \pm 1,64^{\#}$	$1,54 \pm 0,05^{\#}$
vysokokalorická dieta + subutramin	$2,75 \pm 1,36^{**}$	$1,28 \pm 0,05^{**}$
vysokokalorická dieta + ULD anti-CB1	$3,10 \pm 2,02$	$1,44 \pm 0,08$

** - rozdíly od kontroly jsou statisticky významné na hladině $p < 0,01$;

- rozdíly od standardní diety jsou statisticky významné na hladině $p < 0,05$.

- 10 Ve dvacátém týdnu pokusu myši na vysokotučné dietě, které dostávaly ULD anti-CB1, spotřebovaly více krmiva v porovnání s prvním týdnem pokusu, což je zobrazeno na obrázku 1. Obrázek 1 ukazuje vliv ULD anti-CB1 a subutraminu na růst tělesné hmotnosti myši linie C57B1 a spotřebu potravy na 10 g hmotnosti po posledním 20. týdnu pokusu.
- 15 U myši, které dostávaly ULD anti-CB1, bylo pozorováno snížení růstu tělesné hmotnosti o 51,2 % v porovnání s kontrolou. Subutramin v posledním dvacátém týdnu pokusu snižoval tělesnou hmotnost o 51,5 % v porovnání s kontrolní skupinou.

PŘÍKLAD 3

- 20 Zkoušenou látkou byl vodný roztok ultra-nízké dávky polyklonálních králičích protilátek proti lidskému kanabinoidního receptoru typu 1 (ULD anti-CB1), čištěnému antigenem, získaných hyper-zředěním počátečního základního roztoku 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} krát (směs setinných homeopatických ředění C 12, C 30 a C 200).



Ve studii byly použito 33 myších samců z linie C57B1 (hmotnost na začátku studie: $13,09 \pm 0,738$ g). Myši přijímaly upravenou stravu s vysokým obsahem tuku (45 %) a současně buď destilovanou vodu (kontrola, 0,2 ml/myš) nebo subutramin (10 mg/kg) nebo ULD anti-CB1 (0,2 ml/myš). Všechny přípravky ULD anti-CB1 byly podávány ve stravě jednou denně v průběhu 2 měsíců. Hmotnost myši byla měřena na elektronické váze Philips Cucina HR 239016 (Maďarsko) před zahájením podávání přípravků (původně) a také každý týden po jejich zavedení. Růst tělesné hmotnosti myši byl vyjádřen v procentech počáteční hmotnosti.

Počínaje 6. týdnem od zavedení, snižovala ULD anti-CB1 růst tělesné hmotnosti myši, které byly udržovány na vysokotučné dietě. Tabulka 3 zobrazuje průměrnou týdenní hmotnost (g) myši z linie C57B16, které přijímaly vysokotučnou dietu a anti-CB1 (0,2 ml/myš) nebo subutramin (10 mg/kg) ($M \pm m$). Tabulka 3 ukazuje růst tělesné hmotnosti myši.

Tabulka 3

skupina	tělesná hmotnost (g), po týdnech studie								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
destilovaná voda	12,18 $\pm 0,501$	15,27 $\pm 0,982$	15,27 $\pm 0,488$	16,00 $\pm 0,972$	18,18 $\pm 0,569$	17,27 $\pm 0,557$	20,18 $\pm 0,501$	20,55 $\pm 0,608$	21,45 $\pm 0,857$
Δ k počátku		25,4	25,4	31,3	49,3	41,8	65,7	68,7	76,1
subutramin	13,82 $\pm 1,094$	13,45 $\pm 0,474$	16,73 $\pm 0,407^*$	19,82 $\pm 0,501^{**}$	20,18 $\pm 0,784$	20,91 $\pm 0,563^{**}$	22,36 $\pm 0,927$	23,64 $\pm 1,343$	22,91 $\pm 1,091$
Δ k počátku		-2,6	21,1	43,4	46,1	51,3	61,8	71,1	65,8
ULD anti-CB1	13,27 $\pm 0,619$	16,18 $\pm 0,182$	17,45 $\pm 0,282^{**}$	19,64 $\pm 0,453^{**}$	20,18 $\pm 0,423^*$	20,18 $\pm 0,423^{**}$	19,82 $\pm 0,501$	21,64 $\pm 0,364$	22,00 $\pm 0,467$
Δ k počátku		21,9	31,4	47,9	52,1	52,1	49,43	63,0	65,8

Poznámka: * - $p < 0,05$ vzhledem ke kontrolní skupině
 ** - $p < 0,001$ vzhledem ke kontrolní skupině

Jak je vidět, ULD anti-CB1 snižuje růst tělesné hmotnosti myši na vysokotučné dietě, snižuje spotřebu potravy a nemá nižší účinnost než známá, široce používaná sloučenina pro snížení tělesné hmotnosti, subutramin.



PŘÍKLAD 4.

300 mg tablety nasycené vodně-alkoholovým roztokem (6 mg/tabletu) aktivované
potencované formy polyklonálních králíčích protilátek proti lidskému kanabinoidnímu
receptoru 1, čištěnému antigenem, v ultra-nízkých dávkách, získaných hyper-
5 zředěním počátečního základního roztoku 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} krát (směs setinných
homeopatických ředění C 12, C 30 a C 200 (ULD anti-CB1)).

Na studii se podílelo 80 osob (20 mužů a 60 žen) ve stáří 20 až 69 let (průměrný
věk byl $40,2 \pm 1,26$ roků), z nichž 68,7 % trpělo nadměrnou tělesnou hmotností nebo
obezitou (stupeň I–III). Bylo jim podáváno po 1 tabletě 2 krát denně. Tabulka 4
10 zachycuje demografické a antropometrické ukazatele u pacientů zařazených do
studie. Údaje o všech osobách, které se podílely na studii ($n = 80$), byly zahrnuty do
analýzy bezpečnosti. Během celé doby pozorování osob byla zaznamenána dobrá
snášlivost přípravku. Nežádoucí účinky se nevyskytovaly. Všechny osoby ze
skupiny dokončily léčbu ve lhůtách stanovených protokolem studie, žádný z pacientů
15 předčasně nevypadl. Při hodnocení vlivu ULD anti-CB1 na změnu tělesné hmotnosti
osob bylo zjištěno, že použití přípravku vedlo ke snížení tělesné hmotnosti u 56
(70 %) pacientů. U 24 (30 %) pacientů hmotnost zůstala beze změny nebo se zvýšila
nevýznamně. Nicméně je třeba poznamenat, že z těchto pacientů mělo 14 (17,5 %),
zpočátku normální tělesnou hmotnost ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$).

20 Tabulka 4

parametr		hodnota	
věk (roků)	M $\pm$ m	$40,2 \pm 1,26$	
výška (cm)	M $\pm$ m	$167,1 \pm 0,89$	
hmotnost (kg)	M $\pm$ m	$80,3 \pm 1,85$	
pohlaví	muž	20 osob (25 %)	
	žena	60 osob (75 %)	
BMI, kg/m^2	M $\pm$ m	$28,7 \pm 0,6$	
BMI, kg/m^2	méně než 25	25 osob (31,3 %)	normální tělesná hmotnost
	25 – 29,99	28 osob (35 %)	nadměrná tělesná hmotnost (pre-obezita)
	30 – 34,99	20 osob (25 %)	obezita 1. stupně
	35 – 39,99	5 osob (6,2 %)	obezita 2. stupně
	40 nebo více	2 osoby (2,5 %)	obezita 3. stupně

Byl pozorován statisticky významný pokles tělesné hmotnosti ($p < 0,001$) s ohledem na pacienty, kteří reagovali na léčbu. Po pouhých 15 dnech podávání ULD anti-CB1, byla tělesná hmotnost snížena o 1,1 kg (1,3 %) a po 1 měsíci snížení dosáhlo 1,9 kg (2,2 %) z původní hodnoty (obr. 2).

- 5 S ohledem na pacienty, kteří reagovali na léčbu, byl statisticky významný pokles ($p < 0,001$) obvodu pasu a stehen pozorován již jeden (1) týden po začátku podávání ULD anti-CB1, a na konci léčby pokles dosáhl 2,3 %, resp. 2,7 %. Tabulka 5 uvádí dynamiku změn obvodu pasu a stehen.

