

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-535436

(P2013-535436A)

(43) 公表日 平成25年9月12日(2013.9.12)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
<b>A61K 39/395</b> (2006.01)	A 61 K 39/395	D 4 C 085
<b>A61P 3/04</b> (2006.01)	A 61 K 39/395	N 4 H 045
<b>A61P 25/34</b> (2006.01)	A 61 P 3/04	
<b>C07K 16/28</b> (2006.01)	A 61 P 25/34	
<b>C07K 16/18</b> (2006.01)	C 07 K 16/28	Z N A

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 50 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-519178 (P2013-519178)	(71) 出願人	513008959 オレグ イリイチ・エプシテイン ロシア共和国 127473 モスクワ ケーブイ. 72 ディー. 3 サモチョク ニー パー 4
(86) (22) 出願日	平成23年7月15日 (2011.7.15)	(74) 代理人	100107515 弁理士 廣田 浩一
(85) 翻訳文提出日	平成25年3月8日 (2013.3.8)	(74) 代理人	100107733 弁理士 流 良広
(86) 國際出願番号	PCT/IB2011/002404	(74) 代理人	100115347 弁理士 松田 奈緒子
(87) 國際公開番号	W02012/007847	(72) 発明者	オレグ イリイチ・エプシテイン ロシア共和国 127473 モスクワ ケーブイ. 72 ディー. 3 サモチョク ニー パー 4
(87) 國際公開日	平成24年1月19日 (2012.1.19)		
(31) 優先権主張番号	2011122407		
(32) 優先日	平成23年6月2日 (2011.6.2)		
(33) 優先権主張国	ロシア (RU)		
(31) 優先権主張番号	2010129289		
(32) 優先日	平成22年7月15日 (2010.7.15)		
(33) 優先権主張国	ロシア (RU)		
(31) 優先権主張番号	2010130350		
(32) 優先日	平成22年7月21日 (2010.7.21)		
(33) 優先権主張国	ロシア (RU)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 医薬組成物及び治療方法

## (57) 【要約】

本発明は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体を含む医薬組成物、並びに肥満及び関連する代謝障害の治療における使用を提供する。本発明は更に、精神活性物質に対する依存の治療において使用するための、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体と、タンパク質 S - 100 に対する活性化増強型抗体とを含む医薬組成物も提供する。

本発明は、肥満及び関連する代謝障害並びに物質乱用を治療するための方法を提供する。

【選択図】図 1

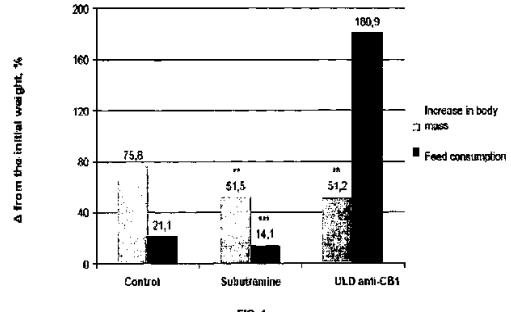


FIG. 1

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体を含むことを特徴とする医薬組成物。

**【請求項 2】**

ヒトカンナビノイド受容体が、カンナビノイド受容体 1 (CB1) である請求項 1 に記載の医薬組成物。

**【請求項 3】**

活性化増強型抗体が、ヒトカンナビノイド受容体 1 全体に対するものである請求項 2 に記載の医薬組成物。

**【請求項 4】**

ヒトカンナビノイド受容体 1 全体が、配列番号 1 で提供される配列からなる請求項 3 に記載の医薬組成物。

**【請求項 5】**

活性化増強型抗体が、ヒトカンナビノイド受容体 1 のポリペプチド断片に対するものである請求項 2 に記載の医薬組成物。

**【請求項 6】**

ヒトカンナビノイド受容体 1 のポリペプチド断片が、配列番号 3 ~ 16 で提供される配列からなる群から選択される請求項 5 に記載の医薬組成物。

**【請求項 7】**

活性化増強型抗体が、C12、C30、及びC200のホメオパシー希釈物の混合物の形態である請求項 1 に記載の医薬組成物。

**【請求項 8】**

活性化増強型抗体が、固体担体に浸透させたC12、C30、及びC200のホメオパシー希釈物の混合物の形態である請求項 1 に記載の医薬組成物。

**【請求項 9】**

ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体が、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、又は天然の抗体である請求項 1 に記載の医薬組成物。

**【請求項 10】**

ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体が、ポリクローナル抗体である請求項 9 に記載の医薬組成物。

**【請求項 11】**

ヒトカンナビノイド受容体に対する抗体が、希釈するごとに振とうしながら連続的に100倍希釈することにより調製される請求項 1 に記載の医薬組成物。

**【請求項 12】**

請求項 1 又は 2 に記載の医薬組成物を投与することを含むことを特徴とする肥満及び関連する代謝障害を治療する方法。

**【請求項 13】**

医薬組成物が、1つ又は2つの単位剤形として1日1回から1日4回、患者に投与される請求項 12 に記載の方法。

**【請求項 14】**

剤形が、1日2回投与される請求項 13 に記載の方法。

**【請求項 15】**

請求項 1 又は 2 に記載の医薬組成物を投与することを含むことを特徴とする、変更から利益を受けることが予想される哺乳動物の身体計測パラメータを変更する方法。

**【請求項 16】**

身体計測パラメータが、ウエスト周囲径である請求項 15 に記載の方法。

**【請求項 17】**

身体計測パラメータが、ウエスト対身長比である請求項 15 に記載の方法。

**【請求項 18】**

10

20

30

40

50

身体計測パラメータが、ウエスト対ヒップ比である請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 9】

ウエスト周囲径が、少なくとも 1 % 減少する請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 2 0】

ウエスト周囲径が、少なくとも 2 % 減少する請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 2 1】

ウエスト周囲径が、少なくとも 3 % 減少する請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 2 2】

ウエスト周囲径が、少なくとも 1 cm 減少する請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 2 3】

ウエスト周囲径が、少なくとも 3 cm 減少する請求項 1 6 に記載の方法。

10

【請求項 2 4】

請求項 1 又は 2 に記載の医薬組成物を投与することを含むことを特徴とする哺乳動物の体重を減少させる方法。

【請求項 2 5】

体重が、少なくとも 5 % 減少する請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

体重が、少なくとも 10 % 減少する請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 7】

体重が、少なくとも 15 % 減少する請求項 2 4 に記載の方法。

20

【請求項 2 8】

体重が、15 % 未満減少する請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 9】

請求項 1 又は 2 に記載の医薬組成物を投与することを含むことを特徴とする哺乳動物の体重増加を減少させる方法。

【請求項 3 0】

体重増加が、少なくとも 10 % 減少する請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

体重増加が少なくとも 30 % 減少する請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 2】

請求項 1 に記載の医薬組成物を投与することを含むことを特徴とする、摂食量の減少から利益を受けることが予想される哺乳動物の摂食量の減少を促進する方法。

30

【請求項 3 3】

S - 1 0 0 タンパク質に対する活性化増強型抗体を更に含む請求項 1 又は 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 4】

S - 1 0 0 タンパク質に対する抗体が、S - 1 0 0 タンパク質全体に対する抗体である請求項 3 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 5】

S - 1 0 0 タンパク質全体が、配列番号 1 7 で提供される配列からなる請求項 3 4 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 3 6】

S - 1 0 0 タンパク質に対する抗体が、固体担体に浸透させた C 1 2 、 C 3 0 、及び C 2 0 0 のホメオパシー希釈物の混合物の形態である請求項 3 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 7】

S - 1 0 0 タンパク質に対する抗体が、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、又は天然の抗体である請求項 3 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 8】

S - 1 0 0 タンパク質に対する抗体がポリクローナル抗体である請求項 3 7 に記載の医薬組成物。

50

**【請求項 3 9】**

S - 1 0 0 タンパク質に対する抗体が、希釈するごとに振とうしながら連続的に 1 0 0 倍希釈することにより調製される請求項 3 6 に記載の医薬組成物。

**【請求項 4 0】**

請求項 3 3 に記載の医薬組成物を投与することを含むことを特徴とする、精神活性物質依存に苦しんでいる患者を治療する方法。

**【請求項 4 1】**

精神活性物質が、ニコチンである請求項 3 7 に記載の方法。

**【請求項 4 2】**

組み合わせの投与が、M P S S 試験のデータの分析によって測定される、禁煙に耐える能力の統計的に有意な改善をもたらす請求項 3 8 に記載の方法。

10

**【請求項 4 3】**

組み合わせの投与が、ニコチン依存度試験のためのファガストローム試験によって測定される、中等度ニコチン依存患者における喫煙の統計的に有意な減少をもたらす請求項 4 1 に記載の方法。

**【請求項 4 4】**

組み合わせの投与が、ニコチン依存度試験のためのファガストローム試験によって測定される、重度ニコチン依存患者における喫煙の統計的に有意な減少をもたらす請求項 4 1 に記載の方法。

**【請求項 4 5】**

請求項 3 3 に記載の医薬組成物を投与することを含むことを特徴とする精神活性物質依存の方法。

20

**【請求項 4 6】**

精神活性物質依存に苦しんでいる患者の治療に使用するための医薬組成物であって、ホメオパシーの技術に従って、連続して繰り返し希釈し、得られた溶液をそれぞれ多数回垂直方向に振とうすることによってそれぞれ調製される、a ) ヒトカンナビノイド受容体に対する抗体の増強溶液、及び b ) S - 1 0 0 タンパク質に対する活性化増強型抗体の増強溶液を提供し、次いで、前記増強溶液を混合することによって組み合わせるか、或いは、担体塊に組み合わせた前記溶液を浸透させる又は別々に前記溶液を浸透させることによって得られたことを特徴とする医薬組成物。

30

**【請求項 4 7】**

肥満及び関連する代謝障害の治療に使用するための医薬組成物であって、ホメオパシーの技術に従って、連続して繰り返し希釈し、得られた溶液を多数回垂直方向に振とうすることによって調製される、ヒトカンナビノイド受容体に対する抗体の増強溶液を提供し、次いで、場合によっては担体塊に前記溶液を浸透させることによって得られたことを特徴とする医薬組成物。

**【請求項 4 8】**

精神活性物質依存が、ニコチンである請求項 4 0 記載の方法。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】**

40

**【0 0 0 1】**

本発明は、肥満及び関連する代謝障害の治療のため、並びに精神活性物質、特にニコチンへの依存を治療するために使用することができる医薬組成物に関する。

**【背景技術】****【0 0 0 2】**

現在、肥満は、関連する健康リスクを低下させるための治療を必要とする慢性疾患と認識されている。冠動脈心疾患、脳卒中、高血圧、2型糖尿病、異脂肪血症、睡眠時無呼吸、変形性関節症、胆嚢疾患、うつ病、及びいくつかの形態の癌（例えば、子宮内膜、乳房、前立腺、及び結腸）を含めて、肥満に関連する健康リスクがあるため、肥満の増加が懸念されている。肥満が健康に悪い結果をもたらすため、肥満は米国において予防可能な死

50

亡の原因の第2位となっている。非特許文献1を参照されたい。

【0003】

5~10%の体重減少により、血中グルコース、血圧、及び脂質濃度などの代謝数値が実質的に改善され得ると考えられている。

【0004】

肥満管理のために現在入手可能な処方薬は、通常、満腹を誘導すること、又は食事性脂肪の吸収を減少させることによって体重を減少させる。満腹は、ノルエピネフリン、セロトニン、又は両方のシナプスレベルを上昇させることによって実現される。例えば、セロトニン受容体亜型の1B、1D、及び2C並びに1-アドレナリン受容体及び2-アドレナリン受容体を刺激すると、満腹が調節されて食物摂取量が減少する。非特許文献2を参照されたい。アドレナリン作用薬（例えば、ジエチルプロピオン、ベンズフェタミン、フェンジメトラジン、マジンドール、及びフェンテルミン）は、カテコールアミン放出の促進を通じて中枢神経のノルエピネフリン受容体及びドーパミン受容体を調整することによって作用する。以前の減量用アドレナリン作用薬物（例えば、アンフェタミン、メタンフェタミン、及びフェンメトラジン）は、ドーパミン経路に強く関与し、乱用リスクがあるためもはや推奨されていない。フェンフルラミン及びデクスフェンフルラミンはどちらも、食欲を調節するのに使用されたセロトニン作用薬であり、もはや使用可能ではない。

10

【0005】

副作用が出現すること、及びこれらの精神活性物質の使用の結果、依存が生じることが理由となって、中枢神経に作用する（of central effect）有効かつ安全な医薬品は、いまだ入手不可能である。したがって、肥満及び関連する代謝障害を軽減又は予防するための、より有効かつ安全な治療的処置が引き続き必要とされている。

20

【0006】

肥満に加えて、物質依存の治療に対するニーズも、まだ満たされていない。

【0007】

タバコ依存は、我々の社会における疾病及び死亡の最も重大で予防可能な原因であり、毎年何千件もの死亡を招いている。全喫煙者の半数は、タバコの使用に直接関係した疾患で死亡し、多くの喫煙者は著しい病的状態に苦しむ。毎年、約1500万人の喫煙者が禁煙を試みるが、喫煙に成功するのはその内の100万人に過ぎない。

30

【0008】

紙巻きタバコの煙は、多数の非常に複雑な物質を含有し、その内で最も重要なのがニコチンであり、これが、紙巻きタバコ喫煙者が依存を生じる対象の物質である。いくつかの薬物療法が、タバコ依存の治療に有効であることが判明している。これらには、ガム、パッチ、点鼻薬、及び吸入器の形態のニコチン置換療法が含まれる。ニコチンを用いない薬理学的療法が、ニコチン依存を治療する方法として開発されている。見込みのある試薬（reagent）には、ニコチン遮断療法、セロトニン作動性神経伝達に影響を及ぼす薬物、抗うつ剤、抗不安薬、クロニジン、及び気道感覚の置換が含まれる（非特許文献3）。ニコチン遮断療法（ニコチン受容体アンタゴニストとも呼ばれる）は、ニコチン受容体を占有する化合物を利用し、それによって、タバコの使用によって受けける報いを軽くする（非特許文献4）。しかし、タバコ依存のより有効な治療が必要とされている。

40

【0009】

カンナビノイド受容体は、Gタンパク質共役型受容体スーパーファミリーに属する細胞膜受容体クラスである。カンナビノイド受容体は、3つの主要なリガンドグループ、すなわち（a）内在性カンナビノイド（哺乳動物の身体によって產生される）、（b）植物カンナビノイド（大麻植物によって產生されるTHCなど）、及び（c）合成カンナビノイド（1988年に（1R,5S）-ミルテノールから初めて合成されたHU-210など）によって活性化される。これらのカンナビノイド（cannabinoid）は、細胞膜に位置するカンナビノイド受容体に結合することによって効果を発揮する。内在性カンナビノイドは、多種多様の生理学的プロセス及び病態生理学的プロセスに関係があるとされている。今まで、内在性カンナビノイド系と相互作用するために使用される大半の薬

50

物は、大麻に由来する。大麻は、マリファナ及びハシシュなどの製品の原材料として最も人気を集めしており、習慣的に使用すると、依存症の発症をもたらす場合がある。

【0010】

2種のカンナビノイド受容体の特徴が明らかにされている。すなわち、カンナビノイド受容体1(CB1)は、哺乳動物の脳及び末梢組織中に存在する中枢性受容体であり、カンナビノイド受容体2(CB2)は、末梢組織中にのみ存在する末梢性受容体である。CB1受容体は、辺縁系(扁桃体、海馬)、視床下部、大脳皮質、小脳、及び大脳基底核を含めて、いくつかの脳領域において主に発現される。これらの受容体の一方又は両方に対するアゴニスト又はアンタゴニストである化合物は、様々な薬理学的效果を提供することが示されている。例えば、非特許文献5及び非特許文献6を参照されたい。

