

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 542 042**

21 Número de solicitud: 201390003

51 Int. Cl.:

C07K 16/24 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A2

22 Fecha de presentación:

15.07.2011

30 Prioridad:

15.07.2010 RU 2010129289

02.06.2011 RU 2011122407

21.07.2010 RU 2010130350

43 Fecha de publicación de la solicitud:

29.07.2015

71 Solicitantes:

EPSHTEIN, Oleg Iliich (100.0%)
4 Samotyochny Per., d. 3, Kv. 72
127473 - Moscú RU

72 Inventor/es:

EPSHTEIN, Oleg Iliich;
SERGEEVA, Svetlana Alexandrovna;
DOLGOVYH, Liudmila Fyodorovna;
KHEYFETS, Irina Anatolievna;
DUGINA, Julia Leonidovna;
ZABOLOTNEVA, Julia Alexandrovna y
TARASOV, Sergey Alexandrovich

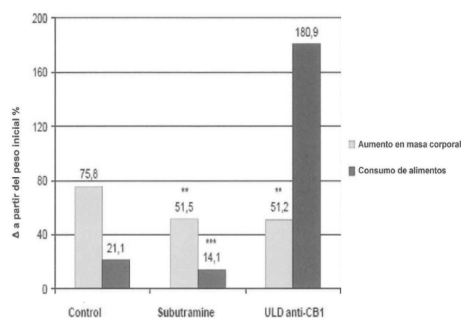
74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

54 Título: **Composiciones farmacéuticas y uso para preparar un medicamento destinado al tratamiento de la obesidad, los trastornos metabólicos relacionados y la adicción a sustancias psicoactivas**

57 Resumen:

Composiciones farmacéuticas y uso para preparar un medicamento destinado al tratamiento de la obesidad, los trastornos metabólicos relacionados y la adicción a sustancias psicoactivas. La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que constan de una forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano y su uso en el tratamiento de la obesidad y trastornos metabólicos relacionados. La presente invención proporciona asimismo composiciones farmacéuticas que constan de una forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano y de una forma activada y potenciada de un anticuerpo para la proteína S-100, a usar en el tratamiento de la adicción a sustancias psicoactivas. La presente invención proporciona métodos para tratar la obesidad y los trastornos metabólicos relacionados, así como la drogadicción.



Las diferencias con respecto al control son estadísticamente significativas, con $p < 0,01$; *** con $p < 0,001$

Figura 1

ES 2 542 042 A2

DESCRIPCIÓN

Composiciones farmacéuticas y uso para preparar un medicamento destinado al tratamiento de la obesidad, los trastornos metabólicos relacionados y la adicción a sustancias psicoactivas

Campo

- 5 La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que pueden utilizarse para tratar la obesidad y los trastornos metabólicos relacionados, y para tratar la adicción a las sustancias psicoactivas, la nicotina en particular.

Antecedentes

- 10 La obesidad se reconoce en la actualidad como una enfermedad crónica que requiere tratamiento para reducir los riesgos para la salud con ella asociados. El aumento de la obesidad causa preocupación debido a los riesgos asociados para la salud, incluyendo enfermedades cardíaco coronarias, derrames cerebrales, hipertensión, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia, apnea del sueño, osteoartritis, enfermedades de la vesícula, depresión y ciertas formas de cáncer (por ejemplo: de endometrio, senos, próstata y colon). Sus consecuencias negativas
15 para la salud convierten a la obesidad en la segunda causa principal de muertes evitables en los Estados Unidos. Ver McGinnis M, Foege W H., "Actual Causes of Death in the United States," JAMA, 270, 2207 12 (1993).

Se cree que una reducción entre 5 y 10% del peso corporal puede mejorar substancialmente los valores metabólicos tales como glucemia, presión sanguínea y concentraciones de lípidos.