Tabulka 5

	1. den (počátek)	7. den	14. den	15. den	16. den	22. den	29. den	30. den
obvod pasu, cm								
M $\pm$ m, cm	96,3 $\pm$ 1,97	95,2 $\pm$ 2,07 **	93,7 $\pm$ 1,82 ***	94,2 $\pm$ 1,96 ***	95,1 $\pm$ 2,16 ***	94,5 $\pm$ 2,16 ***	94,3 $\pm$ 2,10 ***	94,1 $\pm$ 2,07 ***
Δ od počátku, %		- 1,1 %	- 2,7 %	- 2,2 %	- 1,2 %	- 1,9 %	- 2,1 %	- 2,3 %
obvod stehen, cm								
M $\pm$ m, cm	110,8 $\pm$ 1,52	110,8 $\pm$ 1,66 ***	109,3 $\pm$ 1,37 ***	109,9 $\pm$ 1,50 ***	108,7 $\pm$ 1,60 ***	108,3 $\pm$ 1,56 ***	108,1 $\pm$ 1,58 ***	107,8 $\pm$ 1,69 ***
Δ od počátku, %		- 0,0 %	- 1,4 %	- 0,8 %	- 1,9 %	- 2,3 %	- 2,4 %	- 2,7 %

- 10 ** - $p < 0,01$ vzhledem k počáteční hodnotě; *** - $p < 0,001$ vzhledem k počáteční hodnotě

- Při hodnocení pacientova pocitu hladu na vizuální analogové stupnici (VAS) byla největší intenzita pocitu hladu zaznamenána ve večerních hodinách. Na konci 1. měsíce po začátku podávání ULD anti-CB1 byla úroveň hladu ve večerních
 15 hodinách výrazně snížena ($s p < 0,001$) ze $49,4 \pm 3,75$ na $42,0 \pm 4,32$ bodů. Byla též zaznamenána tendence ke snížení pocitu hladu ráno a během dne ($z 20,5 \pm 3,23$ na $13,6 \pm 1,78$ bodů v ranních hodinách, a ze $44,7 \pm 3,45$ na $27,3 \pm 3,72$ bodů přes den). Přestože data vztahující se k rannímu hladu nedosáhla na konci léčby statisticky významné hodnoty, což lze vztáhnout k nevysokým počátečním hodnotám, nelze
 20 dynamiku ignorovat.



Provedené klinické studie ULD anti-CB1 tak potvrdily vysokou toleranci zkoušeného přípravku; po užívání zkoušeného přípravku nebyly pozorovány žádné nežádoucí účinky.

5 PŘÍKLAD 5. Fagerströmův test závislosti na nikotinu

Tento příklad představuje samotný test. Příslušné údaje jsou uvedeny samostatně dále zde níže. Fagerströmův test nikotinové závislosti je test pro posouzení intenzity závislosti na nikotinu, viz Heatherton, T.F., Kozlowski, L.T., Frecker, R.C., Fagerström, K.O. The Fagerström test for Nicotine Dependence: A revision of the Fagerström Tolerance Questionnaire. Br J Addict 1991; 86: 1119-27, na nějž zde odkazujeme. Ve studiích popsanych dále v tomto dokumentu níže, pacienti odpověděli na všechny otázky. Celkové skóre udává míru závislosti na nikotinu. Stupeň závislosti na nikotinu je hodnocen součtem skóre takto: méně než 4 - slabá závislost, 4-6 - průměrný stupeň závislosti a 7-10 - silná závislost

15 Tabulka 6

1. Za jak dlouho po probuzení kouříte svou první cigaretu?	
více než 60 minut	0
31 až 60 minut	1
6 až 30 minut	2
méně než 5 minut	3
2. Je pro Vás obtížné nekouřit tam, kde je to zakázáno, například na schůzích, v letadle, v kině apod.?	
ne	0
ano	1
3. Které cigarety je pro Vás nejtěžší se vzdát?	
první ranní	1
kterékoliv jiné	0
4. Kolik cigaret denně vykouříte?	
10 nebo méně	0
11–20	1
21–30	2



31 nebo více	3
5. Kouříte více v prvních ranních hodinách, než v jinou denní dobu?	
ne	0
ano	1
6. Kouříte, i když jste nemocni a musíte zůstat většinu dne na lůžku?	
ne	0
ano	1

PŘÍKLAD 6. Stupnicový test nálady a fyzických příznaků (MPSS).

- Tento příklad uvádí samotný test. Dále níže jsou zde uvedeny samostatně
 5 příslušné údaje. V níže popsaných studiích odpovídali pacienti, kteří se vzdali
 kouření, na 12 otázek (skóre bylo hodnoceno 1 až 5 body za každou otázku),
 k vyhodnocení pocitů během posledních 24 hodin (otázky 1-7), přitažlivosti kouření
 (otázky 8-9) a projevů fyzických příznaků (otázky 10-12). Pacienti kroužkují pouze
 jedno číslo pro každou otázku. Souhrn výsledků lze rozdělit do tří oblastí (M - otázky
 10 1-7, C - otázky 8-9 a P - otázky 10-12), nebo na celkové skóre, které se může lišit
 od minima (12 bodů) po maximum (60 bodů), což odráží úroveň příznaků při
 abstinenci nikotinu.

Tabulka 7

- 15 Uvedte pro každou otázku, jak jste se cítil během posledních 24 hodin (*Zakroužkujte
 pouze jedno číslo pro každou otázku*)

	vůbec	mírně zvýšeně	silněji	velmi silně	mimořádně silně
1. deprese	1	2	3	4	5
2. úzkost	1	2	3	4	5
3. podráždění	1	2	3	4	5
4. strach	1	2	3	4	5
5. pocit hladu	1	2	3	4	5
6. nepozornost	1	2	3	4	5
7. poruchy spánku	1	2	3	4	5



8. Jak dlouho jste pociťoval chuť kouřit v posledních 24 hodinách? (Zakroužkujte pouze jedno číslo)

ani jednou	nepříliš dlouho	menší část dne	většinu dne	téměř vždy	stále
0	1	2	3	4	5

9. Jak silná byla touha kouřit? (Zakroužkujte pouze jedno číslo)

vůbec	mírná	střední	silná	velmi silná	mimořádně silná
0	1	2	3	4	5

Vyskytly se některé projevy v posledních 24 hodinách? (Zakroužkujte pouze jedno číslo)

	ne	mírná	střední	silná	velmi silná
10. bolesti v ústech	1	2	3	4	5
11. zácpa	1	2	3	4	5
12. kašel / bolest v krku	1	2	3	4	5

- 5 West. R., Hajek, P. Evaluation of the mood and physical symptoms scale (MPSS) to assess cigarette withdrawal. *Psychopharmacology*, 2004; Volume 177, Numbers 1-2, 195-199, uvedeno zde jako odkaz.

10 PŘÍKLAD 7. Míra úzkosti a deprese z hospitalizace (HADS).

Tento příklad uvádí samotný test. Příslušné údaje jsou uvedeny samostatně dále zde níže. Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) je subjektivní stupnice pro prověřování příznaků úzkosti a deprese u hospitalizovaných a ambulantních pacientů. Viz Zigmond, A.S., Snaith, R.P. Hospital Anxiety and Depression Scale //

- 15 Acta Psychiatr. Scand. – 1983. - svazek 67. – str. 361-370, zde uvedeno jako odkaz.

Způsob aplikace: Formulář stupnice je dán pacientovi k vyplnění a je doprovázen následujícími pokyny:

- 20 „Vědci se domnívají, že emoce hrají důležitou roli v počátku většiny nemocí. Pokud Váš lékař ví víc o Vašich zkušenostech, může Vám lépe pomoci. Tento dotazník má Vašemu lékaři pomoci pochopit, jak se cítíte. Nevěnujte pozornost číslům a písmenům v levé části dotazníku. Pozorně si přečtete každé tvrzení



a do prázdného prostoru na levé straně vložte „X“ vedle odpovědi, která nejlépe odpovídá tomu, jak jste se cítil minulý týden. Nepřemýšlejte příliš o každém tvrzení. Vaše první reakce bude vždy nejlepší.“

- 5 Stupnice obsahuje 14 tvrzení rozdělených do 2 podstupnic: „úzkost“ (liché otázky - 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13) a „deprese“ (sudé otázky - 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14). Každé tvrzení má 4 možné odpovědi, které odrážejí závažnost pocitu nebo emoce a stupňovitě charakterizují závažnost příznaků od 0 (absence) do 3 (maximum).