10

【0011】

ホメオパシーの技術によって増強された極端に希釈された(又は超低)型の抗体(活性化増強型)の治療効果は、本特許出願の発明者であるOleg I. Epstein博士によって発見された。米国特許第7,582,294号は、ホメオパシーによって活性化された型の、前立腺特異的抗原(PSA)に対する抗体を投与することにより良性前立腺肥大症又は前立腺炎を治療するための医薬を開示している。

【0012】

S-100タンパク質は、神経系で発現される酸性細胞質内タンパク質である。S-100タンパク質は不安において役割を果たすことが示唆されている。非特許文献7及び非特許文献8を参照されたい。これらの文献は全て、参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0013】

S-100タンパク質に対する超低用量の抗体は、抗不安、強壮、抗攻撃、ストレス防御、抗低酸素、抗虚血、神経保護、及び向知性の活性を有することが示されている。非特許文献9、非特許文献10、非特許文献11、及び非特許文献12を参照されたい。これらの文献は全て、参照により本明細書に組み込まれる。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0014】

【非特許文献1】McGinnis M, Foege W H.、「Actual Causes of Death in the United States」、JAMA、270、2207-12(1993)

30

【非特許文献2】Bray G A、「The New Era of Drug Treatment. Pharmacologic Treatment of Obesity: Symposium Overview」、Obes. Res.、3(補遺4)、(1995)

【非特許文献3】Rose、1996、及びCinciripinil、1998 On cology 12:249~256

【非特許文献4】Clarke、1991 Br. J. Addict. 86:501~505

【非特許文献5】Pertwee, R. G.、「Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors」、Pharmacol. Ther.、(1997)74:129~180

40

【非特許文献6】Di Marzo, V.、「Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action」、Trends Neurosci.、(1998)21:521~528

【非特許文献7】Ackermannら、「S100A1-deficient male mice exhibit increased exploratory activity and reduced anxiety-related respons」

50

e、*Biochim. Biophys. Acta.* 2006、63(11)：1307～19

【非特許文献8】Diehlら、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

【非特許文献9】Castagne V.ら、Antibodies to S100 proteins have anxiolytic-like activity at ultra-low doses in the adult rat、*J. Pharm. Pharmacol.* 2008、60(3)：309～16

【非特許文献10】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

【非特許文献11】Voronina T. A.ら、8章 Antibodies to S-100 protein in anxiety-depressive disorders in experimental and clinical conditions. 「Animal models in biological psychiatry」

【非特許文献12】Ed. Kaluza A. V. 編、N-Y、「Nova Science Publishers, Inc.」、2006年、137～152ページ

### 【発明の概要】

### 【発明が解決しようとする課題】

### 【0015】

過剰な体重又は肥満及び物質依存を治療するための、所望の治療有効性を有する新しい製剤が継続して必要とされている。

### 【課題を解決するための手段】

### 【0016】

一態様では、本発明は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体を含む医薬組成物を提供する。好ましくは、ヒトカンナビノイド受容体はカンナビノイド受容体1(CB1)である。本発明のこの態様の活性化増強型抗体は、ヒトカンナビノイド受容体1全体に対するものであることが意図されている。本発明の詳細な説明において提供される個々の配列が、特に意図されている。活性化増強型抗体は、ヒトカンナビノイド受容体1のポリペプチド断片に対するものであることが意図されている。好ましくは、活性化増強型抗体は、C12、C30、及びC200のホメオパシー希釈物の混合物の形態である。特に好ましい変形では、活性化増強型抗体は、固体担体に浸透させたC12、C30、及びC200のホメオパシー希釈物の混合物の形態である。ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、又は天然の抗体であることが意図されている。好ましくは、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体はポリクローナル抗体である。ヒトカンナビノイド受容体に対する抗体は、希釈ごとに振とうしながら連続的に100倍希釈することにより調製することができる。

### 【0017】

別の態様では、本発明は、本発明の医薬組成物の態様の任意の変形又は実施形態の医薬組成物を投与することを含む、肥満及び関連する代謝障害を治療する方法を提供する。医薬組成物は、1つ又は2つの単位剤形として、1日1回から1日4回、患者に投与することができる。1日2回の投与が特に意図されている。

### 【0018】

別の態様では、本発明は、発明の医薬組成物の態様の任意の変形又は実施形態の医薬組

10

20

30

40

50

成物を投与することを含む、ニコチン依存の方法を提供する。医薬組成物は、1つ又は2つの単位剤形として、1日1回から1日4回、患者に投与することができる。1日2回の投与が特に意図されている。

#### 【0019】

別の態様では、本発明は、本発明の医薬組成物の態様の任意の変形又は実施形態の医薬組成物を投与することを含む、変更から利益を受けることが予想される哺乳動物の身体計測パラメータを変更する方法を提供する。一実施形態では、身体計測パラメータはウエスト周囲径である。一実施形態では、身体計測パラメータはウエスト対身長比である。別の実施形態では、身体計測パラメータはウエスト対ヒップ比である。様々な変形が提供される。

10

#### 【0020】

別の態様では、本発明は、本発明の医薬組成物の態様の任意の変形又は実施形態の医薬組成物を投与することを含む、哺乳動物の体重を減少させる方法を提供する。1つの変形では、体重は少なくとも5%減少する。別の変形では、体重は少なくとも10%減少する。体重は少なくとも15%減少する。別の変形では、体重は15%未満減少する。

#### 【0021】

別の態様では、本発明は、本発明の医薬組成物の態様の任意の変形又は実施形態の医薬組成物を投与することを含む、哺乳動物の体重増加を減少させる方法を提供する。1つの変形では、体重増加は少なくとも10%減少する。別の変形では、体重増加は少なくとも30%減少する。

20

#### 【0022】

別の態様では、本発明は、本発明の医薬組成物の態様の任意の変形又は実施形態の医薬組成物を投与することを含む、減少から利益を受けることが予想される哺乳動物の摂食量の減少を促進する方法を提供する。

#### 【0023】

別の態様では、本発明は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体と、S-100タンパク質に対する活性化増強型抗体とを含む医薬組成物を提供する。1つの変形では、S-100タンパク質に対する抗体は、S-100タンパク質全体に対する抗体である。S-100タンパク質の配列は、本明細書において提供される。好ましくは、S-100タンパク質に対する抗体は、固体担体に浸透させたC12、C30、及びC20のホメオパシー希釈物の混合物の形態である。本発明のこの態様の医薬組成物は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、又は天然の抗体である、S-100タンパク質に対する抗体を含有してよい。好ましくは、S-100タンパク質に対する抗体はポリクローナル抗体である。S-100タンパク質に対する抗体は、希釈するごとに振とうしながら連続的に100倍希釈することにより調製することができる。

30

#### 【0024】

別の態様では、本発明は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体と、S-100タンパク質に対する活性化増強型抗体とを含む医薬組成物を投与することを含む、精神活性物質依存に苦しんでいる患者を治療する方法を提供する。好ましくは、精神活性物質はニコチンである。好ましくは、前記組み合わせの投与は、M P S S 試験のデータの分析によって測定される、禁煙に耐える能力の統計的に有意な改善をもたらす。好ましくは、前記組み合わせの投与は、ニコチン依存度試験のためのファガストローム試験によって測定される、中等度ニコチン依存患者における喫煙の統計的に有意な減少をもたらす。好ましくは、前記組み合わせの投与は、ニコチン依存度試験のためのファガストローム試験によって測定される、重度ニコチン依存患者における喫煙の統計的に有意な減少をもたらす。

40

#### 【0025】

別の態様では、本発明は、精神活性物質依存に苦しんでいる患者を治療する際に使用するための医薬組成物であって、ホメオパシーの技術に従って、連続して繰り返し希釈し、得られた溶液をそれぞれ多数回垂直方向に振とうすることによってそれぞれ調製される、

50

a ) ヒトカンナビノイド受容体に対する抗体の増強溶液、及び b ) S - 1 0 0 タンパク質に対する活性化増強型抗体の増強溶液を提供し、次いで、それらを混合することによって増強溶液を組み合わせるか、あるいは、担体塊に前記組み合わせた溶液を又は別々に溶液を浸透させることによって得られた医薬組成物を提供する。

【 0 0 2 6 】

別の態様では、本発明は、肥満及び関連する代謝障害を治療する際に使用するための医薬組成物であって、ホメオパシーの技術に従って、連続して繰り返し希釈し、得られた溶液をそれぞれ多数回垂直方向に振とうすることによって調製される、ヒトカンナビノイド受容体に対する抗体の増強溶液を提供し、次いで、場合によっては担体塊に前記溶液を浸透させることによって得られた医薬組成物を提供する。

10

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 7 】

【 図 1 】 体重の増加及び飼料消費量に対する、 U L D 抗 C B 1 及びスプトラミンの影響を示すグラフである。

【 図 2 】 U L D 抗 C B 1 の投与後の体重減少を示すグラフである。

【 図 3 】 患者における 5 % 以上の体重減少を示すグラフである。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 8 】

本発明は、添付の特許請求の範囲と関連して定義される。特許請求の範囲に関して、以下の用語解説によって関連する定義がもたらされる。

20

【 0 0 2 9 】

「抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、別の分子の特定の空間的な極性の構成に特異的に結合し、それにより、それと相補的であると定義される免疫グロブリンを意味するものとする。特許請求の範囲において列挙されている抗体は、天然、ポリクローナル又はモノクローナルであってよい完全な免疫グロブリン又はその断片を含んでよく、それらとしては、例えば、 I g A 、 I g D 、 I g E 、 I g G 1 、 I g G 2 a 、 I g G 2 b 及び I g G 3 、 I g M などの種々のクラス及びアイソタイプを挙げることができる。その断片としては、 F a b 、 F v 及び F ( a b ' ) <sub>2</sub> 、 F a b ' などを挙げることができる。単数形の「抗体( a n t i b o d y )」は、複数形の「抗体( a n t i b o d i e s )」を含む。

30

【 0 0 3 0 】

「活性化増強型」又は「増強型」という用語はそれぞれ、本明細書において列挙されている抗体に関しては、任意の抗体の最初の溶液のホメオパシーポテンタイゼーション( p o t e n t i z a t i o n )の生成物を示すために使用される。「ホメオパシーポテンタイゼーション」とは、ホメオパシーの方法を用いて最初の関連物質の溶液にホメオパシーポーテンシーを付与することを示す。そのように限定するものではないが、「ホメオパシーポテンタイゼーション」は、例えば、連続した希釈を、外部からの処理、特に(機械的な)振とうと組み合わせて繰り返すことを伴ってよい。言い換えれば、ホメオパシーの技術に従って、抗体の最初の溶液を連続して繰り返し希釈し、得られた溶液をそれぞれ多数回、垂直方向に振とうする。溶媒、好ましくは水又は水とエチルアルコールの混合物中の抗体の最初の溶液の好ましい濃度は、約 0 . 5 m g / m L から約 5 . 0 m g / m L までにわたる。各成分、すなわち、抗体溶液を調製するための好ましい手順は、それぞれ 1 0 0 倍単位ホメオパシー希釈物 C 1 2 、 C 3 0 、及び C 2 0 0 に相当する、抗体の一次マトリックス溶液(母液)を 1 0 0 <sup>1</sup> <sub>2</sub> 倍希釈、 1 0 0 <sup>3</sup> <sub>0</sub> 倍希釈及び 1 0 0 <sup>2</sup> <sub>0</sub> 倍希釈した 3 種の水希釈物若しくは水 - アルコール希釈物の混合物を使用することである。ホメオパシーポテンタイゼーションの例は、その全体が参照により明示された目的で本明細書に組み込まれる、米国特許第 7 , 5 7 2 , 4 4 1 号及び同第 7 , 5 8 2 , 2 9 4 号に記載されている。特許請求の範囲では「活性化増強型」という用語が使用され、実施例では「超低用量」という用語が使用される。「超低用量」という用語は、ホメオパシーにより希釈され、増強された型の物質の研究及び使用によって創出された技術分野における専門用語に

40

50

なった。「超低用量（ultra-low dose）」又は「超低用量（ultra-low doses）」という用語は、特許請求の範囲において使用される「活性化増強」型という用語を完全に支持し、それと主に同義であるものとする。

#### 【0031】

言い換えれば、抗体は、3つの因子が存在すれば、「活性化増強」型又は「増強」型である。第1に、「活性化増強」型抗体は、ホメオパシーの技術分野では広く受け入れられている調製プロセスの生成物である。第2に、「活性化増強」型抗体は、現代薬理学において広く受け入れられている方法によって決定される生物活性を有さなければならない。第3に、「活性化増強」型抗体により示される生物活性は、ホメオパシーのプロセスの最終生成物に分子型抗体が存在することによっては説明することができない。

10

#### 【0032】

例えば、活性化増強型抗体は、最初の、単離された分子型抗体を、機械的な振とうなどの外部からの衝撃と併せて連続して多数回希釈することによって調製することができる。濃度低下の過程における外部からの処理は、例えば、超音波、電磁気、又は他の物理的因素に曝露させることによって実現することもできる。その全体が参照により明示された目的で本明細書に組み込まれるV. Schwabe 「Homeopathic medicines」、M.、1967年、米国特許第7,229,648号及び同第4,311,897号には、ホメオパシーの技術分野において広く受け入れられているホメオパシー増強の方法であるそのようなプロセスが記載されている。この手順により、最初の分子型抗体の分子濃度が均一に低下する。所望のホメオパシーポーテンシーが得られるまでこの手順を繰り返す。個々の抗体について、所要のホメオパシーポーテンシーは、中間希釈物を所望の薬理学的モデルにおいて生物学的試験に供することによって決定することができる。そのように限定するものではないが、「ホメオパシーポテンタライゼーション」は、例えば、外部からの処理、特に垂直方向の（機械的な）振とうと組み合わせて連続した希釈を繰り返すことを伴ってよい。言い換えれば、ホメオパシーの技術に従って、抗体の最初の溶液を連続して繰り返し希釈し、得られた溶液をそれぞれ多数回、垂直方向に振とうする。溶媒、好ましくは水又は水とエチルアルコールの混合物中の抗体の最初の溶液の好ましい濃度は、約0.5mg/mLから約5.0mg/mLにわたる。各成分、すなわち、抗体溶液を調製するための好ましい手順は、それぞれ100倍単位ホメオパシー希釈物C12、C30及びC200に相当する、抗体の一次マトリックス溶液（母液）を100<sup>1/2</sup>倍希釈、100<sup>3/0</sup>倍希釈及び100<sup>2/0</sup>倍希釈した3種の水希釈物若しくは水-アルコール希釈物の混合物を使用することである。所望のポーテンシーをどのように得るかの例も、例えば、明示された目的で参照により組み込まれる、米国特許第7,229,648号及び同第4,311,897号において提供される。本明細書に記載の「活性化増強」型抗体に適用可能な手順は、下に詳しく記載されている。

20

#### 【0033】

ヒト対象のホメオパシー治療に関してはかなりの量の議論がなされてきた。本発明は、「活性化増強」型抗体を得るために、受け入れられているホメオパシーのプロセスに依拠するが、本発明は、活性を証明するためにはヒト対象におけるホメオパシー単独に依拠するのではない。驚くべきことに、本願の発明者は、認められている薬理学的モデルにおいて、出発分子型抗体を連続して多数回希釈することから最終的に得られた溶媒が、標的希釈物中に分子型抗体の痕跡が存在することとは無関係の決定的な活性を有することを発見し、十分に実証した。本明細書で提供される「活性化増強」型抗体を、生物活性について、広く受け入れられている活性の薬理学的モデルにおいて、適切なin vitro実験において、又は適切な動物モデルにおいてin vivoで試験した。該実験により、更に以下に提供される、そのようなモデルにおける生物活性の証拠がもたらされた。同様に以下に本明細書で提供される、ヒトの臨床研究は、動物モデルにおいて観察された活性が、ヒトの療法によく翻訳されるという証拠を特に提供する。ヒト研究によって、医科学において病的状態として広く認められている特定のヒト疾患又は障害を治療するため、本明細書に記載の「活性化増強」型の利用可能性の証拠ももたらされる。