- 20 Los medicamentos de venta con receta disponibles en la actualidad para tratar la obesidad reducen por lo general el peso induciendo saciedad o disminuyendo la absorción de las grasas alimenticias. La saciedad se logra aumentando los niveles sinápticos de la norepinefrina, serotonina o de ambas. Por ejemplo, la estimulación de los receptores de la serotonina subtipos 1B, 1D y 2C y de los receptores adrenérgicos 1 y 2 disminuye la ingesta de alimentos regulando
25 la ansiedad. Ver Bray G A, "The New Era of Drug Treatment. Pharmacologic Treatment of Obesity: Symposium Overview," Obes. Res., 3(suppl 4), (1995). Los adrenérgicos (por ejemplo: dietilpropión, benzfetamina, fendimetrazina, mazindol y fentermina) actúan modulando los receptores centrales de la norepinefrina y la dopamina, lo que hacen fomentando la liberación de la catecolamina. Los adrenérgicos más antiguos para perder peso (por ejemplo: anfetamina,
30 metanfetamina y fenmetracina), los cuales actúan fuertemente en los caminos de la dopamina, no se recomiendan ya debido al riesgo de abuso de los mismos. La fenfluramina y la

dexfenfluramina, ambos serotoninérgicos utilizados para regular el apetito, no están ya disponibles en el mercado.

Debido a los efectos secundarios mencionados y al desarrollo de la adicción resultante del uso de tales sustancias psicoactivas, no se dispone aún de un medicamento efectivo y seguro de efecto central. Existe aún, por lo tanto, la necesidad de un tratamiento terapéutico más efectivo y seguro para reducir o prevenir la obesidad y los trastornos metabólicos relacionados.

Además de para la obesidad, existe también la necesidad no satisfecha de un tratamiento para la drogadicción.

El tabaquismo representa la causa de enfermedad y muerte evitable más importante en nuestra sociedad, a la que se deben miles de muertes cada año. La mitad de todos los fumadores mueren de enfermedades relacionadas directamente con el uso del tabaco y numerosos fumadores sufren una morbilidad significativa. Aproximadamente 15 millones de fumadores tratan de dejar este vicio, pero sólo un millón lo logra cada año.

El humo del cigarrillo contiene un gran número de sustancias muy complejas, la más importante de las cuales es la nicotina, por ser la sustancia que crea adicción en los fumadores de cigarrillos. Se ha comprobado que varias farmacoterapias son eficaces para tratar el tabaquismo. Tales terapias incluyen la sustitución de la nicotina en forma de gomas de mascar, parches, rociadores nasales e inhaladores. Se han desarrollado terapias farmacológicas sin nicotina como método para tratar la adicción a la nicotina. Entre los posibles reactivos están la terapia de bloqueo de la nicotina, los medicamentos que afectan la neurotransmisión serotoninérgica, los antidepresivos, los ansiolíticos, la clonidina y la sustitución sensitiva en las vías respiratorias (Rose, 1996; and Cinciripini et al., 1998 Oncology 12: 249-256). La terapia de bloqueo de la nicotina (también denominada antagonistas de los receptores de la nicotina) utiliza compuestos que ocupan los receptores de la nicotina, atenuando así la gratificación que se obtiene con el uso del tabaco (Clarke, 1991 Br. J. Addict. 86: 501-505). Se necesita, sin embargo, un tratamiento más eficaz para el tabaquismo.

Los receptores de los cannabinoides son una clase de receptores de la membrana celular pertenecientes a la superfamilia de receptores acoplados con la proteína G. Los receptores cannabinoides se activan por medio de tres grupos principales de ligandos: (a) los endocannabinoides (producidos por el cuerpo de los mamíferos); (b) los cannabinoides de plantas (tales como THC, producidos por la planta cannabis); y (c) los cannabinoides sintéticos (tales

como HU-210, sintetizado por primera vez en el año 1988 y proveniente del (1R,5S)-Myrtenol). Estos cannabinoides ejercen sus efectos uniéndose a los receptores cannabinoides situados en la membrana celular. Se sabe que los endocannabinoides participan en una amplia variedad de procesos fisiológicos y patofisiológicos. A la fecha, la mayoría de los medicamentos utilizados para interactuar con el sistema endocanabinoide se derivan del cannabis. El cannabis es el más popular como materia prima para productos tales como la marihuana y el hachís, y su uso regular puede dar como resultado el desarrollo de dependencia.