- 10 Při interpretaci výsledků je pro každou podstupnici vzat v úvahu celkový ukazatel, rozdělený do 3 oblastí hodnot: 0-7, označující „normálnost“ (nepřítomnost spolehlivě projeveného příznaku úzkosti a deprese); 8-10, označující „subklinickou úzkost /depresi“ a 11 a více, což ukazuje na „klinickou úzkost/depresi“.

Tabulka 8

1	Pocituji napětí, nejsem ve své kůži	--- vždy	3
		--- často	2
		--- čas od času, občas	1
		--- nemám zkušenost	0
2	Co mne dříve velmi uspokojovalo, dává mi stále stejný pocit	--- rozhodně ano	0
		--- pravděpodobně ano	1
		--- jen v malé míře	2
		--- vůbec ne	3
3	Mám pocit, že se stane něco zlého	--- určitě ano, a strach je velmi silný	3
		--- ano, ale strach není příliš silný	2
		--- občas, ale nevádí mi to	1
		--- nemám takovou zkušenost	0
4	Jsem schopen se smát a vidět něco vtipného v té či oné události	--- rozhodně ano	0
		--- pravděpodobně ano	1
		--- jen v malé míře	2
		--- nejsem vůbec schopen	3
5	Mám znepokojivé myšlenky	--- stále	3



		--- po většinu času	2
		--- čas od času	1
		--- jen někdy	0
6	Mám dobrou náladu	--- nikdy	3
		--- velmi zřídka	2
		--- občas	1
		--- téměř vždy	0
7	Je pro mne snadné posadit se a relaxovat	--- určitě	0
		--- pravděpodobně	1
		--- pouze zřídka	2
		--- nikdy	3
8	Zdá se mi, že jsem začal dělat všechno pomalu	--- téměř vždy	3
		--- často	2
		--- občas	1
		--- nikdy	0
9	Prožívám vnitřní napětí nebo třes	--- nikdy	0
		--- občas	1
		--- často	2
		--- velmi často	3
10	Nezáleží mi na mém vzhledu	--- je to tak	3
		--- nevěnuji mu tolik času, kolik bych měl	2
		--- připouštím, že jsem mu začal věnovat menší pozornost	1
		--- dbám o sebe stejně jako dříve	0
11	Pocituji neklid, jako bych se neustále musel pohybovat	--- rozhodně ano	3
		--- pravděpodobně ano	2
		--- jen v malé míře	1
		--- nemám takovou zkušenost	0
12	Cítím, že mé věci (usilování, zájmy) mi mohou přinést pocit uspokojení	--- stejně jako dříve	0
		--- ano, ale ne tolik jako dříve	1
		--- výrazně méně než dříve	2
		--- vůbec to tak necítím	3
13	Mám náhlé pocity paniky	--- velmi často	3
		--- často	2

		--- nepříliš často	1
		--- nikdy	0
14	Mohu nalézt uspokojení v dobré knize, rozhlasovém nebo televizním programu	--- často	0
		--- občas	1
		--- zřídka	2
		--- velmi zřídka	3

Zigmond, A. S., Snaith, R.P. The Hospital Anxiety and Depression scale // Acta Psychiatr. Scand. – 1983. - sv. 67, - str. 361-370, uvedeno zde jako odkaz.

PŘÍKLAD 8. Srovnávací, dvojité slepá, placebem kontrolovaná klinická studie s cílem zhodnotit kombinaci ultra-nízké dávky protilátek proti proteinu S-100 a ultra-nízké dávky protilátek proti receptoru CB1, s ultra-nízkou dávkou protilátek proti receptoru CB1 pro léčbu střední závislosti na nikotinu a obezity.

Ve studii (ULD anti-S100 + ULD anti-CB1) byly použity 300 mg tablety nasycené vodně-alkoholovým roztokem (6 mg na každou tabletu) polyklonálních králíčích protilátek proti specifickému mozkovému proteinu S-100 (ULD anti-S100) a proti lidskému kanabinoidnímu receptoru typu 1 (ULD anti-CB1), v ultra-nízkých dávkách, získaných hyper-zředěním počátečního základního roztoku 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} krát (směs setinných homeopatických ředění C12, C30 a C200). Ve studii byly též použity 300 mg tablety nasycené vodně-alkoholovým roztokem (6 mg/tabletu) polyklonálních králíčích protilátek proti lidskému kanabinoidnímu receptoru typu 1 (ULD anti-CB1), v ultra-nízkých dávkách, získaných hyper-zředěním počátečního základního roztoku 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} krát (směs setinných homeopatických ředění C12, C30 a C200).

59 pacientů s přáním přestat kouřit bylo zahrnuto do srovnávací, dvojité slepé, placebem kontrolované studie hodnotící účinnost kombinace ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 a anti-CB1 při léčbě závislosti na nikotinu. 22 pacientů bylo zařazeno do skupiny aktivního přípravku a dostávali ULD anti-S100 + ULD anti-CB1, 1 tabletu třikrát denně. 17 pacientů bylo zahrnuto do skupiny porovnávacího přípravku a dostávali ULD anti-CB1, 1 tabletu třikrát denně. 20 pacientů bylo zařazeno do skupiny placebo a dostávali 1 tabletu třikrát denně (tableta granulované laktózy

a pomocných látek bez účinných látek). Terapie trvala 12 týdnů. Všechny tři skupiny pacientů byly srovnatelné v počátečních demografických, antropometrických i klinických laboratorních ukazatelích. Všichni pacienti měli nikotinovou závislost menšího stupně podle Fagerströмова testu (méně než 4 body), kouřili nejméně jeden rok a měli 1. stupeň obezity (body mass index [BMI] = 30,0-34,9 kg/m²). Všichni pacienti ve studii dokončili léčbu v období požadovaném protokolem studie, žádný z pacientů nevypadl předčasně.

Analýza dat ukázala, že počet pacientů, kteří se vzdali kouření, vzrostl mezi pacienty, kteří dostávali ULD anti-S100 + ULD anti-CB1, a ULD anti-CB1 (tabulka 9). Ve skupině ULD anti-S100+ULD podíl pacientů, kteří přestali kouřit do 4 týdnů léčby, byl 23 %, v 8 týdnech 36 %, a na konci po 12 týdnech dosáhl 41 %. Ve skupině ULD anti-CB1 byly odpovídající ukazatele 12 %, 24 % a 29 % (ve srovnání s 5 %, 5 % a 10 % ve skupině s placebem). Rozdíl v účinnosti léčby v souladu s hlavním parametrem účinnosti ve srovnání s terapií placebem byl 31 % (pro skupinu ULD anti-S100+ULD) a 19 % (pro skupinu ULD anti-CB1), a byl statisticky významný.

Vyhodnocení účinku ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 ukázalo podstatný pokles závislosti na nikotinu, a to jak pro skupinu jako celek, tak pro podskupinu pacientů, kteří nebyli schopni přestat kouřit. Počáteční průměrné celkové skóre ve Fagerströmově testu bylo $2,67 \pm 0,14$. Po 12 týdnech léčby se snížilo na $1,33 \pm 0,14$, navíc byl pokles statisticky významný, a to nejen ve srovnání s původními indikátory, ale též ve srovnání se skupinou s placebem. U pacientů, kteří užívali ULD anti-CB1 a kteří nepřestali kouřit, se také ukázala pozitivní dynamika s ohledem na projevy jejich závislosti na nikotinu, která na konci 3 měsíců léčby byla významně nižší ve srovnání s původními úrovněmi a s placebem.