30

40

50

## 【0034】

また、特許請求された「活性化増強」型抗体は、その生物活性が、最初の出発溶液から残っている分子型抗体が存在することによっては説明することができない溶液又は固体調製物のみを包含する。言い換えれば、「活性化増強」型抗体は、最初の分子型抗体の痕跡を含有してよいことが意図されているが、連続して希釈した後に残った分子型抗体は非常に低濃度であるので、当業者は、認められている薬理学的モデルにおいて観察される生物活性が、いかなる程度の妥当性でも残りの分子型抗体に起因すると考えることができない。本発明は特定の理論に限定されるものではないが、本発明の「活性化増強」型抗体の生物活性は、最初の分子型抗体には起因しない。その中に含まれる分子型抗体の濃度が、認められている分析的な技法、例えば、キャピラリー電気泳動及び高速液体クロマトグラフィーなどの検出限界を下回る、液体又は固体の形態の「活性化増強」型抗体が好ましい。その中に含まれる分子型抗体の濃度がアボガドロ数未満である液体又は固体の形態の「活性化増強」型抗体が特に好ましい。分子型の治療用物質の薬理学において、薬理学的反応のレベルが、対象に投与される、又は *in vitro* で試験される活性薬物の濃度に対してプロットされた用量反応曲線を作成することは一般的である。任意の検出可能な反応を生じる薬物の最小レベルは、閾値用量として公知である。「活性化増強」型抗体は、もしあれば、分子抗体を、所与の生物学的モデルにおける分子型抗体の閾値用量を下回る濃度で含有することが具体的に意図されており、それが好ましい。

10

## 【0035】

「C B 1 受容体」という用語は、当技術分野における通常の意味を有し、天然に存在するC B 1 受容体並びにその変異体及び改変形態を含んでよい。C B 1 受容体は、任意の供給源に由来してよいが、典型的には哺乳動物に由来する。

20

## 【0036】

「肥満」という用語は、所与の身長に対して健康であると通常みなされる体重よりも重い体重範囲を意味する。肥満範囲は、体重及び身長を用いて「ボディマス指数」(B M I)と呼ばれる数値を算出することによって決定される。B M Iが2 5 から 2 9 . 9 の間である成人は、過体重とみなされる。B M Iが3 0 以上である成人は肥満とみなされる。B M Iの公式は以下の通りである：

体重 - (インチ単位の身長)  $2 \times 703 = \text{B M I}$

## 【0037】

30

B M Iは、常に正確に肥満の程度を示すとは限らない。B M Iよりも中心性脂肪(中心性肥満)分布の程度の方が、代謝リスクにより密接に結びついている可能性があることを示す論文の数が増えている。中心性脂肪分布の程度の測定は、正常体重の個体においてさえ、その後の健康リスクを早期に検出するために重要であると思われるようである。S D Hsieh、H Yoshinaga、及びT Muto、International Journal of Obesity (2003) 27、610 ~ 616。Price GM、Uauy R、Breeze E、Bulpitt CJ、Fletcher AE(2006年8月)「Weight, shape, and mortality risk in older persons: elevated waist-hip ratio, not high body mass index, is associated with a greater risk of death」Am. J. Clin. Nutr. 84 (2) : 449 ~ 60も参照されたい。ウエスト周囲径及びウエスト周囲径から導き出された指標、例えば、ウエスト対ヒップ比及びウエスト対身長比が、中心性肥満の代理尺度として使用されている。Sungら、Waist circumference and waist-to-height ratio of Hong Kong Chinese children、BMC Public Health 2008、8 : 324。したがって、身体計測パラメータ、例えば、ウエスト周囲径、ウエスト対ヒップ比、及びウエスト対身長比の測定値は、肥満の程度の指標であると考えられている。

40

## 【0038】

50

「ウエスト対ヒップ比」という用語は、ウエストの外周とヒップの外周の比である。ウエスト・ヒップ比は、ウエスト外周をヒップ外周で割った値に等しい。女性の場合は0.9より大きいウエスト対ヒップ比、男性の場合は1.0より大きいウエスト対ヒップ比が、心血管疾患のリスク増大に関連付けられており、肥満治療の指標である。理想的には、女性のウエスト対ヒップ比は0.8以下であることが望ましく、男性のウエスト対ヒップ比は0.95以下であることが望ましい。

【0039】

ある人物の「ウエスト対身長比」という用語は、その人物のウエスト外周をその人物の身長で割った値と定義される。40歳未満の人の場合、0.5を超えるウエスト対身長比は危険である。40歳から50歳の間の年齢群の人の場合は、危険値は0.5から0.6の間であり、50歳を超える人の場合、危険値は0.6から始まる。

10

【0040】

「肥満に関連する代謝障害」という用語は、肥満に関連した過大な健康リスクを低下させるために治療を必要とする慢性疾患を意味し、例示的な障害としては、2型糖尿病、心血管障害及び高血圧、高脂血症、並びにフィブリン溶解異常が挙げられる。

【0041】

「ファガストローム試験」という用語は、ニコチン依存の強さを評価するための検査である、ニコチン依存に関する標準的試験を意味する。Heatherton, T. F. 、 Kozlowski, L. T. 、 Frecker, R. C. 、 Fagerstrom, K. O. The Fagerstrom test for Nicotine Dependence: A revision of the Fagerstrom Tolerance Questionnaire. Br J Addict 1991; 86: 1119~27を参照されたい。この試験は、0~10の尺度でニコチン依存を測定する簡潔な自己申告性調査からなり、最も高レベルの依存が10である。

20

【0042】

「気分と身体症状の評価尺度」(MPSS)という用語は、紙巻きタバコの禁断症状を評価するために使用される、1980年代初期に開発された尺度を意味する。(West R、Hajek P: Evaluation of the mood and physical symptoms scale (MPSS) to assess cigarette withdrawal. Psychopharmacology 2004; 177(1~2): 195~199)。MPSSの中心的原理は、抑うつ気分、短気、落ち着きのなさ、集中することが困難な状態、及び空腹感の5点制評価並びに喫煙衝動の強さ及びこれらの衝動を感じながら過ごす時間の6点制評価を含む。

30

【0043】

「不安及び抑うつの病院評価尺度」(HADS)という用語は、入院患者及び外来患者における不安及び抑うつの徴候をスクリーニングするための主観的尺度を意味する。Zigmond, A. S. 、 Snaith, R. P. 、 The Hospital Anxiety and Depression scale, Acta Psychiatr. Scand. 、 1983、第67巻、361~370ページを参照されたい。

40

【0044】

本発明は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体を含む、それを必要とする患者に投与するための医薬組成物を提供する。

【0045】

本発明は更に、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体及びb)タンパク質S-100に対する活性化増強型抗体を含む、それを必要とする患者に投与するための医薬組成物も提供する。

【0046】

本発明のこの態様による医薬組成物は、液状形態であっても固体形態であってもよい。医薬組成物に含まれる活性化増強型の抗体はそれぞれ、ホメオパシー技術分野で受け入れられているプロセスによって、その最初の分子形態の抗体から調製される。出発抗体は、

50

例えば、どちらも参考により本明細書に組み込まれる *Immuno techniques* 、 *G. Frimel, M.* 、「 *Meditsyna* 」、 1987、 9 ~ 33 ページ ; 「 *Hum. Antibodies. Monoclonal and recombinant antibodies, 30 years after* 」 *Laffly E.* 、 *Sodoyer R.* 著 2005 第 14 卷 N1 ~ 2、 33 ~ 55 頁に記載されている公知のプロセスに従って調製されたモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体であってよい。

【 0047 】

肥満及びニコチン依存を治療するための薬学的組み合わせが、 1 日当たり錠剤 6 ~ 8 個の量で投与されることが意図されている。 1 つの変形では、投与様式は、錠剤 2 個、 1 日 3 回を含む。別の変形では、投与様式は、錠剤 3 個、 1 日 2 回を含む。別の変形では、投与様式は、錠剤 4 個、 1 日 2 回を含む。別の変形では、投与様式は、錠剤 1 個、 1 日 6 回を含む。別の変形では、投与様式は、錠剤 2 個、 1 日 4 回を含む。

10

【 0048 】

モノクローナル抗体は、例えば、ハイブリドーマ技術によって得ることができる。このプロセスの最初の段階は、ポリクローナル抗血清の調製の過程においてすでに開発されている原理に基づいた免疫化を含む。研究のさらなる段階は、同一の特異性を有する抗体のクローンを生成するハイブリッド細胞の作製を伴う。それらの別々の単離は、ポリクローナル抗血清を調製する場合と同じ方法を使用して実施する。

20

【 0049 】

ポリクローナル抗体は、動物の能動免疫化によって得ることができる。この目的で、例えば、適切な動物（例えばウサギ）に、適切な抗原であるヒトカンナビノイド受容体又はタンパク質 S - 100 のいずれかの一連の注射を受けさせる。動物の免疫系により、対応する抗体が生成し、それを公知の様式で動物から採取する。この手順により、単一特異性の抗体が豊富な血清を調製することが可能になる。

30

【 0050 】

所望であれば、抗体を含有する血清は、例えば、アフィニティークロマトグラフィー、塩析による分画、又はイオン交換クロマトグラフィーを用いて精製することができる。得られた、精製された抗体濃縮富化血清を、活性化増強型の抗体を調製するための出発材料として使用することができる。生じた得られた、溶媒、好ましくは水又は水とエチルアルコールの混合物中の抗体の最初の溶液最初の、溶媒中抗体溶液、好ましくは水中抗体溶液又は水とエチルアルコールの混合物中抗体溶液の好ましい濃度は、約 0.5 mg / mL から約 5.0 mg / mL までにわたる。

40

【 0051 】

本発明の活性化増強型抗体又は本発明による組み合わせ抗体を調製するための好ましい手順は、それぞれ 100 倍単位ホメオパシー希釈物 C12、 C30 及び C200 に相当する、抗体の一次マトリックス溶液を  $100^{1/2}$  倍希釈、  $100^{3/0}$  倍希釈及び  $100^{2/0}$  倍希釈した 3 種の水 - アルコール希釈物の混合物を使用することである。固体剤形を調製するために、固体担体を、ホメオパシーのプロセスによって得られた所望の希釈物で処理する。本発明の組み合わせの固体単位剤形を得るために、担体塊に各希釈物を浸透させる。どちらの浸透の階数も、所望の組み合わせ剤形を調製するために適している。

【 0052 】

好ましい実施形態では、本発明を含む活性化増強型を調製するための出発材料は、動物に產生させた、対応する抗原、すなわち、ヒトカンナビノイド受容体及び / 又はタンパク質 S - 100 に対するポリクローナル抗体である。

【 0053 】

ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型のポリクローナル抗体を得るために、所望の抗原を免疫原として実験動物、好ましくは、ウサギに注射することができる。ヒトカンナビノイド受容体に対するポリクローナル抗体を得るために、ヒトカンナビノイド受容体の分子全体を使用することが可能である。ヒトカンナビノイド受容体の以下の配列（

50

配列番号 1 ) が、適切な抗原として特に意図されている :

配列番号 1 ヒト C B 1 受容体

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
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	Glut
46			50						55				60	
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
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	
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
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  
 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 10  
 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  
 Ile Asp Glu Thr Tyr Leu Met Phe Trp Ile Gly Val Thr Ser Val  
 271 275 280 285 20  
 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  
 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 30  
 331 335 340 345  
 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  
 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 10  
 406 410 415 420

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  
 451 455 460 465 20

Asp Thr Ser Ala Glu Ala Leu

466 470 472

配列番号 2 ヒト C B 2 受容体

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  
 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 10  
 46 50 55 60  
 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  
 91 95 100 105 20  
 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  
 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 30  
 151 155 160 165  
 Tyr Leu Pro Leu Met Gly Trp Thr Cys Cys Pro Arg Pro Cys Ser  
 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 40  
 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  
 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 10  
 286 290 295 300  
 Leu Arg Ser Gly Glu Ile Arg Ser Ser Ala His His Cys Leu Ala  
 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 20  
 Ile Thr Pro Trp Pro Asp Ser Arg Asp Leu Asp Leu Ser Asp Cys  
 346 350 355 360  
 【0054】

好ましくは、ヒトカンナビノイド受容体のポリペプチド断片が、ウサギの免疫化のための免疫原（抗原）として使用される。ヒトカンナビノイド受容体のポリペプチド断片を得るためにポリクローナル抗体を得るために、ヒトカンナビノイド受容体の合成ペプチドを免疫原（抗原）として使用することが可能である。そのような抗原に適した配列（ヒトCB1受容体）は以下の通りである：

配列番号 3 30

Gln Arg Gly Thr Gln Lys  
 310 315

Ser Ile Ile Ile

316 319

配列番号 4

Glu Lys Leu Gln Ser Val Cys Ser Asp Ile Phe Pro His  
 258 260 265 270 40

Ile Asp Glu Thr Tyr Leu

271 275 276

配列番号 5

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

配列番号 6 10

Lys  
300

Ala His Ser His Ala Val Arg Met Ile Gln Arg Gly Thr Gln Lys  
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 20

配列番号 7

Met Ser Val Ser Thr  
461 465  
Asp Thr Ser Ala Glu Ala Leu  
466 470 472

配列番号 8 30

Thr Glu Phe Tyr Asn Lys Ser Leu Ser Ser Phe Lys  
79 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  
106 110 114

配列番号 9 40

Gln  
420  
Pro Leu Asp Asn Ser Met Gly Asp Ser Asp Cys Leu His Lys His  
421 425 430 435  
Ala Asn  
436 437

配列番号 10 50

Gly Thr Gln Lys

312 315

Ser Ile Ile Ile His Thr Ser Glu Asp Gly

316 320 325

配列番号 1 1

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

10

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

Glu Cys Phe Met Val Leu Asn

106 110 112

配列番号 1 2

20

Val Val Ala Phe Cys Leu Met  
234 235 240

Trp Thr Ile Ala Ile Val Ile

241 245 247

配列番号 1 3

30

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

Val Leu Ser Leu Thr Leu

121 125 126

配列番号 1 4

40

Asn Glu Glu Asn Ile Gln Cys Gly Glu

92 95 100

配列番号 1 5

		Gly Ser Pro Phe Gln Glu	
	55		60
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 Ser Leu			
76	80	85 86	10
配列番号 1 6			
		Ala Tyr Lys	
	223		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			
256			

## 【 0 0 5 5 】

ヒトカンナビノイド受容体に対する出発ポリクローナル抗体を調製するための例示的な手順は、以下の通り説明することができる。血液試料を採取する7～9日前に、所望の抗原を、ウサギに1～3回静脈内注射して、ウサギの血流中のポリクローナル抗体のレベルを上昇させる。免疫化したら、抗体レベルを検査するために血液試料を取得する。一般には、可溶性抗原の免疫応答の最大レベルは、抗原を最初に注射した後40～60日以内に実現される。第1の免疫化サイクルが達成されたら、ウサギを30日のリハビリテーション期間におき、その後、更に1～3回静脈内注射して再免疫化を実施する。

## 【 0 0 5 6 】

所望の抗体を含有する抗血清を得るために、ウサギから、免疫化されたウサギの血液を採取し、50mLの遠心管に入れる。管の側面に形成された生成物である血餅を木べらで除去し、管の中心の血餅にロッドを入れる。次いで、血液を冷蔵庫に約40の温度で一晩置く。次の日に、へらの上の上の血餅を除去し、残りの液体を1分当たり13,000回転で10分間遠心分離する。上清の流体が標的抗血清である。得られた抗血清は一般には黄色である。抗血清に、20%のNaN<sub>3</sub>（重量濃度）を最終濃度が0.02%になるまで加え、使用する前に、-20の温度で凍結した状態で保管する、又は、NaN<sub>3</sub>なしで-70の温度で保管する。カンナビノイド受容体に対する標的抗体を抗血清から分離するためには、以下の固相吸収の連続が適している：