Se ha caracterizado a dos receptores cannabinoides: receptor canabinoide 1 (CB1), un receptor central encontrado en los tejidos cerebrales y periféricos de los mamíferos; y el receptor canabinoide 2 (CB2), un receptor canabinoide encontrado solamente en los tejidos periféricos. El receptor CB1 se manifiesta principalmente en varias zonas del cerebro, incluyendo el sistema límbico (amígdalas, hipocampo), el hipotálamo, la corteza cerebral, el cerebelo y los ganglios basales. Se ha demostrado que los compuestos que son agonistas o antagonistas de uno de estos receptores, o ambos, tienen gran variedad de efectos farmacológicos. Ver por ejemplo: Pertwee, R.G., Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors, Pharmacol. Ther., (1997) 74:129-180 y Di Marzo, V., Melck, D., Bisogno, T., DePetrocellis, L., Endocannabinoids: endogenous receptor canabinoide ligands with neuromodulatory action, Trends Neurosci. (1998) 21:521-528.

El inventor de la presente solicitud de patente, el Dr. Oleg I. Epshtein, descubrió el efecto terapéutico de una formulación extremadamente diluida (o ultra baja) de anticuerpos potenciados mediante tecnología homeopática (forma activada y potenciada). La Patente estadounidense No. 7.582.294 revela un medicamento para tratar la hiperplasia prostática benigna o prostatitis mediante la administración de una formulación, activada homeopáticamente, de anticuerpos de un antígeno específico de la próstata (PSA, prostate specific antigen).

La proteína S-100 es una proteína citoplasmática ácida que aparece en el sistema nervioso. Se ha sugerido que la proteína S-100 juega cierto papel en la ansiedad. Ver los estudios de 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, los cuales se incorporan al presente documento mediante referencia.

Se ha comprobado que dosificaciones ultra bajas de la proteína S-100 tienen una actividad anxiolítica, anti-asténica, anti-agresiva, protectora para el estrés, anti-hipóxica, anti-isquémica, neuroprotectora y nootrópica. Ver los estudios de 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, los cuales se incorporan a este documento mediante referencia.

Existe la necesidad continua de medicamentos nuevos con la eficacia terapéutica deseada para tratar el exceso de masa corporal u obesidad y la drogadicción.

Sumario

En uno de sus aspectos la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una forma activada y potenciada para un anticuerpo del receptor canabinoide humano. De preferencia, el receptor canabinoide humano es un receptor canabinoide 1 (CB1). Se contempla que la forma activada y potenciada de un anticuerpo de este aspecto de la invención sea para un receptor 1 canabinoide enteramente humano. Se contemplan en particular las secuencias específicas suministradas en la descripción detallada de la invención. Se contempla así mismo que la forma activada y potenciada de un anticuerpo sea para un fragmento polipéptido del receptor 1 canabinoide humano. De preferencia, la forma activada y potenciada de un anticuerpo está en forma de una mezcla de las diluciones homeopáticas C12, C30 y C200. En la variante preferida en particular, la forma activada y potenciada de un anticuerpo está en forma de una mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30 y C200 impregnadas en un portador sólido. Se contempla la forma activada y potenciada de un anticuerpo para un receptor canabinoide humano es un anticuerpo monoclonal, policlonal o natural. De preferencia, la forma activada y potenciada de un anticuerpo para un receptor canabinoide humano es un anticuerpo policlonal. El anticuerpo para el receptor canabinoide humano puede prepararse mediante diluciones centesimales sucesivas junto con a la agitación de cada una de las diluciones.

En otro de sus aspectos la invención ofrece un método para tratar la obesidad y los trastornos metabólicos relacionados, comprendiendo dicho método administrar la composición farmacéutica de cualquier variante o la incorporación del aspecto de la composición farmacéutica de la invención. La composición farmacéutica puede administrarse al paciente como una o dos formulaciones posológicas unitarias, de una a cuatro veces al día. Se contempla específicamente la administración dos veces al día.

En otro de sus aspectos la invención ofrece un método para tratar el tabaquismo, comprendiendo dicho método administrar la composición farmacéutica de cualquier variante o la incorporación del aspecto de la composición farmacéutica de la invención. La composición farmacéutica puede administrarse al paciente como formulaciones posológicas de una o dos unidades, de una a cuatro veces al día. Se contempla específicamente la administración dos veces al día.

En otro de sus aspectos la invención ofrece un método para alterar los parámetros antropométricos de un mamífero que se espera obtenga un beneficio de dicha alteración, comprendiendo dicho método administrar la composición farmacéutica de cualquier variante o la incorporación de un aspecto de la composición farmacéutica de la invención. En una de las incorporaciones el parámetro antropométrico es la circunferencia de la cintura. En otra incorporación del parámetro antropométrico es el índice cintura-cadera. Se ofrecen variantes diversas.