Analýza dat z testu Stupnice nálady a fyzických příznaků (MPSS) ukázala, že u pacientů, kteří vzdali kouření, se postupně snižovaly nikotinové abstinenci příznaky, jež dosáhly minimálních hodnot 12 týdnů po začátku léčby jak pro ULD anti-S100 + ULD anti-CB1, tak pro ULD anti-CB1 (tabulka 9). Nejnižší celkové skóre bylo zaznamenáno ve skupině ULD anti-S100 + ULD anti-CB1, což ukazuje, že podávání kombinace ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 a ULD anti-CB1 umožňuje



snášet odvykání kouření jednodušeji a snadněji ve srovnání se samotným ULD anti-CB1.

Tabulka 9

Dynamika základních ukazatelů v závislosti na formě terapie

období	ULD anti-S100+ULD anti-CB1 (M ± SE)	ULD anti-CB1 (M ± SE)	placebo (M ± SE)
Fagerströmův test, body (n – počet kuřáků)			
počátek	2,64 ± 0,10 (n=22)	2,65 ± 0,12 (n=17)	2,65 ± 0,11 (n=20)
počátek	2,67 ± 0,14 (n=12)	2,58 ± 0,14 (n=12)	2,66 ± 0,11 (n=18)
12 týdnů	1,33 ± 0,14* # (n=12)	1,25 ± 0,13* (n=12)	2,39 ± 0,26 (n=18)
Podíl pacientů, kteří přestali kouřit, %			
4 týdny	23 % (n= 5)	12 % (n=2)	5 % (n=1)
8 týdnů	36 % (n= 8)	24 % (n=4)	5 % (n=1)
12 týdnů	41 % (n=10)	29 % (n=5)	10 % (n=2)
Stupeň abstinenčních příznaků (MPSS), body (n – počet odvykajících kouření)			
4 týdny	33,4 ± 1,25 (n= 5)	33,00 ± 2,00 (n=2)	36 (n=1)
8 týdnů	28,12 ± 1,02 (n= 8)	25,50 ± 2,22 (n=4)	34 (n=1)
12 týdnů	14,85 ± 2,41* ** (n=10)	20,80 ± 1,62* (n=5)	32,50 ± 0,50 (n=2)
Míra úzkosti a deprese z hospitalizace (HADS), body (n – počet zkoumaných pacientů)			
počátek	11,73 ± 0,36 (n=22)	11,41 ± 0,50 (n=17)	11,4 ± 0,44 (n=20)
4 týdny	10,32 ± 0,32 (n=22)	10,47 ± 0,30 (n=17)	11,95 ± 0,45 (n=20)
8 týdnů	8,59 ± 0,33 (n=22)	9,88 ± 0,32 (n=17)	12,55 ± 0,35 (n=20)
12 týdnů	7,68 ± 0,46* # (n=22)	9,41 ± 0,35 (n=17)	12,05 ± 0,18 (n=20)

- 5 Poznámka: * statisticky významný rozdíl proti skupině užívající placebo, $p < 0,05$;
 ** statisticky významný rozdíl mezi skupinou ULD anti-S100 + ULD anti-CB1
 a skupinou ULD anti-CB1, $p < 0,05$;
 # statisticky významný rozdíl proti počátečním hodnotám

Všechny skupiny pacientů zahrnutých do studie obsahovaly pacienty s prvním stupněm obezity. Body Mass Index (BMI) byl měřen v pravidelných intervalech u pacientů ve všech skupinách ve studii. Výsledky studie jsou uvedeny v tabulce 10.

5

Tabulka 10

Průměrné rozdíly mezi počáteční a aktuální hmotností (v kg) při každé návštěvě

období	ULD anti-S100+ULD anti-CB1 (n=22; M ± SE)	ULD anti-CB1 (n=17; M ± SE)	placebo (n=20; M ± SE)
0	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0
2 týdny	-1,2 ± 0,5	-0,9 ± 0,3	-0,4 ± 0,2
4 týdny	-1,7 ± 0,4	-1,5 ± 0,5	-0,5 ± 0,4
6 týdnů	-2,5 ± 0,4	-2,2 ± 0,6	-1,3 ± 0,4
8 týdnů	-3,1 ± 0,7*	-2,8 ± 0,7*	-1,3 ± 0,4
10 týdnů	-3,8 ± 0,6*	-3,4 ± 0,8*	-1,8 ± 0,5*
12 týdnů	-4,2 ± 0,9*	-3,8 ± 1,0*	-1,8 ± 0,6*

Poznámka: Pro hodnocení statistické významnosti změn hmotnosti při kontrolní návštěvě (návštěva 0) v porovnání se všemi příštími návštěvami byl použit Studentův dvoustranný test v modifikaci podle Dunnetta.

10

Významné rozdíly ($p < 0,05$) jsou označeny hvězdičkou.

15

V důsledku této 12-týdenní léčby se tělesná hmotnost u obou testovacích skupin výrazně snížila ve srovnání s placebem. Ve 3 měsících léčby zhruba polovina pacientů (52 % a 47 %) ve dvou zkušebních skupinách snížila svou hmotnost o 5 % nebo více, ve srovnání s počátečním stavem (ve srovnání s 15 % pacientů ve skupině s placebem; $p < 0,05$) (obrázek 3).

20

Hodnocení bezpečnosti léčby, prováděné na základě záznamu o nežádoucích příhodách během léčby a následnou studií laboratorních ukazatelů, prokázalo dobrou snášenlivost jak ULD anti-S100 + ULD anti-CB1, tak i ULD anti-CB1. Bezpečnostní analýza zahrnovala data všech pacientů, kteří se podíleli na studii ($n = 59$). Nebyl odhalen žádný negativní vliv léčby na centrální nervový systém; nebyly přítomny



příznaky psychiatrických následků. Tento závěr byl potvrzen sledováním ukazatelů pomocí testu Míra úzkosti a deprese z hospitalizace (HADS) (tabulka 9). Kombinace ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 prokázala pozitivní vliv na symptomy úzkosti a deprese, které byly na konci léčby ve srovnání s oběma počátečními hodnotami a placebem výrazně sníženy. Nevyskytovaly se nežádoucí účinky. Laboratorní ukazatele, včetně obecné a biochemické analýzy krve a klinické analýzy moči, neprokázaly žádné významné odchylky od normálních hodnot.

To znamená, že studie prokázaly účinnost a bezpečnost kombinace ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 a ULD anti-CB1 při léčbě závislosti na nikotinu. Účinky ošetření byly patrné z vysokého procenta pacientů, kteří se vzdali kouření, snížení abstinenčních příznaků v průběhu léčby, a snížení závislosti na nikotinu u těch pacientů, kterým se nepodařilo přestat kouřit. Všechny pozorované účinky byly statisticky významné ve srovnání s placebem. Účinnost kombinace ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 překročila účinnost ULD anti-CB1 samotné. Bezpečnostní profil byl vynikající jak pro kombinaci ULD anti-S100 + ULD anti-CB1, tak i ULD anti-CB1. Ani kombinace ULD anti-S100 + ULD anti-CB1, ani ULD anti-CB1 nevedly k výskytu klinických projevů úzkosti a/nebo deprese. Byl také prokázán pokles tělesné hmotnosti u pacientů s prvním stupněm obezity.

PŘÍKLAD 9. Srovnávací dvojitě slepá, placebem kontrolovaná klinická studie s cílem zhodnotit kombinaci ultra-nízkých dávek protilátek proti S-100 proteinu, ultra-nízkých dávek protilátek proti receptoru CB1, a ultra-nízké dávky protilátek proti receptoru CB1 při léčbě těžké závislosti na nikotinu.

Ve studii byly použity 300 mg tablety nasycené vodně-alkoholovým roztokem (6 mg/tabletu) polyklonálních králičích protilátek proti specifickému mozkovému proteinu S-100 (ULD anti S-100) a proti kanabinoidnímu receptoru typu 1 (ULD anti-CB1), v ultra-nízkých dávkách, získaných hyper-zředěním počátečního základního roztoku 100¹², 100³⁰, 100²⁰⁰ krát (směs setinných homeopatických ředění C 12, C 30 a C 200 (ULD anti S-100 + ULD anti-CB1). Ve studii byly použity také 300 mg tablety nasycené vodně-alkoholovým roztokem (6 mg/tabletu) polyklonálních králičích protilátek proti kanabinoidnímu receptoru 1 (ULD anti-CB1), v ultra-nízkých dávkách,



získaných hyper-zředěním počátečního základního roztoku 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} krát (směs setinných homeopatických ředění C 12, C 30 a C 200).