## 【 0 0 5 7 】

ウサギの抗血清10mLを0.15MのNaClで2倍希釈し、その後、6.26gのNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を加え、混合し、4で12～16時間インキュベートする。沈渣を遠心分離によって除去し、リン酸緩衝液10mL中に希釈し、同じ緩衝液に対して室温で一晩にわたって透析する。沈渣を除去した後、溶液をリン酸緩衝液によって平衡させたDEAE-セルロースカラムに適用する。溶出液の280nmにおける光学濃度を測定することによって抗体画分を決定する。

## 【 0 0 5 8 】

30

40

50

単離された粗製の抗体を、アフィニティークロマトグラフィー法を使用し、得られた抗体を、クロマトグラフィー媒体の不溶性マトリックス上にあるカンナビノイド受容体に付着させることによって精製し、その後濃縮した水性塩類溶液により溶出させる。

【0059】

得られた緩衝溶液を、活性化増強型の抗体を調製するために用いるホメオパシー希釈プロセスの最初の溶液として使用する。カンナビノイド受容体に対する抗原精製ポリクローナルウサギ抗体の最初のマトリックス溶液の好ましい濃度は0.5～5.0mg/mL、好ましくは、2.0～3.0mg/mLである。

【0060】

神経細胞並びにグリア細胞（星状細胞及び乏突起膠細胞）によって発現される脳特異的S100タンパク質は、直接的に、又は他のタンパク質との相互作用を通じて、正常な脳機能を維持するためのいくつかの機能をCNSにおいて果たし、これらの機能には、神経細胞の学習プロセス及び記憶プロセス、成長、並びに生存能力に影響を及ぼすことや神経組織における代謝プロセスの調節などが含まれる。脳特異的タンパク質S100に対するポリクローナル抗体を得るために、脳特異的タンパク質S100が使用され、その物理的特性及び化学的特性は、論文M.V. Starostin, S.M. Sviridov, Neurospecific Protein S-100, Progress of Modern Biology, 1977、第5巻、170～178ページにおいて説明され、書籍M.B. Shtark, Brain-Specific Protein Antigens and Functions of Neuron, 「Medicine」、1985；12～14ページにおいて見出される。脳特異的タンパク質S100は、以下の技術によって、雄ウシ脳組織から割り当てる（allocated）。

- 特殊な粉碎機を用いて、液体窒素中で凍結させた雄ウシ脳組織を粉末に変化させる；
- 抽出用緩衝液を用いてホモジナイゼーションして、タンパク質を1:3の比（重量/体積）で抽出する；
- ホモジネートを60度10分間加熱し、次いで、氷浴中で4まで冷却する；
- 遠心分離によって、熱不安定性タンパク質を除去する；
- 硫安分画を段階的に実施し、沈降したタンパク質を繰り返して除去する；
- pHを4.0に落とすことによって達成される100%飽和硫酸アンモニウムを用いて、S-100タンパク質を含有する画分を沈殿させる。遠心分離によって、所望の画分を回収する；
- EDTA及びメルカプトエタノールを含有する最小限の体積の緩衝液に沈殿物を溶解し、脱イオン水を用いて沈殿物を透析し、凍結乾燥する；
- 酸性タンパク質を分画した後に、イオン交換媒体、DEAE-セルロースDE-52、次いでDEAE-セファデックスA-50中でのクロマトグラフィーを続ける；
- セファデックスG-100を用いたゲルfiltrationにより、分子量に基づいて、S-100タンパク質を含有する回収し透析した画分を分割する；
- 精製されたS-100タンパク質を透析し、凍結乾燥する。

【0061】

精製された脳特異的タンパク質S-100の分子量は21,000Dである。

【0062】

アスパラギン酸及びグルタミン酸が高濃度であるため、脳特異的タンパク質S-100は酸性度が高く、同定を容易にするポリアクリルアミドの不連続緩衝液系における電気浸透の間、極端な陽極位置を占める。

【0063】

S-100タンパク質に対するポリクローナル抗体は、アジュバントを使用して、カンナビノイド受容体抗体に関して記載されている方法と同様の方法によって得ることもできる。S-100タンパク質の分子全体を、ウサギの免疫化のための免疫原（抗原）として使用することができる：

Met Ser Glu Leu Glu Lys Ala Val Val Ala Leu Ile Asp Val Phe

1 5 10 15

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

16 20 25 30

Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ile Asn Asn Glu Leu Ser His Phe Leu

31 35 40 45

Glu Glu Ile Lys Glu Gln Glu Val Val Asp Lys Val Met Glu Thr

10

46 50 55 60

Leu Asp Ser Asp Gly Asp Gly Glu Cys Asp Phe Gln Glu Phe Met

61 65 70 75

Ala Phe Val Ala Met Ile Thr Thr Ala Cys His Glu Phe Phe Glu

76 80 85 90

His Glu

91 92

20

配列番号 18 - ヒト S 100B

Met Ser Glu Leu Glu Lys Ala Met Val Ala Leu Ile Asp Val Phe

1 5 10 15

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

16 20 25 30

Ser Glu Leu Lys Glu Leu Ile Asn Asn Glu Leu Ser His Phe Leu

31 35 40 45

30

Glu Glu Ile Lys Glu Gln Glu Val Val Asp Lys Val Met Glu Thr

46 50 55 60

Leu Asp Asn Asp Gly Asp Gly Glu Cys Asp Phe Gln Glu Phe Met

61 65 70 75

Ala Phe Val Ala Met Val Thr Thr Ala Cys His Glu Phe Phe Glu

76 80 85 90

His Glu

40

91 92

配列番号 19 - ヒト S 100A1

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 10  
 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 20

配列番号 20 - ウシ S 1 0 0 A 1

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 30  
 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 40  
 91 94

【 0 0 6 4 】

抗血清を得るために、フロイント完全アジュバントを入れた、運搬剤としてのメチル化雄ウシ血清アルブミンと複合体をなした脳特異的 S - 1 0 0 タンパク質又は S - 1 0 0 タンパク質の混合物（抗原）を調製し、割り当てられた脳特異的タンパク質 S - 1 0 0 に添加し、実験動物の真皮下に注射する。すなわち、ウサギの背中領域に 1 ~ 2 mL の量を注射する。8 日目、15 日目に免疫化を反復して行う。26 日目及び 28 日目に（例えば、耳の静脈から）血液試料を採取する。

【 0 0 6 5 】

得られる抗血清の力価は1:500~1:1,000であり、神経組織の抽出物とは単一の沈降素バンドを形成するが、ヘテロロジカルボディ(heterological bodies)の抽出物とは反応せず、純粋なタンパク質S-100及び神経組織の抽出物のどちらとも単一の沈降素ピークを形成することから、得られた抗血清が単一特異性であることが示唆される。

【0066】

本発明の活性化増強型の抗体は、最初の溶液から、ホメオパシーポテンタイゼーションによって、好ましくは、約0.5mg/mLから約5.0mg/mLまでの、溶媒、好ましくは水又は水とエチルアルコールの混合物中の抗体の最初の溶液の濃度から出発して、(最初の溶液から開始する)前の溶液のそれぞれ(最初の溶液から開始する)1部を9部(10倍希釈(decimal dilution))、又は99部(100倍希釈)、又は999部(1,000倍希釈(millesimal dilution))の中性の溶媒中に、入れて最初の、溶媒中抗体溶液、好ましくは水中抗体溶液又は水とエチルアルコールの混合物中抗体溶液の濃度を約0.5mg/mLから約5.0mg/mLまでから開始して段階希釈することによる比例的な濃度低下の方法を外部からの衝撃方法と併せて用いて調製することができる。外部からの衝撃は、各希釈物を多数回垂直方向に振とうすること(ダイナマイゼーション)を伴うことが好ましい。その後の、所要のポーテンシーレベル、又は希釈因子に至るまでの希釈のそれぞれには別々の容器を使用することが好ましい。この方法は、ホメオパシーの技術分野では広く受け入れられている。例えば、明示された目的で参照により本明細書に組み込まれるV. Schwabe 「Homeopathic medicines」、M.、1967年、14~29頁を参照されたい。

【0067】

例えば、12-100倍希釈物(C12と示される)を調製するために、3.0mg/mLの濃度のヒトカンナビノイド受容体に対する抗体の最初のマトリックス溶液1部を、中性の、水を含む又は水-アルコールを含む溶媒(好ましくは、15%エチルアルコール)99部中に希釈し、次いで何回も(10回以上)垂直方向に振とうして、第1の100倍単位希釈物(C1と示される)を創出する。第1の100倍希釈物C1から第2の100倍単位希釈物(C2)を調製する。この手順を11回繰り返して第12の100倍単位希釈物C12を調製する。したがって、第12の100倍単位希釈物C12は、異なる容器内で、3.0mg/mLの濃度の抗体の最初のマトリックス溶液1部を中性の溶媒99部中に12回段階希釈することによって得られる溶液を表し、100倍単位ホメオパシー希釈物C12に相当する。関連する希釈因子を用いて同様の手順を実施して希釈物C30及びC200を得る。中間希釈物を所望の生物学的モデルにおいて試験して活性を確認することができる。本発明を含む抗体の好ましい活性化増強型は、各活性化増強型のC12、C30、及びC200希釈物の混合物である。活性な物質の種々のホメオパシー希釈物(主に100倍単位希釈物)の混合物を生物活性のある液体成分として使用する場合、組成物(例えば、C12、C30、C50、C200)の各成分は、上記の手順に従って、最後から二番目の希釈物が得られるまで(例えば、それぞれC11、C29、及びC199まで)別々に調製し、次いで各成分1部を、混合物の組成に従って1つの容器に加え、所要量(例えば、100倍希釈するためには97部)の溶媒と混合する。

【0068】

活性な物質を種々のホメオパシー希釈物、例えば、10倍希釈物及び/又は100倍希釈物(D20、C30、C100又はC12、C30、C50など)の混合物として使用することが可能であり、その効率は、希釈物を適切な生物学的モデル、例えば、本明細書の実施例に記載のモデルにおいて試験することによって実験的に決定される。

【0069】

増強及び濃度低下の過程では、垂直方向の振とうを、超音波、電磁場への外部からの曝露又はホメオパシーの技術分野で受け入れられている任意の同様の外部からの衝撃手順と置き換えることができる。

10

20

30

40

50

## 【0070】

好ましくは、本発明の医薬組成物は、液体の形態又は固体単位剤形とすることができます。医薬組成物が2つの抗体を含む場合、液体形態の医薬組成物は、好ましくは、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体及びタンパク質S-100に対する活性化増強型抗体が1:1の比率である、2つの抗体の混合物を含む。好ましい液体担体は水又は水-エチルアルコール混合物である。

## 【0071】

本発明の医薬組成物の固体単位剤形は、薬学的に許容される固体担体に、活性化増強型、活性成分の水溶液又は水-アルコール溶液の混合物を浸透させることを用いることによって調製することができる。医薬組成物が2つの抗体を含む場合、活性成分は、主に1:1の比率で混合し、液体剤形で用いる。あるいは、必要な希釈物のそれぞれを継続的に担体に浸透させることができる。どちらの浸透の階数も受け入れられる。

10

## 【0072】

好ましくは、固体単位剤形の医薬組成物は、活性化増強型抗体の水希釈物又は水-アルコール希釈物を予め染み込ませた薬学的に許容される担体の顆粒剤から調製する。固体剤形は、錠剤、カプセル剤、ロゼンジ、及びその他を含めた製薬技術分野で公知の任意の形態であつてよい。不活性な医薬成分として、医薬品の製造において使用されるグルコース、スクロース、マルトース、デンプン、イソマルトース、イソマルト及び他の単糖、オリゴ糖及び多糖、並びに上記の不活性な医薬成分と、潤滑剤、崩壊剤、結合剤及び着色料を含めた他の薬学的に許容される賦形剤、例えば、イソマルト、クロスポビドン、シクラミン酸ナトリウム、サッカリンナトリウム、無水クエン酸などとの技術的混合物を使用することができる。好ましい担体は、ラクトース及びイソマルトである。薬剤剤形は、標準の製薬用賦形剤、例えば、結晶セルロース及びステアリン酸マグネシウムを更に含んでよい。

20

## 【0073】

固体単位剤形の調製物の例は下に記載されている。経口用の固体形態を調製するためには、ラクトースの顆粒100~300μmを、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体及び/又はS-100に対する活性化増強型抗体の水溶液又は水-アルコール溶液に、ラクトース5kg又は10kgに対して抗体溶液1kg(1:5~1:10)の比率で浸透させる。浸透に影響を及ぼすために、ラクトース顆粒を、煮沸ベッドプラント(例えばHuttlin GmbHの「Huttlin Pilotlab」)中の流動煮沸ベッド中で染み込ませるための注水に曝露させ、その後、40未満の加熱した空気の流れによって乾燥する。活性化増強型抗体を染み込ませた乾燥顆粒(10~34重量部)の推定量をミキサーに入れ、25~45重量部の「染み込ませていない」純粋なラクトース(処理効率を低下させることなく科学技術的なプロセスの費用を縮小し、それを単純化及び加速するために使用する)と、0.1~1重量部のステアリン酸マグネシウム、及び3~10重量部の結晶セルロースと一緒に混合する。得られた錠剤集団を均一に混合し、(例えば、Korsch-XL400打錠機において)直接乾式プレスすること(例えば、Korsch-XL400打錠機において)によって錠剤化して、150~500mg、好ましくは、300mgの丸剤を形成する。錠剤化した後、活性化増強型抗体の組み合わせの水-アルコール溶液(丸剤1粒当たり3.0~6.0mg)を染み込ませた丸剤300mgを得る。担体に浸透させるために使用する組み合わせの各成分は、100倍単位ホメオパシー希釈物、好ましくは、C12、C30及びC200の混合物の形態である。

30

## 【0074】

本発明はいかなる特定の理論にも限定されるものではないが、本明細書に記載の活性化増強型抗体は、分子型抗体を、そのような分子型に帰する生物活性を有するのに十分な量では含有しないと考えられている。本発明の医薬組成物及び本発明の医薬組成物の組み合わせの生物活性は、添付の実施例において十分に実証されている。

40

## 【0075】

ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体を含む医薬組成物は、肥満及び関

50

連する代謝障害に苦しんでいる患者に投与するために使用することができる。

【0076】

添付の実施例において示すように、本発明の活性化増強型抗体を投与すると、体重が減少し、体重増加が減少し、中心性肥満が減少し、かつ摂食量の減少が促進される。

【0077】

一実施形態では、本発明は、ヒトカンナビノイド受容体、好ましくはカンナビノイド受容体1に対する活性化増強型抗体を含む医薬組成物を投与することによって、肥満及び関連する代謝障害を治療する方法を提供する。

【0078】

別の実施形態では、本発明は、ヒトカンナビノイド受容体、好ましくはカンナビノイド受容体1に対する活性化増強型抗体を含む医薬組成物を投与することによって、摂食量の減少から利益を受けると予想される対象において摂食量の減少を促進する方法を提供する。

10

【0079】

一実施形態では、身体計測パラメータ、例えば、ウエスト周囲径、ウエスト対ヒップ比、及びウエスト対身長比を変更するための方法が提供される。一実施形態では、対象のウエスト周囲径を減少させるための方法が提供され、この方法は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体を含む医薬組成物を、それを必要とする対象に、対象のウエスト周囲径を減少させるのに有効な量で投与することを含む。一実施形態では、ヒトカンナビノイド受容体は、ヒトカンナビノイド受容体1である。一実施形態では、対象のウエスト周囲径は、少なくとも約1%減少する。他の実施形態では、対象のウエスト周囲径は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体を含む医薬組成物の投与前の対象と比べて、少なくとも約1.5%、2%、2.5%、3%、又は3.5%減少する。一実施形態では、対象のウエスト周囲径は、少なくとも約1cm減少する。他の実施形態では、対象のウエスト周囲径は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体を含む医薬組成物の投与前の対象と比べて、少なくとも約2cm、3cm、又は4cm減少する。