En otro de sus aspectos la invención ofrece un método para reducir la masa corporal en un mamífero, comprendiendo dicho método administrar la composición farmacéutica de cualquier variante o la incorporación de un aspecto de la composición farmacéutica de la invención. En una de las variantes la masa corporal se reduce 5% por lo menos. En otra de las variantes la masa corporal se reduce 10% por lo menos. En otra de las variantes la masa corporal se reduce 15% por lo menos.

En otro de sus aspectos la invención ofrece un método para reducir el crecimiento de la masa corporal en un mamífero, comprendiendo dicho método administrar la composición farmacéutica de cualquier variante o la incorporación del aspecto de la composición farmacéutica de la invención. En una de las variantes el crecimiento de la masa corporal se reduce 10% por lo menos. En otra de las variantes, el crecimiento de la masa corporal se reduce 30% por lo menos.

En otro de sus aspectos la invención ofrece un método para facilitar la reducción del consumo de alimentos en un mamífero que se espera se beneficie de dicha reducción, comprendiendo dicho método administrar la composición farmacéutica de cualquier variante o la incorporación del aspecto de la composición farmacéutica de la invención.

- 5 En otro de sus aspectos la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano y una forma activada y potenciada de un anticuerpo para la proteína S-100. En otra de las variantes el anticuerpo para la proteína S-100 es un anticuerpo para la totalidad de la proteína S-100. Las secuencias para la proteína S-100 se proporcionan en las
10 especificaciones. El anticuerpo para la proteína S-100 está preferentemente en forma de mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30 y C200 impregnadas en el portador sólido. La composición farmacéutica de este aspecto de la invención puede contener un anticuerpo para la proteína S-100 que sea un anticuerpo monoclonal, policlonal o natural. El anticuerpo para la proteína S-100 es preferiblemente un anticuerpo policlonal. El anticuerpo para la proteína S-100
15 puede prepararse mediante diluciones centesimales sucesivas junto con agitación de cada una de ellas.

- En otro de sus aspectos la invención ofrece un método para tratar al paciente que sufre de adicción a una sustancia psicoactiva, comprendiendo dicho método administrar una composición farmacéutica integrada por una forma activada y potenciada de un anticuerpo para
20 el receptor canabinoide humano y una forma activada y potenciada de un anticuerpo para la proteína S-100. La sustancia psicoactiva es preferiblemente nicotina. La administración de dicha combinación produce una mejoría, estadísticamente significativa, de la capacidad para tolerar el abandono del consumo de tabaco, según medido por el análisis de los datos de la Prueba MPSS. Preferentemente la administración de dicha combinación conduce a una
25 reducción, estadísticamente significativa, del consumo de tabaco en pacientes con tabaquismo moderado, según mediciones con la Prueba de Fagerström para la Prueba de dependencia de la nicotina. De preferencia la administración de dicha combinación lleva a una reducción, estadísticamente significativa, del consumo de tabaco en pacientes con tabaquismo agudo, según mediciones con la Prueba de Fagerström para la Prueba de dependencia de la nicotina.

- 30 En otro de sus aspectos la invención ofrece una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de pacientes que sufren de adicción a una sustancia psicoactiva, obteniéndose dicha composición suministrando: a) una solución potenciada de un anticuerpo para un

receptor canabinoide humano; y b) una solución activada de una forma activada y potenciada de un anticuerpo para la proteína S-100; cada uno de ellos preparado mediante dilución repetida y consecutiva y de agitación vertical múltiple de cada una de las soluciones obtenidas de acuerdo con la tecnología homeopática y, o bien combinando después las soluciones potencias mezclándolas, o alternativamente, impregnando una masa portadora con dicha solución combinada o con las soluciones por separado.

En otro de sus aspectos la invención ofrece una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de la obesidad y trastornos metabólicos relacionados, obteniéndose dicha composición proporcionando una solución potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano preparada mediante dilución repetida y consecutiva y de agitación vertical múltiple de cada una de las soluciones obtenidas de acuerdo con la tecnología homeopática y, opcionalmente, impregnando después una masa portadora con dicha solución.

Descripción breve de las ilustraciones

Ilustración 1 – Muestra el efecto de ULD anti-CB1 y de Subutramine sobre el crecimiento de la masa corporal y el consumo de alimentos.