K vyhodnocení účinnosti ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 v léčbě těžké závislosti na nikotinu byla provedena srovnávací, dvojité slepá, placebem kontrolovaná studie s účastí 61 pacientů, kteří byli náhodně rozděleni do tří skupin takto: 18 pacientů v první skupině (ULD anti-S100 + ULD anti-CB1, 1 tableta čtyřikrát denně), 22 pacientů ve druhé skupině (ULD anti-CB1, 1 tableta čtyřikrát denně) a 21 pacientů v placebové skupině (1 tableta čtyřikrát denně) (tableta granulované laktózy a pomocných látek bez účinných látek). Terapie trvala 12 týdnů. Pacienti tří skupin byli porovnáváni podle počátečních ukazatelů, včetně demografických, fyzických a laboratorních. Podle prvotních výsledků Fagerströмова testu měli všichni účastníci těžkou závislost na nikotinu (≥ 7 bodů) a kouřili déle než tři roky. Pacienti byli monitorováni při měsíčních návštěvách a podrobeni fyzickým a laboratorním vyšetřením a testům (Fagerströmův test, test Míra úzkosti a deprese z hospitalizace [HADS]). U pacientů, kteří se vzdali kouření, byly měřeny abstinenci příznaky testem Stupnice nálady a fyzických příznaků [MPSS]. Všichni pacienti dokončili léčbu v obdobích stanovených protokolem studie, žádný z pacientů předčasně nevypadl.

Výsledky studie jsou uvedeny v tabulce 11:

Tabulka 11. Dynamika základních ukazatelů v závislosti na formě terapie

období	ULD anti-S100+ULD anti-CB1 (M $\pm$ SE)	ULD anti-CB1 (M $\pm$ SE)	placebo (M $\pm$ SE)
Fagerströmův test, body (n – počet kuřáků)			
počátek	8,78 $\pm$ 0,26 (n=18)	8,55 $\pm$ 0,26 (n=22)	8,52 $\pm$ 0,24 (n=21)
počátek	8,92 $\pm$ 0,34 (n=12)	8,47 $\pm$ 0,24 (n=17)	8,47 $\pm$ 0,25 (n=20)
12 týdnů	4,50 $\pm$ 0,26* ** # (n=12)	6,11 $\pm$ 0,26* (n=17)	8,73 $\pm$ 0,23 (n=19)
Podíl pacientů, kteří přestali kouřit, %			
4 týdny	11 % (n=2)	9 % (n=2)	5 % (n=1)
8 týdnů	22 % (n=4)	14 % (n=3)	5 % (n=1)
12 týdnů	30 % (n=6)	23 % (n=5)	10 % (n=2)



	Stupeň abstinenčních příznaků (MPSS), body (n – počet odvykajících kouření)		
4 týdny	54,33 ± 1,2 (n=2)	54,50 ± 0,50 (n=2)	54 (n=1)
8 týdnů	46,75 ± 1,89 (n=4)	47,33 ± 0,67 (n=3)	50 (n=1)
12 týdnů	38,67 ± 0,88* ** (n=6)	45,22 ± 1,11* (n=5)	53,00 ± 1,00 (n=2)
	Míra úzkosti a deprese z hospitalizace (HADS), body (n – počet zkoumaných pacientů)		
počátek	12,61 ± 0,36 (n=18)	12,50 ± 0,29 (n=22)	11,81 ± 0,38 (n=21)
4 týdny	11,17 ± 0,31 (n=18)	11,95 ± 0,25 (n=22)	13,05 ± 0,47 (n=21)
8 týdnů	9,56 ± 0,30 (n=18)	10,86 ± 0,22 (n=22)	13,24 ± 0,39 (n=21)
12 týdnů	7,72 ± 0,32* # (n=18)	9,50 ± 0,19 (n=22)	12,67 ± 0,23 (n=21)

Poznámka: * rozdíly proti placebové skupině jsou statisticky významné s $p < 0,05$;

** rozdíly mezi skupinami ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 a ULD anti-CB1

jsou statisticky významné s $p < 0,05$;

rozdíly proti počátečním parametrům jsou statisticky významné s $p < 0,05$.

5

Ve skupině ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 byl podíl pacientů, kteří přestali kouřit po 4 týdnech léčby, 11 %, po 8 týdnech 22 %, a na konci 12 týdnů dosáhl 30 %. Ve skupině ULD anti-CB1 byly odpovídající ukazatele 9 %, 14 % a 23 % (oproti 5 %, 5 % a 10 % v placebové skupině).

10

Projevy závislosti na nikotinu výrazně poklesly po podání ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 jak pro skupinu jako celek, tak pro podskupinu pacientů, kteří nebyli schopni přestat kouřit (viz tabulka 11). Jejich počáteční průměr celkových bodů ve Fagerströmově testu byl $8,92 \pm 0,34$, a po 12 týdnech léčby klesl téměř na polovinu, na $4,50 \pm 0,26$. Navíc byl tento pokles statisticky významný nejen ve srovnání s původními hodnotami, ale i ve srovnání se skupinami ULD anti-CB1 a s placebem.

15

Po podávání kombinace ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 se u pacientů projevil také statisticky významný pokles abstinenčních příznaků ve srovnání se skupinami ULD anti-CB1 ($p < 0,05$) a placebem ($p < 0,005$) na základě údajů stupnice MPSS, při dosažení minimální hodnoty po 12 týdnech od začátku léčby.

20

Bylo provedeno rovněž hodnocení bezpečností. Bezpečnostní analýza zahrnovala data všech pacientů, kteří se podíleli na studii ($n = 61$), a byla provedena na základě záznamu nežádoucích příhod a sledovací studie laboratorních ukazatelů. Výsledky



studie ukázaly, nejen dobrou toleranci ke kombinaci ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 i k ULD anti-CB1 samotné, ale také nepřítomnost jakýchkoli nežádoucích účinků spojených s přijetím léků. Nebyl odhalen žádný negativní vliv léčby na centrální nervový systém; nebyly přítomny příznaky psychiatrických následků. Tento závěr byl potvrzen sledováním ukazatelů pomocí testu Míra úzkosti a deprese z hospitalizace (HADS) (tabulka 11). ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 prokázaly pozitivní vliv na symptomy úzkosti a deprese, které byly ke konci léčby ve srovnání s oběma počátečními hodnotami a placebem výrazně sníženy. Nevyskytly se nežádoucí účinky. Laboratorní ukazatele, včetně obecné a biochemické analýzy krve a klinické analýzy moči, neprokázaly žádné významné odchylky od normálních hodnot.

Výsledky studie tak prokázaly účinnost a bezpečnost ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 při léčbě těžkých závislosti na nikotinu. Během 12týdenní léčby byla téměř třetina kuřáků schopna vymanit se ze své závislosti na nikotinu. Jak je vidět v tabulce 11, účinnost ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 překročila účinnost placeba statisticky významným způsobem. ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 výrazně zlepšila schopnost pacientů jednodušeji a snadněji vydržet odvykání kouření. Mezi pacienty, kterým se nepodařilo přestat kouřit v průběhu pozorování, byl projev závislosti na nikotinu po podávání ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 významně snížen ve srovnání jak s ULD anti-CB1, tak s placebem.

Jak ULD anti-S100 + ULD anti-CB1, tak i ULD anti-CB1 byly charakterizovány vynikajícím bezpečnostní profilem bez nepříznivých účinků na centrální nervový systém.

PŘÍKLAD 10.