20

【0080】

別の実施形態では、対象の体重を減少させるための方法が提供され、この方法は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体を含む医薬組成物を、それを必要とする対象に、対象の体重を減少させるのに有効な量で投与することを含む。一実施形態では、ヒトカンナビノイド受容体は、ヒトカンナビノイド受容体1である。一実施形態では、対象の体重は、少なくとも約15%減少する。他の実施形態では、対象の体重は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体を含む医薬組成物の投与前の対象と比べて、少なくとも約5%、10%、又は15%減少する。

30

【0081】

別の実施形態では、対象の体重増加を減少させるための方法が提供され、この方法は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体を含む医薬組成物を、それを必要とする対象に、対象の体重増加を減少させるのに有効な量で投与することを含む。一実施形態では、ヒトカンナビノイド受容体は、ヒトカンナビノイド受容体1である。一実施形態では、対象の体重増加は、少なくとも約60%減少する。他の実施形態では、対象の体重増加は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体を含む医薬組成物の投与前の対象と比べて、少なくとも約10%、25%、30%、50%、又は60%減少する。

40

【0082】

ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体と、S-100タンパク質に対する活性化増強型抗体とを含む医薬組成物は、精神活性物質への依存、好ましくはニコチン依存に苦しんでいる患者に投与するために使用することができる。

【0083】

驚くべきことに、出願人は、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体とS-100タンパク質に対する活性化増強型抗体の組み合わせが、物質乱用の治療において

50

有用であることを発見した。

【0084】

一実施形態では、ヒトカンナビノイド受容体に対する活性化増強型抗体とS-100タンパク質に対する活性化増強型抗体の組み合わせは、ニコチン依存の治療において有用である。

【0085】

ヒトカンナビノイド受容体1に対する活性化増強型抗体と、S-100タンパク質に対する活性化増強型抗体とを含む医薬組成物をニコチン依存患者の治療のために投与すると、抑うつ及び不安などの基準に基づいて評価される生活の質のパラメータが改善される。

【0086】

ヒトカンナビノイド受容体1に対する活性化増強型抗体と、S-100タンパク質に対する活性化増強型抗体とを含む医薬組成物をニコチン依存患者の治療のために投与すると、M P S S 試験のデータの分析によって測定されるように、より簡単かつ苦しまずに禁煙に耐える能力が向上することが実験で実証されている。

10

【0087】

ニコチン依存度に関するファガストローム試験によって測定される値が4より大きい、ニコチン依存が重度ではない患者にこの組み合わせを投与すると、4週間で少なくとも23%、8週間で少なくとも36%、12週間で少なくとも41%の喫煙減少がもたらされることが実験で実証されている。また、ニコチン依存が重度ではない患者にこの組み合わせを投与すると、ファガストローム試験の最初の平均点数値に少なくとも $1.34 \pm 0.14$ という統計的に有意な減少がもたらされることも実験で実証されている。

20

【0088】

ニコチン依存度に関するファガストローム試験によって測定される値が7以上である、重度のニコチン依存患者にこの組み合わせを投与すると、4週間で少なくとも11%、8週間で少なくとも22%、12週間で少なくとも30%の喫煙減少がもたらされることが実験で実証されている。また、ニコチン依存が重度ではない患者にこの組み合わせを投与すると、ファガストローム試験の最初の平均点数値に少なくとも $4.42 \pm 0.30$ という統計的に有意な減少がもたらされることも実験で実証されている。

30

【0089】

一実施形態では、それぞれが組み合わせの活性化増強型抗体の1つを含有する、2つの独立して調製された単位剤形の別々の投与も意図されている。

【実施例】

【0090】

添付の非限定的な実施例を参照して本発明を更に例示する。

【0091】

実施例1

最初のマトリックス溶液を $100^{1/2}$ 倍、 $100^{3/0}$ 倍、 $100^{2/0}$ 倍に高希釈することによって得られる、超低用量の、抗原に対して精製したヒトカンナビノイド受容体1型に対するポリクローナルウサギ抗体(ULD抗CB1)(100倍単位ホメオパシー希釈物C12、C30、及びC200の混合物)がカンナビノイド受容体1型の機能に与える影響を、2種類のレジメ、すなわちアゴニストレジメ及びアンタゴニストレジメにおいてin vitroで試験した。

40

【0092】

アゴニストレジメ：

プレートのウェル(96ウェルプレート、ウェル体積 $250\mu l$ )に入れる前に、20mM HEPESを含有するHBSS緩衝液(Invitrogen)(pH=7.4)に細胞を懸濁させた。これらの細胞は、ULD抗CB1調製物 $20\mu l$ を添加して室温で10分間、一緒にプレインキュベートした。プレインキュベーション後、アデニル酸シクラーゼ活性化因子NKH477を添加した。これらの細胞を37°で10分間インキュベートし、溶解させた。蛍光性アクセプター(cAMF、D2によってマークされている)

50

及び蛍光性ドナー（cAMF抗体、ユーロピウムクリプタートによってマークされている）をウェルに導入した。

【0093】

基礎対照として、ULD抗CB1の代わりにHBS緩衝液（20μl）の存在下で細胞懸濁液をプレインキュベートした。刺激を受ける場合の対照として、ULD抗CB1の代わりに参照CP55940アゴニスト（20μl）の存在下で細胞懸濁液をプレインキュベートした。

【0094】

ホモジニアス時間分解蛍光法（HTRF）によって、機能活性（cAMF濃度）を評価した。基礎対照の蛍光強度をバックグラウンドとみなし、実験データ（ULD抗CB1）及び対照（CP55940）の蛍光強度からその値を差し引いた。

10

【0095】

ULD抗CB1の導入に対する細胞の特異的応答の測定値は、次の式に従って算出した：実験の蛍光強度（ULD抗CB1）- 基礎対照の蛍光強度。

【0096】

参照アゴニスト（CP55940）の導入に対する細胞の特異的応答の測定値は、次の式に従って算出した：対照（CP55940）の蛍光強度 - 基礎対照の蛍光強度。

【0097】

結果は、刺激を受ける場合の対照における参照アゴニストの導入に対して起こった細胞の特異的応答に対するパーセンテージで表した：

20

参照アゴニストの応答に対する比率（%）=（（特異的応答の測定値 / 参照アゴニストの導入に対する対照の特異的応答）×100%）。

【0098】

アンタゴニストトレジメ：

プレートのウェル（96ウェルプレート、ウェル体積250μl）に入る前に、20mM HEPESを含有するHBS緩衝液（Invitrogen）（pH=7.4）に細胞を懸濁させた。これらの細胞は、ULD抗CB1 20μlと共に室温で5分間、一緒にプレインキュベートした。参照CP55940アゴニストをウェルに添加した後、細胞を室温で10分間インキュベートした。アデニル酸シクラーゼ活性化因子NKH477をウェルに添加した。これらの細胞を37度10分間インキュベートし、溶解させた。蛍光性アクセプター（cAMF、D2によってマークされている）及び蛍光性ドナー（cAMF抗体、ユーロピウムクリプタートによってマークされている）をウェルに導入した。

30

【0099】

基礎対照として、ULD抗CB1の代わりに参照アンタゴニストAM281（20μl）の存在下で細胞懸濁液をプレインキュベートした。参照CP55940アゴニストは、基礎対照と一緒ににはウェルに添加しなかった。刺激を受ける場合の対照として、20mM HEPESを含有するHBS緩衝液（pH=7.4）及び参照CP55940アゴニスト（20μl）の存在下で細胞懸濁液をプレインキュベートした。

40

【0100】

ホモジニアス時間分解蛍光法（HTRF）によって、機能活性（cAMF濃度）を評価した。基礎対照の蛍光強度をバックグラウンドとみなし、実験（ULD抗CB1）及び対照（CP55940）の蛍光強度からその値を差し引いた。

【0101】

ULD抗CB1の導入に対する細胞の特異的応答の測定値は、次の式に従って算出した：実験の蛍光強度（ULD抗CB1）- 基礎対照の蛍光強度。

【0102】

参照アゴニスト（CP55940）の導入に対する細胞の特異的応答の測定値は、次の式に従って算出した：対照（CP55940）の蛍光強度 - 基礎対照の蛍光強度。

【0103】

50

結果は、対照における参照アゴニストの導入に対して起こった細胞の特異的応答の阻害率（パーセンテージ）で表した：

参照アゴニストの応答の阻害率（%） = 100% - ((特異的応答の測定値 / 参照アゴニストの導入に対する対照の特異的応答) × 100%)。

【0104】

調査の結果として、cAMFの細胞内濃度に基づいて測定されるように、ULD抗CB1がカンナビノイド受容体1型の機能活性を変更することが示された（表1を参照されたい）。

【0105】

試験物質（カンナビノイド受容体1型に対する超低用量の抗体（ホメオパシー希釈物C12、C30、及びC200の混合物）は、カンナビノイド受容体1型アゴニスト活性を示した。アゴニスト作用の大きさは、標準のCP55940アゴニストの作用を基準として21%であった（標準アゴニストの作用を100%とみなす）。

【0106】

【表1】

受容体	試験物質	ウェル中のULD抗CB1の含有量 (体積%) (ウェルの全容積は200マイクロリットルであった)	アゴニストレジメ		アンタゴニストレジメ		説明
			ULD抗CB1に 対して起こっ た応答の%	標準アゴニスト	アンタゴニスト の阻害%	標準アンタゴニスト	
CB1受容体	ULD抗CB1	10%	21	CP55940	0	AM281	ULD抗CB1はアゴニスト作用を有し、その大きさは、標準アゴニストの作用を基準として21%である。

【0107】

実施例2

試験物質は、最初のマトリックス溶液を100<sup>1/2</sup>倍、100<sup>3/0</sup>倍、100<sup>2/0</sup>倍に高希釈することによって得られる、超低用量の、抗原に対して精製したヒトカンナビノイド受容体1型に対するポリクローナルウサギ抗体（ULD抗CB1）（100倍単位ホメオパシー希釈物C12、C30、及びC200の混合物）の水溶液の形態であった。

【0108】

C57B1系統の雄マウス40匹を試験で使用した（試験開始時の体重：13.5~15.5g）。マウス10匹に、通常の標準飼料を与え（標準食）、マウス30匹に、高カロリーの添加物を加えた標準飼料を与え（高カロリー食）、同時に、蒸留水（対照、0.4mL/マウス）又はスブトラミン（Subutramine）（Meridia 10mgカプセル剤、Abbott GmbH、ドイツ）（10mg/Kg）又はULD抗CB1（0.4mL/マウス）のいずれかを与えた。全調製物を5ヶ月間、1日1回、胃内に与えた。試験物質を導入する前に、マウスの飼料消費量を測定した。また、その後、マウスの飼料消費量を毎週測定した。飼料消費量は、試験の1ヶ月後及び2ヶ月後のマウスによって消費された食物の平均量（単位：グラム）として、並びにマウス体重10g当たりの飼料平均量として評価した。

【0109】

観察期間の全体を通して、低カロリー食を与えられたマウスは、高カロリー食を与えられたマウスより平均で15%少ない飼料を消費した（表2）。スブトラミン及びULD抗CB1のどちらも、飼料消費量を減少させた。スブトラミンの効果がいくらか高く現れた。すなわち、飼料消費量が1週間に19.3%減少した（p < 0.05）のに対し、ULD抗CB1の場合は、対照を基準として飼料消費量が9.3%減少した（p > 0.05）。表2は、試験の結果、具体的には、C57B1マウスの飼料消費量に対するULD抗CB1及びスブトラミンの影響を示す（5ヶ月の観察期間を通しての平均値）、M ± m。

【0110】

10

20

30

40

50

【表2】

調製物	1日当たりの飼料消費量 (g/マウス)	1日当たりの飼料消費量 (g/体重10g)
標準食	2.95 ± 1.42	1.35 ± 0.05
高カロリー食+蒸留水	3.4 ± 1.64#	1.54 ± 0.05#
高カロリー食+スプトラン	2.75 ± 1.36**	1.28 ± 0.05**
高カロリー食+ULD抗CB1	3.10 ± 2.02	1.44 ± 0.08

\*\* - 対照との差が統計的に有意であり、 $p < 0.01$ である。

# - 標準食の場合との差が統計的に有意であり、 $p < 0.05$ である。

10

## 【0111】

実験の20週目に、高脂肪食を与えられULD抗CB1を与えられたマウスは、実験の1週目と比べて、より多くの飼料を消費した。これを図1に示す。図1は、実験の最終20週目の後の、C57B1マウスの体重の増加及び体重10g当たりの食物消費量に対する、ULD抗CB1及びスプトランの効果を示す。

## 【0112】

ULD抗CB1を与えられたマウスにおいて、対照と比べて51.2%の体重増加の減少が観察された。スプトランにより、実験の最終20週目に、対照群と比べて体重が51.5%減少した。

20

## 【0113】

## 実施例3

試験物質は、最初のマトリックス溶液を100<sup>1/2</sup>倍、100<sup>3/0</sup>倍、100<sup>2/0</sup>倍に高希釈することによって得られる、超低用量の、抗原に対して精製したヒトカンナビノイド受容体1型に対するポリクローナルウサギ抗体(ULD抗CB1)(100倍単位ホメオパシー希釈物C12、C30、及びC200の混合物)の水溶液の形態であった。

## 【0114】

C57B1系統の雄マウス33匹を試験で使用した(試験開始時の体重:13.09 ± 0.738g)。これらのマウスに、脂肪含有量の高い(45%)改变食、及び同時に蒸留水(対照、0.2mL/マウス)又はスプトラン(10mg/Kg)若しくはULD抗CB1(0.2mL/マウス)のいずれかを与えた。ULD抗CB1調製物は全て、2ヶ月間、1日1回、胃内に与えた。調製物を(最初に)導入し始めるまで、更に、それらの導入開始後毎週、電子秤Philips Cucina HR 239016(ハンガリー)でマウスの体重を測定した。マウスの体重増加は、最初の体重に対する比率として評価した。

30

## 【0115】

導入後の6週目から、ULD抗CB1は、高脂肪食で維持されたマウスの体重増加を低く抑えた。表3は、高脂肪食及びULD抗CB1(0.2mL/マウス)又はスプトラン(10mg/Kg)を与えられたC57B1マウスの毎週の平均体重(グラム)を示す(M ± m)。表3は、マウスの体重増加を示す。

## 【0116】

40

【表3】

群	体重(グラム)、試験の週数								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
蒸留水	12.18 ±0.501	15.27 ±0.982	15.27 ±0.488	16 ±0.972	18.18 ±0.569	17.27 ±0.557	20.18 ±0.501	20.55 ±0.608	21.45 ±0.857
最初から の差異		25.4	25.4	31.3	49.3	41.8	65.7	68.7	76.1
スプトラミン	13.82 ±1.094	13.45 ±0.474	16.73 ±0.407*	19.82 ±0.501**	20.18 ±0.784	20.91 ±0.563**	22.36 ±0.927	23.64 ±1.343	22.91 ±1.091
最初から の差異		-2.6	21.1	43.4	46.1	51.3	61.8	71.1	65.8
ULD 抗CB1	13.27 ±0.619	16.18 ±0.182	17.45 ±0.282**	19.64 ±0.453**	20.18 ±0.423*	20.18 ±0.423**	19.82 ±0.501	21.64 ±0.364	22 ±0.467
最初から の差異		21.9	31.4	47.9	52.1	52.1	49.43	63	65.8

注：\* - 対照群と比べて  $p < 0.05$  ;

\*\* - 対照群と比べて  $p < 0.001$

### 【0117】

先に示したように、ULD抗CB1は、高脂肪食を与えたマウスの体重増加を低く抑えて、食物消費量を減少させ、その有効性は、体重減少のために広く使用されている公知の化合物であるスプトラミンに劣らない。

### 【0118】

#### 実施例4

最初のマトリックス溶液を  $100^{1/2}$  倍、 $100^{3/0}$  倍、 $100^{2/0}$  倍に高希釈することによって得られる、超低用量の、抗原に対して精製したヒトカンナビノイド受容体1型に対する活性化増強型のポリクローナルウサギ抗体 ( $100$  倍単位ホメオパシー希釈物C12、C30、及びC200の混合物 (ULD抗CB1) の水-アルコール溶液を染み込ませた  $300\text{mg}$  錠剤 ( $6\text{mg}$  / 錠) )。

### 【0119】

年齢20歳から69歳まで (平均年齢は  $40.2 \pm 1.26$  歳であった) の対象80名が試験に参加した (男性20名及び女性60名)。このうちの68.7%は、過剰な体重又は肥満 (グレードI~III) に苦しんでいた。これらの対象に1日2回、錠剤1錠を与えた。表4は、この試験に含まれた患者の人口統計学的指標及び身体計測指標を示す。この試験に参加した対象全員のデータ ( $n = 80$ ) を、安全性分析に含めた。対象観察期間全体を通じて、調製物の良好な許容性が認められた。有害作用はなかった。試験群の対象全員が、試験プロトコルによって定められた期限において治療を完了し、早くに離脱した患者は1人もいなかった。対象の体重変化に対するULD抗CB1の影響を評価する間に、調製物の使用により、56名 (70%) の患者の体重が減少したことが明らかになった。24名 (30%) の患者において、体重は不变のままであるか、又はほんのわずかに増加した。しかし、そのような患者のうちの14名 (17.5%) が、当初、正常な体重であった ( $\text{BMI} < 25\text{kg/m}^2$ ) ことに留意すべきである。

### 【0120】

【表4】

パラメータ		値	
年齢(歳)	M±m	40.2 ± 1.26	
身長 (センチメートル)	M±m	167.1 ± 0.89	
体重(kg)	M±m	80.3 ± 1.85	
性別	男性	20名(25 %)	
	女性	60名(75 %)	
BMI, kg/m <sup>2</sup>	M ± m	28.7 ± 0.6	
BMI, kg/m <sup>2</sup>	25未満	25名(31.3 %)	普通体重
	25 - 29.99	28名(35 %)	過体重(準肥満)
	30 - 34.99	20名(25 %)	肥満(1度)
	35 - 39.99	5名(6.2 %)	肥満(2度)
	40以上	2名(2.5 %)	肥満(3度)

10

## 【0121】

治療に反応した患者において、統計的に有意な体重減少 ( $p < 0.001$ ) が観察された。ULD抗CB1をわずか15日間投与した後で、体重減少は1.1Kg (1.3%) であり、1ヶ月経つと、体重減少は1.9Kg、元の値の(2.2%)に達した(図2)。

20

## 【0122】

治療に反応した患者において、ULD抗CB1の投与開始後わずか一(1)週間に、統計的に有意な ( $p < 0.001$ ) ウエスト周囲径減少及び大腿周囲径減少が観察され、治療の終了時には、減少はそれぞれ2.3%及び2.7%に達した。表5は、ウエスト周囲径及び大腿周囲径の変化のダイナミクスを表す。

## 【0123】

## 【表5】

	1日目 (最初)	7日目	14日目	15日目	16日目	22日目	29日目	30日目
ウエスト周囲径(cm)								
M±m, cm	96.3 ± 1.97	95.2 ± 2.07 **	93.7 ± 1.82 ***	94.2 ± 1.96 ***	95.1 ± 2.16 ***	94.5 ± 2.16 ***	94.3 ± 2.10 ***	94.1 ± 2.07 ***
最初から の差異(%)		-1.1%	-2.7%	-2.2%	-1.2%	-1.9%	-2.1%	-2.3%
大腿周囲径(cm)								
M±m, cm	110.8 ± 1.52	110.8 ± 1.66 ***	109.3 ± 1.37 **	109.9 ± 1.50 ***	108.7 ± 1.60 ***	108.3 ± 1.56 ***	108.1 ± 1.58 ***	107.8 ± 1.69 ***
最初から の差異(%)		0.0%	-1.4%	-0.8%	-1.9%	-2.3%	-2.4%	-2.7%

30

\* \* - 最初の値を基準として  $p < 0.01$  ; \* \* \* - 最初の値を基準として  $p < 0.001$  。

40

## 【0124】

視覚的アナログ尺度 (VAS) を用いて患者の空腹感を評価した際、最も強度の高い空腹感は夕方の時間帯に認められた。ULD抗CB1投与開始後1ヶ月の終わりの時点では、夕方の時間帯の空腹レベルは、49.4 ± 3.75点から42.0 ± 4.32点まで有意に減少していた ( $p < 0.001$ )。また、午前及び昼間に、空腹感が低下するという注目すべき傾向もあった(午前の時間帯では20.5 ± 3.23点から13.6 ± 1.78点まで、昼間では44.7 ± 3.45点から27.3 ± 3.72点まで)。午前の空腹に関連したデータは、治療の最後の時点で統計的に有意な値に達しなかったものの(この観察結果は、最初の値が中程度であることに関連している可能性がある)、ダイナミクスは

50

無視することができなかった。

【0125】

したがって、実施したULD抗CB1の臨床試験により、試験調製物の高い許容性が確認された。この試験調製物を摂取した際に有害作用はなかった。

【0126】

実施例5

ニコチン依存に関するファガストローム試験

本実施例は、試験それ自体を提供する。関連するデータは、本明細書において下記に別々に更に提供する。ニコチン依存に関するファガストローム試験は、ニコチン依存の強さを評価するための試験である。参照により本明細書に組み込まれるHeatherton, T. F. 、Kozlowski, L. T. 、Freckler, R. C. 、Fagerstrom, K. O. The Fagerstrom test for Nicotine Dependence: A revision of the Fagerstrom Tolerance Questionnaire. Br J Addict 1991; 86: 1119~27を参照されたい。本明細書において下記に更に説明する試験において、患者は全質問に回答した。合計スコアが、ニコチン依存の程度を示す。ニコチン依存の程度は、次のように、スコアの合計に基づいて評価される。すなわち、4未満は、弱い依存、4~6は並の程度の依存、7~10は強い依存である。

10

【0127】

【表6】

20

1. 起床後どれくらいの時間後に最初の紙巻きタバコを吸いますか？	
60分を超えてから	0
31~60分	1
6~30分	2
5分未満	3
2. 例えば、会議中、飛行機搭乗中、映画鑑賞中など、喫煙を禁止されている場所で禁煙することが難しいですか？	
いいえ	0
はい	1
3. いつに吸う紙巻きタバコが一番やめにくいですか？	
朝の最初の1本	1
その他	0
4. 1日に何本の紙巻きタバコを吸いますか？	
10本以下	0
11~20本	1
21~30本	2
31本以上	3
5. 1日の他の時間帯より、朝の最初の数時間に多く喫煙しますか？	
いいえ	0
はい	1
6. 病気でほとんど1日中床に伏していなければならない場合でも喫煙しますか？	
いいえ	0
はい	1

30

【0128】

実施例6

気分と身体症状の評価尺度試験（M P S S）

40

本実施例は、試験それ自体を提供する。関連するデータは、本明細書において下記に別

50

々に更に提供する。本明細書において下記に説明する試験において、禁煙した患者が12個の質問に回答して（スコアは、各質問について1点から5点まで評価した）、直近24時間の間の感情（質問1～7）、喫煙の誘惑（質問8～9）、及び身体症状の発現（質問10～12）を評価した。患者は各質問について番号を1つだけ丸で囲んだ。結果の概要是、3つの分野に（M-質問1～7、C-質問8～9、及びP-質問10～12）分けるか、又はニコチン禁断症状のレベルを反映する総合スコア（最小値（12点）から最大値（60点）まで変動し得る）に基づいて分けることができる。

【0129】

【表7】

各質問について、直近24時間にあなたがどのように感じたかを示して下さい

10

（各質問について番号を1つだけ丸で囲んで下さい）

	感じなかつた	少し感じた	かなり強く感じた	とても強く感じた	極めて強く感じた
1. 気分が落ち込む	1	2	3	4	5
2. 不安である	1	2	3	4	5
3. いらいらする	1	2	3	4	5
4. 心配している	1	2	3	4	5
5. 空腹感	1	2	3	4	5
6. 注意力が乏しい	1	2	3	4	5
7. 睡眠障害	1	2	3	4	5

8. 直近24時間に喫煙したいと感じた時間の長さはどれくらいですか？

20

（番号を1つだけ丸で囲んで下さい）

一度も感じなかつた	あまり長くない	一日の内の少しの時間	一日のほとんど	ほぼ常に	絶えず
0	1	2	3	4	5

9. 喫煙欲求の強さはどれくらいでしたか？（番号を1つだけ丸で囲んで下さい）

20

なかつた	軽かつた	中程度であった	強かつた	非常に強かつた	極めて強かつた
0	1	2	3	4	5

直近24時間に何らかの徴候はありましたか？（番号を1つだけ丸で囲んで下さい）

30

	なかつた	少しあつた	中程度あつた	強くあつた	非常に強くあつた
10. 口の痛み	1	2	3	4	5
11. 便秘	1	2	3	4	5
12. 咳／喉の痛み	1	2	3	4	5

参照により本明細書に組み込まれるWest, R. , Hajek, P. Evaluation of the mood and physical symptoms scale (MPSS) to assess cigarette withdrawal. Psychopharmacology, 2004; 177卷、1～2号、195～199。

【0130】

実施例7

不安及び抑うつの病院評価尺度（HADS）

本実施例は、試験それ自体を提供する。関連するデータは、本明細書において下記に別々に更に提供する。不安及び抑うつの病院評価尺度（HADS）は、主観的尺度であり、病院の入院患者及び外来患者における不安及び抑うつの徴候をスクリーニングするためのものである。参照により本明細書に組み込まれるZigmond, A. S. , Snaith, R. P. The Hospital Anxiety and Depression scale // Acta Psychiatr. Scand. 1983. 第67巻、361～370ページを参照されたい。

40

【0131】

適用方法：この尺度の用紙は、患者に与えて記入してもらい、以下の指示が添えられている：

「科学的研究者は、大多数の疾患の発生には感情が重要な役割を果たすと考えています。担当医師があなたの経験についてより多くのことを知れば、医師は、より効果的にあなた

50

を手助けできます。この質問表は、あなたがどのように感じているかを担当医師が理解するのを助けるために作られたものです。質問表の左部分の番号及び文字は気にしないで下さい。各設問 (statement) を注意深く読み、先週あなたがどのように感じたかに最も良く合致する回答の隣に、左側の空いたスペースに「×」を書いて下さい。各設問についてあまり考えすぎないようにしてください。最初の印象がいつも一番良いものです。」

【0132】

この尺度は2つの下位尺度に分けられた14個の設問を含む：「不安」（奇数番号の質問 - 1、3、5、7、9、11、13）及び「抑うつ」（偶数番号の質問 - 2、4、6、8、10、12、14）。各設問には4つの考え得る回答があり、これらは心情又は感情の大きさを反映し、症状の重篤性を0（無し）から3（最大）まで漸増的に特徴付けています。

10

【0133】

結果を解釈する際、各下位尺度の指標全体が考慮に入れられ、次の3つの値範囲に分けられる。0～7は「正常」（不安及び抑うつの信頼性が高い発現症状はない）を示し、8～10は、「無症状性の不安／抑うつ」を示し、11以上は「臨床的な不安／抑うつ」を示す。

【0134】

【表8】

1	緊張を感じ、自分が自分自身ではない —常に感じる —しばしば感じる —時折、時々感じる —まったく感じない	3 2 1 0	
2	以前大きな満足感を自分に与えたものが、依然として同じ感情を自分に与えてくれる —まったくその通りである —十中八九はそうである —少しだけそうである —まったくそうではない	0 1 2 3	
3	まるで何か悪いことがまさに起こるかのように恐怖を感じる —まったくその通りであり、恐怖はとても強い —はい。そうであるが、恐怖はあまり強くない —時々あるが、気にかけていない —まったく感じない	3 2 1 0	10
4	いろいろな出来事に笑うこと、および何かおもしろいものを見出すことができる —まったくその通りである —十中八九はそうである —少しだけそうである —まったくできない	0 1 2 3	
5	不安になる考えが頭をよぎる —絶えず —ほとんどの時間 —時折 —時々だけ	3 2 1 0	
6	自分は気力にあふれている —まったくそうではない —非常にまれにしかそう感じない —時々感じる —ほとんど常に感じる	3 2 1 0	20
7	腰を下ろしてリラックスするのは簡単である —まったくその通りである —十中八九はそうである —まれにしかそうではない —まったくできない	0 1 2 3	
8	自分はあらゆることをゆっくりとし始めたように感じられる —ほとんど常に感じる —しばしば感じる —時々感じる —まったく感じない	3 2 1 0	
9	内的緊張または振せんを感じる —まったく感じない —時々感じる —しばしば感じる —非常に頻繁に感じる	0 1 2 3	30
10	身なりを構わない —まったくその通りである —本来かけるべきほどの時間をかけていない —前よりも気を配らなくなり始めたかもしれない —以前と同じように気をつけている	3 2 1 0	
11	まるで常に動いていなければならないのように、落ち着きのなさを感じる —まったくその通りである —十中八九はそうである —少しだけそうである —まったくそうではない	3 2 1 0	
12	関心のある事柄(趣味、関心事)は自分に満足感をもたらすことができると感じる —いつも同じ —はい。しかし、以前ほどではない —いつもより顕著に少ない —まったくそう感じない	0 1 2 3	40
13	突然、パニック感情になる —非常に頻繁にある —かなり頻繁にある —それほど頻繁ではない —まったく起こらない	3 2 1 0	
14	優れた書籍、ラジオ、またはテレビ番組から満足感を得ることができ —しばしば得ることができ —時々得ることができ —めったに得ることができない —非常にまれにしか得ることができない	0 1 2 3	

. The Hospital Anxiety and Depression scale // Acta Psychiatr. Scand. 1983、第67巻、361~370ページ。

【0135】

実施例8

中等度のニコチン依存及び肥満を治療するためのS-100タンパク質に対する超低用量の抗体とCB1受容体に対する超低用量の抗体の組み合わせ及びCB1受容体に対する超低用量の抗体を評価するための、二重盲検プラセボ対照比較臨床試験

最初のマトリックス溶液を100<sup>1/2</sup>倍、100<sup>3/0</sup>倍、100<sup>2/0</sup>倍に高希釈することによってそれぞれ得られる、脳特異的タンパク質S-100に対する超低用量のポリクローナルウサギ抗体(ULD抗S100)及びカンナビノイド受容体1型に対する超低用量のポリクローナルウサギ抗体(ULD抗CB1)(100倍単位ホメオパシー希釈物C12、C30、及びC200の混合物)の水-アルコール溶液を染み込ませた300mg錠剤(6mg/錠)を試験で使用した(ULD抗S100+ULD抗CB1)。また、最初のマトリックス溶液を100<sup>1/2</sup>倍、100<sup>3/0</sup>倍、100<sup>2/0</sup>倍に高希釈することによって得られる、カンナビノイド受容体1型に対する超低用量のポリクローナルウサギ抗体(ULD抗CB1)(100倍単位ホメオパシー希釈物C12、C30、及びC200の混合物)の水-アルコール溶液を染み込ませた300mg錠剤(6mg/錠)も、試験で使用した。