Byly studovány vlivy i) kombinace ultra-nízkých dávek polyklonálních králičích protilátek proti specifickému mozkovému proteinu S-100 (ULD anti-S100) a ultra-nízkých dávek protilátek proti kanabinoidnímu receptoru typu 1 (ULD anti-CB1), každé získané hyper-zředěním počátečního základního roztoku 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} krát (směs setinných homeopatických ředění C12, C30 a C200) (ULD anti-S100 + ULD anti-CB1), ii) samotné ULD anti-CB1, a iii) samotné ULD anti-S100 na pohybovou aktivitu myši, s cílem zhodnotit jejich anti-nikotinové vlastnosti.

Bylo použito 40 bílých outbredních samců (22 až 25 g, 1,5 měsíčních). 10 myši bylo intaktních. Zbytku myši byl podáván po 4 dny podkožně nikotin v dávce 0,3 mg/kg, podávání nikotinu předcházelo (1 hodinu před) intragastrické podání buď destilované vody (kontrola, 0,4 ml/myš), nebo ULD anti-S100 (0,4 ml/myš), nebo ULD anti-CB1 (0,4 ml/myš), nebo ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 (0,4 ml/myš). 30 minut po posledním podání nikotinu byl proveden test „otevřeného pole“. Zvířata byla umístěna doprostřed zařízení s fotosenzory Tru Scan (Coulbourn, USA), kde byly po dvě (2) minuty automaticky zaznamenávány vertikální a horizontální pohybové aktivity zvířat. Model „otevřeného pole“ umožňuje vyhodnotit vliv látek na pohybovou aktivitu zvířat (Gershenfield H.K., Neumann P.E., Mathis C., Crawley J.N., Li X., Paul S.M. Mapping quantitative trait loci for open-field behavior in mice. Behavioral Genetics – 1997. – svazek 27. - číslo 3 - str. 201-209, kterou zde zmiňujeme za uvedeným účelem v celém rozsahu). Parametry zařízení: velikost 270 x 270 x 360 mm, rozděleno do 64 čtverců 2,5 x 2,5, s 25 mm otvory nacházejícími se v podlaze plošiny, osvětlení 150 W žárovkou.

Nikotin je alkaloid nacházející se v rostlinách z čeledi Solanaceae, převážně v tabáku, a má psychotropní aktivitu. Účinek nikotinu je považován za nepřímý prostřednictvím periferních a centrálních receptorů N–cholinu. V závislosti na dávce může zavedení tohoto alkaloidu do těla způsobit rozvoj symptomů úzkostné deprese, euforie, excitace, nebo naopak klidu. Navíc dlouhodobá aplikace nikotinu vede k závislosti. Přípravky používané k usnadnění skončení s kouřením mimo jiné usilují o odstranění patologických změn v psychoemociální oblasti, což usnadňuje osvobození pacientů od patologické slabosti pro tabák.

V této studii podávání nikotinu vedlo ke zvýšení pohybové aktivity u myši: doba aktivity vzrostla o 8,2 % ($p < 0,05$), uražená vzdálenost o 5,1 %, množství zkoumaných děr o 78,2 % ($p < 0,05$), reakční doba studie o 76,9 %, přičemž doba nehybnosti naopak poklesla o 13,5 % ($p < 0,05$) ve srovnání s neovlivněnými zvířaty.

Samotná ULD anti-S100 neměla významný vliv, pokud jde o kontrolu s ohledem na konkrétní parametry v rámci šetření. ULD anti-CB1 snižovala dobu aktivity a uraženou vzdálenost u myši v testované skupině na úroveň intaktních myši. ULD anti-CB1 však neměla vliv na dobu nehybnosti, počet otvorů a reakční dobu.



Současně kombinované podávání ULD anti-CB1 a ULD anti-S100 snižovalo dobu aktivity a odpovídajícím způsobem zvyšovalo dobu nehybnosti na úroveň intaktních zvířat, značně snižovalo uraženou vzdálenost (o 29,2 % v porovnání s kontrolními a o 25,5 % ve srovnání s intaktními zvířaty) a poněkud snížilo aktivitu (počet otvorů klesl o 15,3 %, reakční doba se snížila o 17,4 %).

To znamená, že podávání ULD anti-CB1 a podávání kombinace ULD anti-CB1 s ULD anti-S100 přispělo k odstranění změn v chování zvířat, způsobených podáním nikotinu. Použití kombinace ULD anti-CB1 + ULD anti-S100 bylo účinnější ve srovnání s podáváním ULD anti-CB1 samotného.

10

Tabulka 12. Vliv přípravků na pohybovou aktivitu myši (open field test), $M \pm m$

	doba aktivity, sec	délka pohybu cm	doba nehybnosti sec	počet zkoumaných děr	reakční doba
intaktní	$74,1 \pm 1,9$	$393,6 \pm 19,6$	$46,0 \pm 2,0$	$5,5 \pm 1,0$	$2,6 \pm 0,6$
kontrola	$80,2 \pm 1,3^*$	$413,7 \pm 15,4$	$39,8 \pm 1,3^*$	$9,8 \pm 1,4^*$	$4,6 \pm 0,9^\#$
ULD anti-S100	$76,5 \pm 1,4$	$434,4 \pm 23,5$	$43,5 \pm 1,4$	$10,0 \pm 1,1^{**}$	$5,1 \pm 1,0^\#$
ULD anti-CB1	$72,4 \pm 1,4^{##}$	$366,3 \pm 19,1$	$47,6 \pm 1,4^{##}$	$9,8 \pm 0,8$	$5,6 \pm 1,1^{*\#}$
ULD anti-CB1 + ULD anti-S100	$74,5 \pm 2,8$	$393,1 \pm 28$	$45,5 \pm 2,9$	$8,3 \pm 1,5$	$3,8 \pm 0,7$

statisticky významný rozdíl proti intaktním: * - $s p < 0,05$; ** - $s p < 0,01$

statisticky významný rozdíl proti kontrole: $^\#$ - $s p < 0,05$; $^{##}$ - $s p < 0,01$

15

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Farmaceutický přípravek, vyznačující se tím, že zahrnuje aktivovanou potencovanou formu protilátky lidského kanabinoidního receptoru.
- 5 2. Farmaceutický přípravek podle nároku 1, vyznačující se tím, že uvedeným lidským kanabinoidním receptorem je kanabinoidní receptor 1 (CB1).
3. Farmaceutický přípravek podle nároku 2, vyznačující se tím, že uvedenou aktivovanou potencovanou formou protilátky je celý lidský kanabinoidní receptor 1.
- 10 4. Farmaceutický přípravek podle nároku 3, vyznačující se tím, že uvedený celý lidský kanabinoidní receptor 1 je tvořen sekvencí, uvedenou jako SEQ ID No: 1.
5. Farmaceutický přípravek podle nároku 2, vyznačující se tím, že uvedenou aktivovanou potencovanou formou protilátky je polypeptidový fragment lidského kanabinoidního receptoru 1.
- 15 6. Farmaceutický přípravek podle nároku 5, vyznačující se tím, že uvedený polypeptidový fragment lidského kanabinoidního receptoru 1 je vybrán ze skupiny sestávající ze sekvencí, uvedených v SEQ ID číslo 3 až 16.
7. Farmaceutický přípravek podle nároku 1, vyznačující se tím, že uvedená aktivovaná potencovaná forma protilátky je ve formě směsi homeopatických ředění C12, C30 a C200.
- 20 8. Farmaceutický přípravek podle nároku 1, vyznačující se tím, že uvedená aktivovaná potencovaná forma protilátky je ve formě směsi homeopatických ředění C12, C30 a C200 impregnované na pevný nosič.
- 25 9. Farmaceutický přípravek podle nároku 1, vyznačující se tím, že aktivovanou potencovanou formou protilátky k lidskému kanabinoidnímu receptoru je monoklonální, polyklonální nebo přírodní protilátka.