【0136】

禁煙したいと望む患者59名を二重盲検プラセボ対照比較試験に含めて、ニコチン依存を治療するにあたってのULD抗S100+ULD抗CB1組み合わせ及び抗CB1の有効性を評価した。患者22名を活性調製物群に含め、ULD抗S100+ULD抗CB1の錠剤1個を1日3回与えた。患者17名を比較調製物群に含め、ULD抗CB1の錠剤1個を1日3回与えた。患者20名をプラセボ群に含め、錠剤1個を1日3回与えた(顆粒状のラクトース及び賦形剤からなり、活性成分を全く含まない錠剤)。治療を12週間続けた。3つの患者群全ての最初の人口統計学的指標、身体計測的指標、及び臨床検査指標は同等であった。患者は全員、ファガストローム試験を基準として軽度(4点未満)のニコチン依存であり、1年以上の喫煙歴があり、程度ー(1)の肥満であった(ボディマス指数[BMI]=30.0~34.9kg/m<sup>2</sup>)。試験に含まれた患者全員が、試験プロトコルによって必要とされた期間で治療を完了し、早くに離脱した患者は1人もいなかつた。

【0137】

データの分析により、ULD抗S100+ULD抗CB1を与えられた患者及びULD抗CB1を与えられた患者において、喫煙をやめた患者の数が増加することが示された(表9)。ULD抗S100+ULD群において、禁煙した患者の比率は4週間の治療後に23%であり、8週後に36%、12週の最後の時点で41%に達した。ULD抗CB1群では、対応する指標は、(それぞれプラセボ群の5%、5%、及び10%に対して)12%、24%、及び29%であった。プラセボ治療と比べた主な有効性パラメータに基づく治療有効性の差は、31%(ULD抗S100+ULD群の場合)及び19%(ULD抗CB1群の場合)であり、これは統計的に有意であった。

【0138】

ULD抗S100+ULD抗CB1の効果を評価したところ、全体としての群と喫煙をやめることができなかった患者の亜群の両方において、ニコチン依存の実質的な低下が示された。ファガストローム試験の最初の平均合計スコアは2.67±0.14であった。12週間の治療後に、スコアは1.33±0.14まで減少した。更に、この減少は、最初の指標と比べてだけでなく、プラセボ群と比べても統計的に有意であった。ULD抗CB1を与えられ、かつ禁煙しなかった患者も、ニコチン依存の症状に関して好ましいダイナミクスを示し、ニコチン依存の症状は、3ヶ月の治療の終了時に、最初のレベル及びプラセボと比べて有意に軽かつた。

10

20

30

40

50

## 【0139】

気分と身体症状の評価尺度(MPSS)のデータの分析により、喫煙をやめた患者のニコチンの禁断症状が徐々に弱くなり、ULD抗S100+ULD抗CB1とULD抗CB1のどちらの場合も治療開始後12週目に最小値に達することが示された(表9)。最も低い合計スコアがULD抗S100+ULD抗CB1群で記録されたことから、ULD抗S100+ULD抗CB1及びULD抗CB1の組み合わせの投与により、ULD抗CB1単独と比べた場合を含めて、より簡単かつ苦しまずに禁煙に耐えることが可能になることが示された。

## 【0140】

## 【表9】

期間	ULD抗S100+ULD抗CB1 (M±SE)	ULD抗CB1 (M±SE)	「ラセボ」 (M±SE)
ファガストローム試験の点数(nは喫煙者の人数)			
開始時	2.64±0.10 (n=22)	2.65±0.12 (n=17)	2.65±0.11 (n=20)
開始時	2.67±0.14 (n=12)	2.58±0.14 (n=12)	2.66±0.11 (n=18)
12週目	1.33±0.14* # (n=12)	1.25±0.13* (n=12)	2.39±0.26 (n=18)
禁煙した患者の比率、%			
4週目	23% (n=5)	12% (n=2)	5% (n=1)
8週目	36% (n=8)	24% (n=4)	5% (n=1)
12週目	41% (n=10)	29% (n=5)	10% (n=2)
なくなった症状の評価尺度(MPSS)の点数(nは、喫煙をやめた人数)			
4週目	33.4±1.25 (n=5)	33.00±2.00 (n=2)	36 (n=1)
8週目	28.12±1.02 (n=8)	25.50±2.22 (n=4)	34 (n=1)
12週目	14.85±2.41* ** (n=10)	20.80±1.62* (n=5)	32.50±0.50 (n=2)
不安および抑うつの病院評価尺度(HADS)の点数(nは検査した患者の人数)			
開始時	11.73±0.36 (n=22)	11.41±0.50 (n=17)	11.4±0.44 (n=20)
4週目	10.32±0.32 (n=22)	10.47±0.30 (n=17)	11.95±0.45 (n=20)
8週目	8.59±0.33 (n=22)	9.88±0.32 (n=17)	12.55±0.35 (n=20)
12週目	7.68±0.46* # (n=22)	9.41±0.35 (n=17)	12.05±0.18 (n=20)

注意：\* ラセボ群との差の統計的有意性、 $p < 0.05$ ；

\*\* ULD抗S100+ULD抗CB1群とULD抗CB1群の差の統計的有意性、 $p < 0.05$ ；

# 最初の値との差の統計的有意性

表9. 治療の形態による基本的指標のダイナミクス

## 【0141】

この試験に含まれた患者群は全て、程度1の肥満患者を含んでいた。試験において、全群の患者のボディマス指数(BMI)を規則的な間隔で測定した。試験の結果を表10に示す。

## 【0142】

10

20

30

【表10】

期間	ULD抗S100+ULD 抗CB1 (n=22; M±SE)	ULD抗CB1(n=17; M±SE)	プラセボ (n=20; M±SE)
0	0±0.0	0±0.0	0±0.0
2週目	-1.2±0.5	-0.9±0.3	-0.4±0.2
4週目	-1.7±0.4	-1.5±0.5	-0.5±0.4
6週目	-2.5±0.4	-2.2±0.6	-1.3±0.4
8週目	-3.1±0.7*	-2.8±0.7*	-1.3±0.4
10週目	-3.8±0.6*	-3.4±0.8*	-1.8±0.5*
12週目	-4.2±0.9*	-3.8±1.0*	-1.8±0.6*

注：変化の統計的有意性を評価するために、ダネット法の変法におけるスチュードントの両側基準を用いて、対照来診（来診0）の体重をその後の全訪問と比較した。有意な差（ $p < 0.05$ ）にはアスタリスクで注釈を付けている。

表10：最初の体重と各来診時の最新体重（単位kg）の差の平均

## 【0143】

12週間の治療クールの治療の結果、両方の試験群の体重は、プラセボと比べて有意に減少した。治療の3ヶ月後に、2つの試験群の患者の約半数（52%及び47%）において、最初の状態と比べて5%以上体重が減少した（プラセボ群の患者の15%と比べて； $p < 0.05$ ）（図3）。

## 【0144】

治療期間中の有害事象の記録及び検査指標のフォローアップ調査に基づいて行った治療法の安全性の評価により、ULD抗S100+ULD抗CB1とULD抗CB1の両方に対する良好な許容性が示された。安全性分析は、この試験に参加した患者全員のデータ（n=59）を含んだ。中枢神経系に対する治療の不利な影響は明らかにならなかった；精神的な転帰の指標はなかった。この結論は、不安及び抑うつの病院評価尺度（HADS）を用いて指標を観察することによって確認した（表9）。ULD抗S100+ULD抗CB1は、不安及び抑うつの症状に対して良い効果を示し、症状は、最初の値及びプラセボの両方と比べて、治療法の終わりに近づくにつれて顕著に低減した。有害事象はなかった。血液の全般的分析及び生化学的分析並びに尿の臨床的分析を含めて、臨床指標は、正常値からの顕著な逸脱をまったく示さなかった。

## 【0145】

したがって、この試験により、ニコチン依存の治療におけるULD抗S100+ULD抗CB1の組み合わせ及びULD抗CB1の有効性及び安全性が実証された。治療の効果は、喫煙をやめた患者が高比率であったこと、治療の最中に禁断症状が軽減したこと、及び喫煙できなかった患者においてニコチン依存が軽減したことから明らかであった。観察された効果は全て、プラセボ群と比べて統計的に有意であった。ULD抗S100+ULD抗CB1の組み合わせの有効性は、ULD抗CB1単独の有効性を上回った。安全性プロファイルは、ULD抗S100+ULD抗CB1の組み合わせとULD抗CB1の両方とも優れていた。ULD抗S100+ULD抗CB1の組み合わせとULD抗CB1の両方とも、臨床的に顕在化する不安及び/又は抑うつの出現を招かなかった。また、程度1の肥満患者の体重減少が実証された。

## 【0146】

## 実施例9

重度のニコチン依存を治療するためのS-100タンパク質に対する超低用量の抗体とCB1受容体に対する超低用量の抗体の組み合わせ及びCB1受容体に対する超低用量の抗体を評価するための、二重盲検プラセボ対照比較臨床試験

10

20

30

40

50

最初のマトリックス溶液を $100^{1/2}$ 倍、 $100^{3/0}$ 倍、 $100^{2/0}$ 倍に高希釈することによってそれぞれ得られる、脳特異的タンパク質S-100に対する超低用量のポリクローナルウサギ抗体(ULD抗S100)及びカンナビノイド受容体1型に対する超低用量のポリクローナルウサギ抗体(ULD抗CB1)(100倍単位ホメオパシー希釈物C12、C30、C200の混合物)の水-アルコール溶液を染み込ませた300mg錠剤(6mg/錠)を試験で使用した(ULD抗S100+ULD抗CB1)。また、最初のマトリックス溶液を $100^{1/2}$ 倍、 $100^{3/0}$ 倍、 $100^{2/0}$ 倍に高希釈することによって得られる、カンナビノイド受容体1型に対する超低用量のポリクローナルウサギ抗体(ULD抗CB1)(100倍単位ホメオパシー希釈物C12、C30、C200の混合物)の水-アルコール溶液を染み込ませた300mg錠剤(6mg/錠)も、試験で使用した。

10

## 【0147】

重度のニコチン依存を治療するにあたってのULD抗S100+ULD抗CB1の有効性を評価するために、二重盲検プラセボ対照比較試験を、次のように3群に無作為化された患者61名に参加してもらって実施した：第1の群の患者18名(ULD抗S100+ULD抗CB1、1錠、1日4回)、第2の群の患者22名(ULD抗CB1、1錠、1日4回)、及びプラセボ群の患者21名(1錠、1日4回)(顆粒状のラクトース及び賦形剤からなり、活性成分を全く含まない錠剤)。治療を12週間続けた。3群の患者は、人口統計学的指標、身体的指標、及び検査指標を含む最初の指標に基づいて、同等であった。ファガストローム試験の最初の結果によると、参加者は全て重度のニコチン依存であり(7点以上)、喫煙歴は3年を超えていた。毎月の来診の過程で、患者を観察し、身体的及び研究室的な検査及び試験を行った(ファガストローム試験、不安及び抑うつの病院評価尺度[HADS])。喫煙をやめた患者においては、禁断症状を測定した(気分と身体症状の評価尺度[MPSS])。患者全員が、試験プロトコルによって定められた期間で治療を完了し、早くに離脱した患者は1人もいなかった。

20

## 【0148】

試験の結果を表11に示す。

## 【0149】

## 【表11】

期間	ULD抗S100+ULD抗CB1 (M±SE)	ULD抗CB1 (M±SE)	プラセボ (M±SE)
ファガストローム試験の点数(nは喫煙者の人数)			
開始時	8.78±0.26 (n=18)	8.55±0.26 (n=22)	8.52±0.24 (n=21)
開始時	8.92±0.34 (n=12)	8.47±0.24 (n=17)	8.47±0.25 (n=20)
12週目	4.50±0.26* ** # (n=12)	6.11±0.26* (n=17)	8.73±0.23 (n=19)
禁煙した患者の比率、%			
4週目	11% (n=2)	9% (n=2)	5% (n=1)
8週目	22% (n=4)	14% (n=3)	5% (n=1)
12週目	30% (n=6)	23% (n=5)	10% (n=2)
離脱症状の尺度(MPSS)の点数(nは、喫煙をやめた人数)			
4週目	54.33±1.2 (n=2)	54.50±0.50 (n=2)	54 (n=1)
8週目	46.75±1.89 (n=4)	47.33±0.67 (n=3)	50 (n=1)
12週目	38.67±0.88* ** (n=6)	45.22±1.11* (n=5)	53.00±1.00 (n=2)
不安および抑うつの病院評価尺度(HADS)の点数(nは検査した患者の人数)			
開始時	12.61±0.36 (n=18)	12.50±0.29 (n=22)	11.81±0.38 (n=21)
4週目	11.17±0.31 (n=18)	11.95±0.25 (n=22)	13.05±0.47 (n=21)
8週目	9.56±0.30 (n=18)	10.86±0.22 (n=22)	13.24±0.39 (n=21)
12週目	7.72±0.32* # (n=18)	9.50±0.19 (n=22)	12.67±0.23 (n=21)

30

40

50

注意：\* プラセボ群との差が統計的に有意であり、 $p < 0.05$ である。

\*\* ULD抗S100+ULD抗CB1群とULD抗CB1群の差は統計的に有意であり、 $p < 0.05$ である；

# 最初のパラメータとの差が統計的に有意であり、 $p < 0.05$ である。

### 表11. 治療の形態による、基本的指標のダイナミクス

#### 【0150】

ULD抗S100+ULD抗CB1群において、禁煙した患者の比率は治療4週目で11%であり、8週目で22%、12週目の最後の時点で30%に達した。ULD抗CB1群では、対応する指標は、（それぞれプラセボ群の5%、5%、及び10%に対して）9%、14%及び23%であった。

10

#### 【0151】

ニコチン依存の徴候は、全体としての群と喫煙をやめることができなかった患者の両群の両方において、ULD抗S100+ULD抗CB1を投与すると実質的に低減した（表11を参照されたい）。ファガストローム試験の最初の平均合計点は $8.92 \pm 0.34$ であった。これは、12週間の治療後にほぼ2分の1の $4.50 \pm 0.26$ になった。更に、この減少は、最初の値と比べてだけでなく、ULD抗CB1群及びプラセボと比べても統計的に有意であった。

#### 【0152】

また、ULD抗S100+ULD抗CB1の組み合わせを投与した場合、患者は、MPS尺度のデータに基づいてULD抗CB1（ $p < 0.05$ ）とプラセボ（ $p < 0.005$ ）の両方と比べると、禁断症状の統計的に有意な軽減を示し、治療開始後12週目に最小値に到達した。

20

#### 【0153】

また、安全性評価も実施した。安全性分析は、試験に参加した患者全員（n=61）のデータを含め、有害事象の記録及び検査指標のフォローアップ調査に基づいて行った。この調査の結果から、ULD抗S100+ULD抗CB1の組み合わせ及びULD抗CB1単独の許容性が優れていることだけでなく、これらの医薬品の摂取と関連するいかなる有害事象もないことが示された。中枢神経系に対する治療の不利な影響は明らかにならなかった；精神的な転帰の指標はなかった。この結論は、不安及び抑うつの病院評価尺度（HADS）を用いて指標を観察することによって確認した（表11）。ULD抗S100+ULD抗CB1は、不安及び抑うつの症状に対して良い効果を示し、症状は、最初の値及びプラセボの両方と比べて、治療の終わりに近づくにつれて顕著に低減した。有害事象はなかった。血液の全般的分析及び生化学的分析並びに尿の臨床的分析を含めて、臨床指標は、正常値からの顕著な逸脱をまったく示さなかった。

30

#### 【0154】

したがって、この試験の結果により、重度のニコチン依存の治療におけるULD抗S100+ULD抗CB1の有効性及び安全性が実証された。12週間の治療クールの治療の間に、ほぼ3分の1の喫煙者が、ニコチンに対する依存から脱することができた。表11に示したように、ULD抗S100+ULD抗CB1の有効性は、統計的に有意に、プラセボの有効性を超えていた。ULD抗S100+ULD抗CB1により、患者がより簡単かつ苦しまずに寛煙に耐え抜く能力が大きく向上した。観察過程で寛煙をやめられなかつた患者において、ULD抗S100+ULD抗CB1を投与すると、ニコチン依存の徴候はULD抗CB1とプラセボの両方の場合と比べて有意に低減した。

40

#### 【0155】

ULD抗S100+ULD抗CB1とULD抗CB1の両方とも、優れた安全性プロファイル及び中枢神経系への有害作用がないことを特徴とした。

#### 【0156】

##### 実施例10

I) 最初のマトリックス溶液を $100^{1/2}$ 倍、 $100^{3/0}$ 倍、 $100^{2/0}$ 倍に高希釈することによってそれぞれ得られる、脳特異的タンパク質S-100に対する超低用量の

50

ポリクローナルウサギ抗体（ULD抗S100）とカンナビノイド受容体1型に対する超低用量の抗体（ULD抗CB1）の組み合わせ（100倍単位ホメオパシー希釈物C12、C30、C200の混合物）（ULD抗S100+ULD抗CB1）、*i i*）ULD抗CB1単独、並びに*i i i*）ULD抗S100単独がマウスの運動活性に与える影響を試験して、それらの抗ニコチン特性を評価した。

【0157】

40匹の非近交系白色雄マウス（22～25g、1.5ヶ月齢）を使用した。10匹のマウスは無処置とした。残りのマウスに、4日間にわたって0.3mg/kgの用量でニコチンを皮下投与した。ニコチン投与は、蒸留水（対照、0.4mL/マウス）、又はULD抗S100（0.4mL/マウス）、若しくはULD抗CB1（0.4mL/マウス）、若しくはULD抗S100+ULD抗CB1（0.4mL/マウス）のいずれかを胃内投与する前（1時間前）に行った。ニコチンの最終投与後30分目に、「オープンフィールド」試験を行った。動物をTruScan光感受性装置（Coulbourn、USA）の中央に置き、これらの動物の垂直方向及び水平方向の自発運動活性を2分間、自動的に記録した。この「オープンフィールド」モデルにより、化合物が動物の自発運動活性に与える影響を評価することが可能になる（その全体が参照により明示した目的で本明細書に組み込まれるGershensonfield 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、第27巻、3号、201～209ページ）。装置のパラメータ：サイズ270×270×360mm、2.5×2.5の64の正方形に分割されている、一団高いプラットフォームの床に25mmの穴が空いており、150ワットのランプで照らされている。

【0158】

ニコチンは、ナス科の植物、主にタバコに存在し、向精神活性を有するアルカロイドである。ニコチンの作用は、末梢及び中枢のN-コリン受容体を介した間接的なものであると考えられている。用量に応じて、このアルカロイドの体内への導入は、不安・抑うつの総体的症状、多幸感、興奮、また逆に、平穏の発生を引き起こし得る。更に、ニコチンを長期間使用すると、依存が生じる。禁煙を簡単にするために使用される調製物は、とりわけ、精神感情的領域における病理学的变化をなくすことに狙いを定めており、これにより、患者をタバコの病的愛好から解放することが容易になる。

【0159】

本試験において、ニコチンの投与により、マウスの運動活性が増大した。すなわち、活動時間は8.2%（p<0.05）、移動距離は5.1%、マウスが調べた穴の量は78.2%（p<0.05）、調査反応時間は76.9%増えたのに対し、不動状態の時間は逆に、無処置の動物と比べて13.5%（p<0.05）短くなった。

【0160】

ULD抗S100単独では、調査した個々のパラメータに関して、対照を基準として有意な影響はなかった。ULD抗CB1の場合、試験群のマウスの活動時間及び移動距離は、無処置マウスのレベルまで減少した。しかし、ULD抗CB1は、不動状態の期間、穴の量、及び反応期間には影響を与えたなかった。同時に、ULD抗CB1とULD抗S100を組み合わせて投与すると、活動時間が短くなり、それに対応して、不動状態の時間が無処置動物のレベルまで長くなり、移動距離はかなり減少し（対照と比べて29.2%、無処置動物と比べて25.5%）、活動はいくらか低下した（穴の量は15.3%減少し、反応時間は17.4%短くなった）。

【0161】

したがって、ULD抗CB1の投与並びにULD抗CB1とULD抗S100の組み合わせ投与は、ニコチン投与によって引き起こされる動物の挙動の変化をなくすのに寄与する。ULD抗CB1+ULD抗S100の組み合わせの使用の方が、ULD抗CB1単独

10

20

30

40

50

の投与と比べて有効であった。

【0162】

【表12】

	活動時間(秒)	動作距離(cm)	不動状態の時間(秒)	調査した穴の量	反応調査時間
無処置	74.1±1.9	393.6±19.6	46.0±2.0	5.5±1.0	2.6±0.6
対照	80.2±1.3*	413.7±15.4	39.8±1.3*	9.8±1.4*	4.6±0.9#
ULD抗S100	76.5±1.4	434.4±23.5	43.5±1.4	10.0±1.1 **	5.1±1.0#
ULD抗CB1	72.4±1.4##	366.3±19.1	47.6±1.4##	9.8±0.8	5.6±1.1*#
ULD抗CB1+ULD抗S100	74.5±2.8	393.1±28	45.5±2.9	8.3±1.5	3.8±0.7

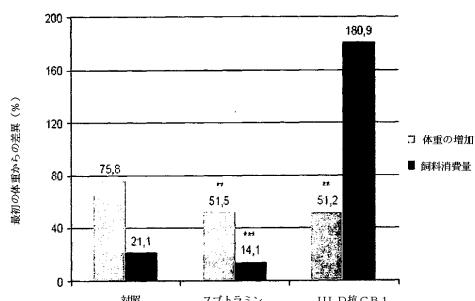
10

無処置との差が統計的に有意であるもの：\*は $p < 0.05$ であり、\*\*は $p < 0.01$ である。

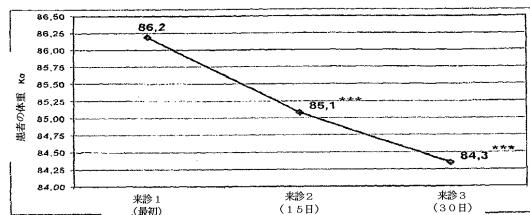
対照との差が統計的に有意であるもの：#は $p < 0.05$ であり、##は $p < 0.01$ である。

表12. マウスの運動活性に対する調製物の影響（オープンフィールド試験）、M±m

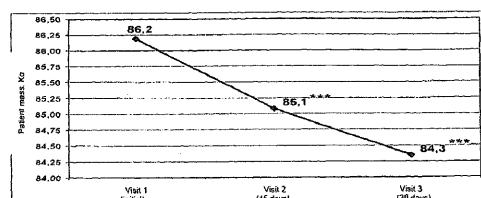
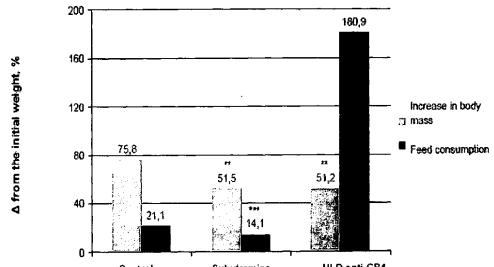
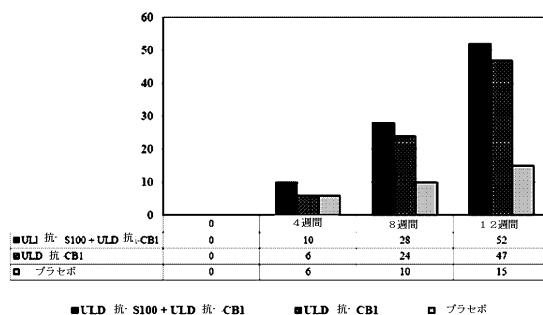
【図1】

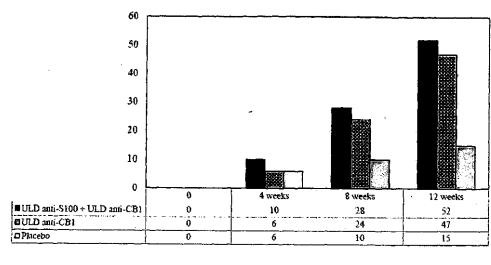


【図2】



【図3】





【配列表】

2013535436000001.app

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/IB2011/002404															
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. C07K16/24 C07K16/28 A61K41/00 A61P1/00 A61P25/30 ADD.																	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																	
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K A61P																	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched																	
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data																	
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category*</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">X</td> <td style="text-align: left; padding: 2px;">EP 2 036 574 A1 (O. EPSHTEIN ET AL.) 18 March 2009 (2009-03-18) examples 1,3 claims -----</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-39,43, 44</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">X</td> <td style="text-align: left; padding: 2px;">EP 1 550 460 A1 (O. EPSHTEIN ET AL.) 6 July 2005 (2005-07-06) examples claims -----</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-11, 33-39, 43,44</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">X</td> <td style="text-align: left; padding: 2px;">EP 1 547 612 A1 (O. EPSHTEIN ET AL.) 29 June 2005 (2005-06-29) examples claims -----</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-11, 33-39, 43,44</td> </tr> <tr> <td></td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">- / --</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	EP 2 036 574 A1 (O. EPSHTEIN ET AL.) 18 March 2009 (2009-03-18) examples 1,3 claims -----	1-39,43, 44	X	EP 1 550 460 A1 (O. EPSHTEIN ET AL.) 6 July 2005 (2005-07-06) examples claims -----	1-11, 33-39, 43,44	X	EP 1 547 612 A1 (O. EPSHTEIN ET AL.) 29 June 2005 (2005-06-29) examples claims -----	1-11, 33-39, 43,44		- / --	
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.															
X	EP 2 036 574 A1 (O. EPSHTEIN ET AL.) 18 March 2009 (2009-03-18) examples 1,3 claims -----	1-39,43, 44															
X	EP 1 550 460 A1 (O. EPSHTEIN ET AL.) 6 July 2005 (2005-07-06) examples claims -----	1-11, 33-39, 43,44															
X	EP 1 547 612 A1 (O. EPSHTEIN ET AL.) 29 June 2005 (2005-06-29) examples claims -----	1-11, 33-39, 43,44															
	- / --																
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.															
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed																	
Date of the actual completion of the international search  3 February 2012		Date of mailing of the international search report  13/02/2012															
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Nooij, Frans															

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/IB2011/002404

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/070305 A2 (ELI LILLY AND COMPANY) 12 June 2008 (2008-06-12) page 31 - page 32 -----	1-39
X	WO 2008/122618 A1 (INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE (INSERM)) 16 October 2008 (2008-10-16) example 2 claims -----	1-39
X	US 2005/100513 A1 (WATKINS ET AL.) 12 May 2005 (2005-05-12) the whole document -----	37-43,45
A	A. SHANG ET AL.: "Are the clinical effects of homoeopathy placebo effects? Comparative study of placebo-controlled trials of homoeopathy and allopathy.", THE LANCET, vol. 366, 27 August 2005 (2005-08-27), pages 726-732, XP025277623, the whole document -----	1-45
A	W. JONAS ET AL.: "A critical overview of homeopathy.", ANNALS OF INTERNAL MEDICINE, vol. 138, 2003, pages 393-399, XP002355318, the whole document -----	1-45
A	A. VICKERS: "Clinical trials of homeopathy and placebo: Analysis of a scientific debate.", THE JOURNAL OF ALTERNATIVE AND COMPLEMENTARY MEDICINE, vol. 6, no. 1, 2000, pages 49-56, XP008055722, the whole document -----	1-45

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No  
PCT/IB2011/002404

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
EP 2036574	A1	18-03-2009		AU 2007261782 A1 CA 2654408 A1 EA 200802440 A1 EP 2036574 A1 EP 2395021 A1 JP 2009539827 A KR 20090024241 A US 2011008452 A1 WO 2007149010 A1		27-12-2007 27-12-2007 30-06-2009 18-03-2009 14-12-2011 19-11-2009 06-03-2009 13-01-2011 27-12-2007
EP 1550460	A1	06-07-2005		AU 2002325433 A1 EP 1550460 A1 UA 76640 C2 US 2006153845 A1 US 2007141058 A1 WO 2004012766 A1		23-02-2004 06-07-2005 15-04-2005 13-07-2006 21-06-2007 12-02-2004
EP 1547612	A1	29-06-2005		AU 2002325434 A1 EP 1547612 A1 UA 76639 C2 US 2006165697 A1 US 2010209430 A1 WO 2004012767 A1		23-02-2004 29-06-2005 15-04-2005 27-07-2006 19-08-2010 12-02-2004
WO 2008070305	A2	12-06-2008		AR 063497 A1 AT 492543 T AU 2007329807 A1 AU 2007329808 A1 CA 2667210 A1 CA 2667372 A1 CL 30022007 A1 CN 101528732 A CN 101528733 A DK 2094684 T3 EA 200970404 A1 EA 200970405 A1 EP 2094684 A2 EP 2099784 A2 ES 2356025 T3 JP 2010507589 A JP 2010507590 A KR 20090069316 A KR 20090071613 A PE 09262008 A1 PT 2094684 E SI 2094684 T1 TW 200825067 A US 2009275618 A1 US 2010016375 A1 WO 2008070305 A2 WO 2008070306 A2		28-01-2009 15-01-2011 12-06-2008 12-06-2008 12-06-2008 12-06-2008 06-06-2008 09-09-2009 09-09-2009 14-03-2011 30-10-2009 30-12-2009 02-09-2009 16-09-2009 04-04-2011 11-03-2010 11-03-2010 30-06-2009 01-07-2009 19-07-2008 28-01-2011 29-04-2011 16-06-2008 05-11-2009 21-01-2010 12-06-2008 12-06-2008
WO 2008122618	A1	16-10-2008		AT 530649 T EP 1985295 A1 EP 2129374 A1 ES 2374026 T3 JP 2010523531 A US 2010056758 A1		15-11-2011 29-10-2008 09-12-2009 13-02-2012 15-07-2010 04-03-2010

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No  
PCT/IB2011/002404

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		WO 2008122618 A1	16-10-2008
US 2005100513	A1 12-05-2005	NONE	

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.

F I

テーマコード(参考)

C 0 7 K 16/18

(81) 指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,R,S,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72) 発明者 スヴェトラーナ アレクサンドロヴナ・セルゲーエワ

ロシア共和国 1 1 7 5 3 5 モスクワ ケーブイ . 2 1 4 コープ . 1 ディー . 1 ウリツア  
ロッソシャンスカヤ

(72) 発明者 リュドミーラ フョードロヴナ・ドルゴヴィイフ

ロシア共和国 4 5 4 0 9 1 チェリヤビンスク ケーブイ . 1 ディー . 1 6 ウリツア カーチャトワ

(72) 発明者 イリーナ アナトリエヴナ・ケイフェツ

ロシア共和国 1 4 1 7 0 7 モスクワスカヤ オプラスチ ドルゴブルドニ ケーブイ . 4 1 2  
ディー . 1 5 ノーヴイ ブルヴァー

(72) 発明者 ユリア レオニドヴナ・ドゥギナ

ロシア共和国 1 2 5 3 6 8 モスクワ ケーブイ . 2 5 ディー . 5 アンゲロフ パー

(72) 発明者 ユリア アレクサンドロヴナ・ザボロトネヴァ

ロシア共和国 1 0 9 5 5 9 モスクワ ケーブイ . 4 6 ケー . 2 ディー . 3 9 マージンスキー パーク

(72) 発明者 セルゲイ アレクサンドロヴィッチャ・タラソワ

ロシア共和国 1 4 3 0 4 0 オディンツォヴスキー アール-エヌ モスクワスカヤ オプラスチ ゴリツィノ ケーブイ . 9 7, 9 8 コープ . 3 ウリツア ソヴェトスカヤ 5 6

F ターム(参考) 4C085 AA13 AA14 CC23 EE01 EE03

4H045 AA11 AA30 CA40 DA75 DA76 EA20 FA74