10. Farmaceutický přípravek podle nároku 9, vyznačující se tím, že uvedenou aktivovanou potencovanou formou protilátky k lidskému kanabinoidnímu receptoru je polyklonální protilátka.
- 5 11. Farmaceutický přípravek podle nároku 1, vyznačující se tím, že protilátka proti lidskému kanabinoidnímu receptoru je připravena postupným setinným ředěním, spojeným s protřepáním každého ředění.
12. Způsob léčby obezity a souvisejících metabolických poruch, vyznačující se tím, že zahrnuje podávání farmaceutického přípravku podle nároku 1 nebo 2.
- 10 13. Způsob podle nároku 12, vyznačující se tím, že uvedený farmaceutický přípravek se podává pacientovi jako jedna nebo dvě jednotkové lékové formy jednou až čtyřikrát denně.
14. Způsob podle nároku 13, vyznačující se tím, že uvedená léková forma nebo formy se podávají dvakrát denně.
- 15 15. Způsob měnění antropometrických parametrů savce, u něž se očekává užitek z takové změny, vyznačující se tím, že zahrnuje podávání farmaceutického přípravku podle nároku 1 nebo 2.
16. Způsob podle nároku 15, vyznačující se tím, že uvedeným antropometrickým parametrem je obvod pasu.
- 20 17. Způsob podle nároku 15, vyznačující se tím, že uvedeným antropometrickým parametrem je poměr pasu k výšce.
18. Způsob podle nároku 15, vyznačující se tím, že uvedeným antropometrickým parametrem je poměr pasu k bokům.
- 25 19. Způsob podle nároku 16, vyznačující se tím, že obvod pasu se sníží o nejméně 1 %.
20. Způsob podle nároku 16, vyznačující se tím, že obvod pasu se sníží o nejméně 2 %.
21. Způsob podle nároku 16, vyznačující se tím, že obvod pasu se sníží o nejméně 3 %.



22. Způsob podle nároku 16, vyznačující se tím, že obvod pasu se sníží o nejméně 1 cm.
23. Způsob podle nároku 16, vyznačující se tím, že obvod pasu se sníží o nejméně 3 cm.
- 5 24. Způsob snižování tělesné hmotnosti savce, vyznačující se tím, že zahrnuje podávání farmaceutického přípravku podle nároku 1 nebo 2.
25. Způsob podle nároku 24, vyznačující se tím, že tělesná hmotnost se sníží o nejméně 5 %.
26. Způsob podle nároku 24, vyznačující se tím, že tělesná hmotnost se sníží o
10 nejméně 10 %.
27. Způsob podle nároku 24, vyznačující se tím, že tělesná hmotnost se sníží o nejméně 15 %.
28. Způsob podle nároku 24, vyznačující se tím, že tělesná hmotnost se sníží o méně než 15%.
- 15 29. Způsob snižování růstu tělesné hmotnosti savce, vyznačující se tím, že zahrnuje podávání farmaceutického přípravku podle nároku 1 nebo 2.
30. Způsob podle nároku 29, vyznačující se tím, že růst tělesné hmotnosti se sníží o nejméně 10 %.
31. Způsob podle nároku 29, vyznačující se tím, že růst tělesné hmotnosti se sníží
20 o nejméně 30 %.
32. Způsob usnadňování snížení příjmu potravy u savce, u nějž se očekává užitek z takového snížení, vyznačující se tím, že zahrnuje podávání farmaceutického přípravku podle nároku 1.
33. Farmaceutický přípravek podle nároku 1 nebo 2, vyznačující se tím, že dále
25 obsahuje aktivovanou potencovanou formu protilátky proti S-100 proteinu.
34. Farmaceutický přípravek podle nároku 33, vyznačující se tím, že protilátkou proti S-100 proteinu je protilátka proti celému S-100 proteinu.
35. Farmaceutický přípravek podle nároku 34, vyznačující se tím, že uvedený celý S-100 protein je tvořen sekvencí uvedenou v SEQ ID Č: 17.



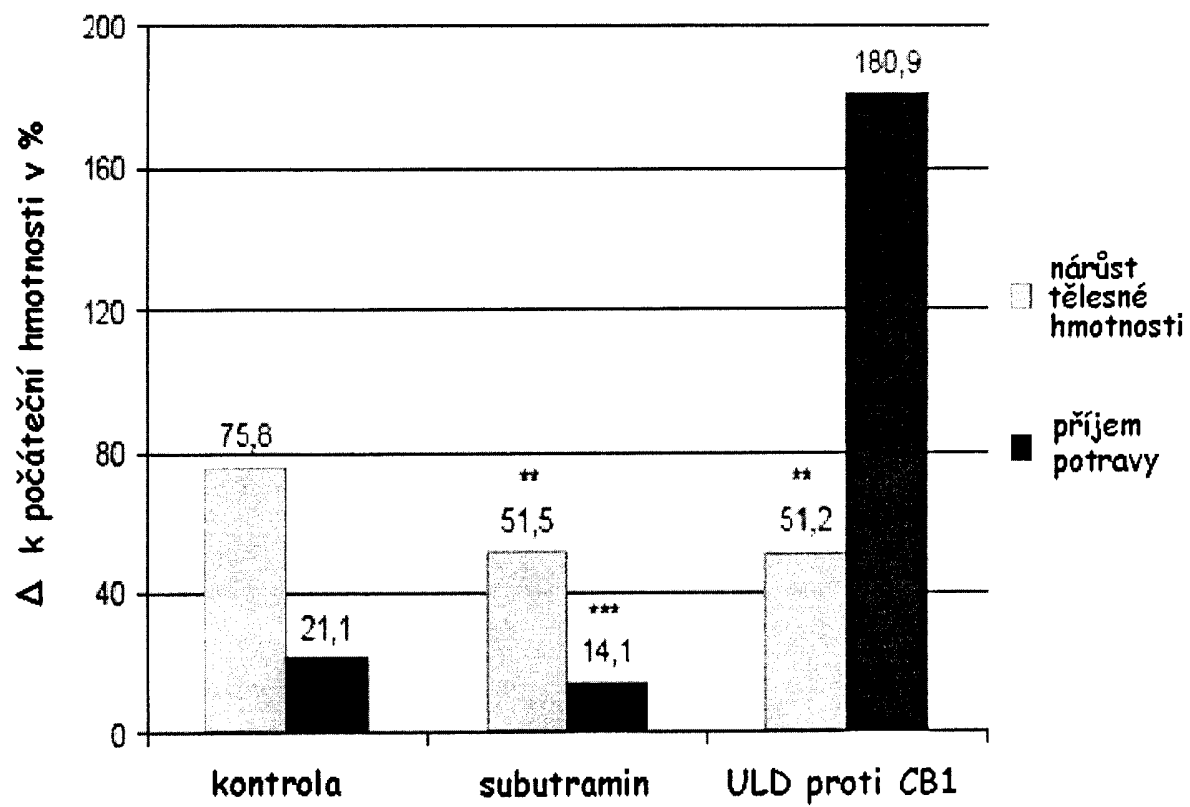
36. Farmaceutický přípravek podle nároku 33, vyznačující se tím, že protilátka proti S-100 proteinu je ve formě směsi C12. C30 a C200 homeopatických ředění, impregnované na pevný nosič.
- 5 37. Farmaceutický přípravek podle nároku 33, vyznačující se tím, že protilátkou proti S-100 proteinu je monoklonální. polyklonální nebo přírodní protilátka.
38. Farmaceutický přípravek podle nároku 37, vyznačující se tím, že protilátkou proti S-100 proteinu je polyklonální protilátka.
- 10 39. Farmaceutický přípravek podle nároku 36, vyznačující se tím, že protilátka proti S-100 proteinu je připravena postupným setinným ředěním, spojeným s protřepáním každého ředění.
40. Způsob léčení pacienta, trpícího psychoaktivní drogovou závislostí, vyznačující se tím, že zahrnuje podávání farmaceutický přípravku podle nároku 33.
- 15 41. Způsob podle nároku 40, vyznačující se tím, že psychoaktivní látkou je nikotin.
42. Způsob podle nároku 41, vyznačující se tím, že podávání uvedené kombinace vede ke statisticky významnému zlepšení schopnosti snášet odvykání kouření, měřeno rozbořem údajů testu MPSS.
- 20 43. Způsob podle nároku 41, vyznačující se tím, že podávání uvedené kombinace vede ke statisticky významnému snížení kouření u pacientů s mírnou závislostí na nikotinu, měřeno Fageströmovým testem nikotinové závislosti.
44. Způsob podle nároku 41, vyznačující se tím, že podávání uvedené kombinace vede ke statisticky významnému snížení kouření u pacientů s těžkou závislostí na nikotinu, měřeno Fageströmovým testem nikotinové závislosti.
- 25 45. Způsob léčby závislosti na psychoaktivní látce, vyznačující se tím, že zahrnuje podávání farmaceutického přípravku podle nároku 33.
46. Farmaceutický přípravek pro použití při léčbě pacienta s psychoaktivní drogovou závislostí, vyznačující se tím, že uvedený přípravek byl získán poskytnutím a) potencovaného roztoku protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru a b) potencovaného roztoku aktivované



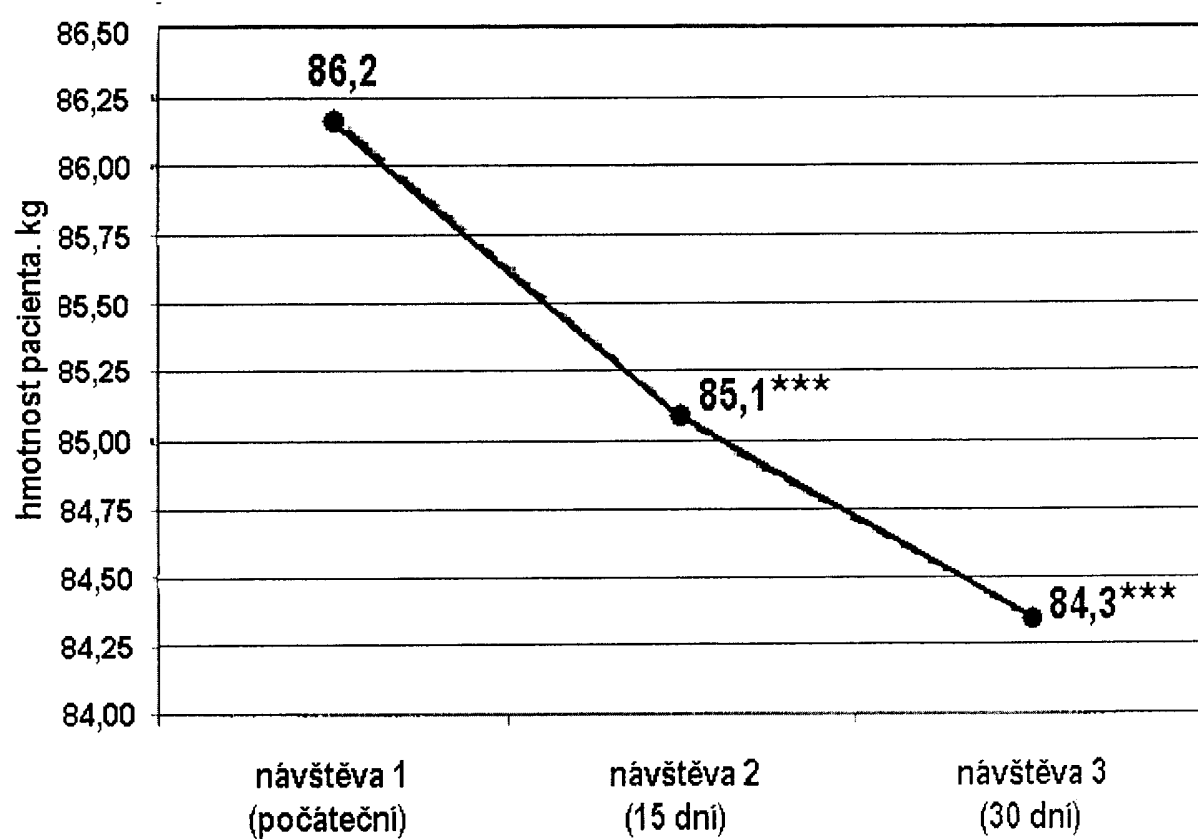
potencované formy protilátky proti S-100 proteinu, každého připraveného po sobě opakovaným ředěním a mnohonásobným vertikálním protřepáním každého získaného roztoku v souladu s homeopatickou technologií, a pak buď kombinováním smícháním potencovaných roztoků, nebo alternativně impregnací hmoty nosiče uvedenou kombinací roztoků nebo oběma roztoky zvlášť.

47. Farmaceutický přípravek pro použití při léčbě obezity a souvisejících metabolických poruch, vyznačující se tím, že uvedený přípravek byl získán poskytnutím potencovaného roztoku protilátky proti lidskému kanabinoidnímu receptoru, připraveného po sobě opakovaným ředěním a mnohonásobným vertikálním protřepáním každého získaného roztoku v souladu s homeopatickou technologií, a pak popřípadě impregnací hmoty nosiče uvedeným roztokem.

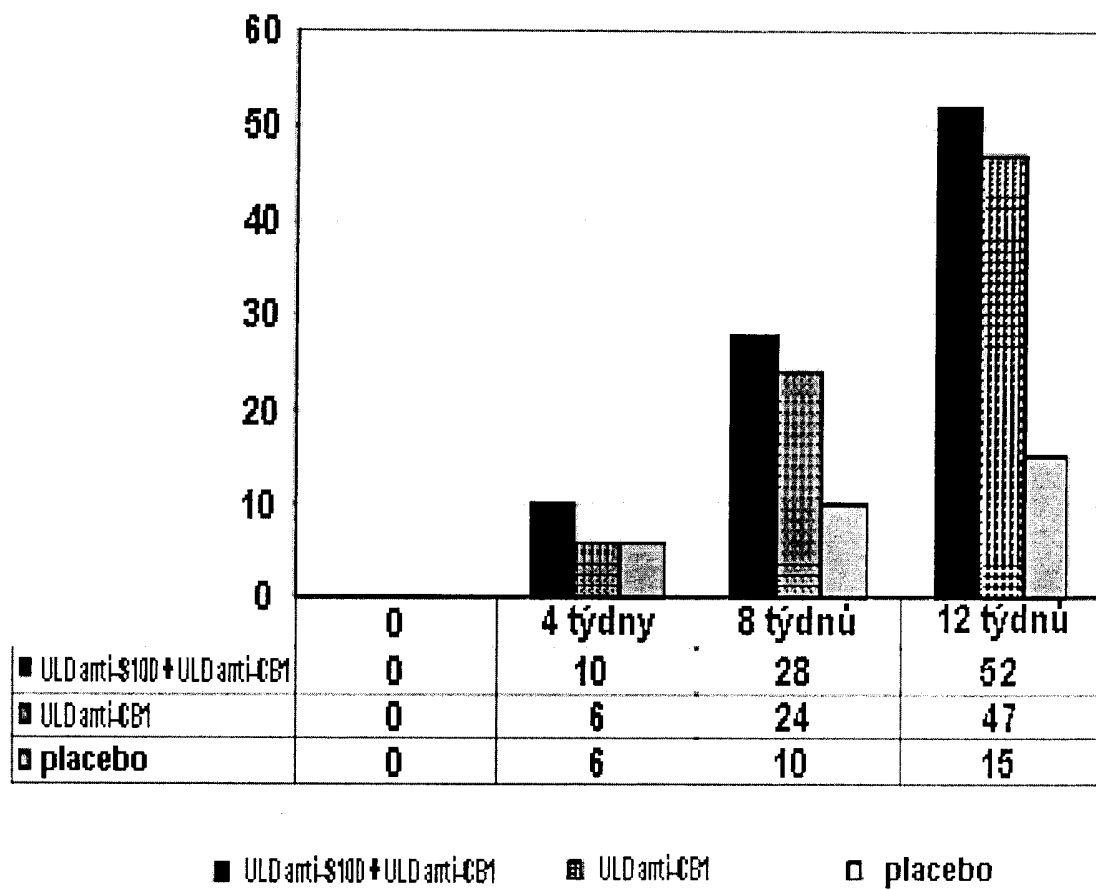
48. Způsob podle nároku 40, vyznačující se tím, že uvedenou psychoaktivní návykovou látkou je nikotin.



Obr. 1



Obr. 2



Obr. 3