Ilustración 2 – Muestra la reducción de la masa corporal después de administrar ULD anti-CB1.

Ilustración 3 – Muestra una reducción en peso de 5% ó más en los pacientes.

Descripción detallada

La invención se define mediante referencia a las reivindicaciones adjuntas. Con respecto a las reivindicaciones, el glosario siguiente ofrece las definiciones pertinentes.

Tal como aquí se utiliza, el término “anticuerpo” significa una inmunoglobulina que se une específicamente y se define por lo tanto como complementaria, a una organización espacial y polar específica de otra molécula. Tal como se enumeran en las reivindicaciones, los anticuerpos pueden incluir una inmunoglobulina completa o un fragmento de ella, pueden ser naturales, policlonales o monoclonales y pueden incluir clases diferentes de isotipos, tales como IgA, IgD, IgE, IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3, IgM, etc. Los fragmentos de los mismos pueden incluir Fab, Fv u F(ab')₂, Fab' y similares. “Anticuerpo” en singular incluye el plural “anticuerpos.”

El término “forma activada y potenciada” o “formulación potenciada”, respectivamente, con respecto a los anticuerpos aquí enumerados, se utiliza para designar un producto de la potenciación homeopática de cualquier solución inicial de anticuerpos. “Potenciación homeopática” significa el uso de métodos de homeopatía para transmitir potencia homeopática a la solución inicial de la sustancia pertinente. Aunque no se limita a ello, la ‘potenciación homeopática’ puede conllevar, por ejemplo, diluciones consecutivas repetidas combinadas con un tratamiento externo, en especial agitación (mecánica). En otras palabras, la solución inicial del anticuerpo está sujeta a dilución repetida consecutiva y agitación vertical múltiple de cada una de las soluciones obtenidas de acuerdo con la tecnología homeopática. La concentración preferida de la solución inicial del anticuerpo en el solvente, preferiblemente agua o una mezcla de agua y alcohol etílico, que oscila de cerca de 0,5 a cerca de 5,0 mg/ml. El procedimiento de preferencia para preparar cada uno de los componentes, es decir, la solución del anticuerpo, es el uso de una mezcla de tres diluciones acuosas, o acuoso-alcohólicas, de la solución matriz primaria (tintura madre) de los anticuerpos diluidos 10012, 10030 y 100200 veces, respectivamente, lo cual es equivalente a diluciones homeopáticas centesimales C12, C30 y C200. Los ejemplos de la potenciación homeopática se describen en las Patentes estadounidenses Nos. 7.572.441 y 7.582.294, las cuales se incorporan aquí mediante referencia en su totalidad y para los fines indicados. Aunque en las reivindicaciones se usa el término “forma activada y potenciada”, en los ejemplos se usa el término “dosificaciones ultra bajas”. El término “dosis ultra bajas” se convirtió en un léxico profesional en el campo profesional creado mediante el estudio y uso de la formulación de sustancia homeopáticamente diluida y potenciada. El término “dosificación ultra baja” o “dosificaciones ultra bajas” se entiende como que apoya plenamente y es un sinónimo primario del término formulación ‘activada y potenciada’ usado en las reivindicaciones.

En otras palabras, un anticuerpo está en la formulación “activada y potenciada” o “potenciada” cuando hay tres factores presentes. Primero, la formulación “activada y potenciada” del anticuerpo es producto de un proceso de preparación ampliamente aceptado en la ciencia de la homeopatía. Segundo, la formulación “activada y potenciada” del anticuerpo debe tener una actividad biológica determinada mediante métodos bien aceptados en la farmacología moderna. Y tercero, la actividad biológica que presenta la formulación “activada y potenciada” del anticuerpo no puede explicarse mediante la presencia de la formulación molecular del anticuerpo en el producto final del proceso homeopático.

Por ejemplo, la formulación potenciada y activada de los anticuerpos puede prepararse sometiendo el anticuerpo inicial aislado en formulación molecular a diluciones múltiples consecutivas acopladas con un impacto externo, tal como la agitación mecánica. El tratamiento externo en el transcurso de la reducción de la concentración puede lograrse también, por ejemplo, mediante la exposición a factores ultrasónicos, electromagnéticos u otros factores físicos. V. Schwabe "Homeopathic medicines", M., 1967, Patentes estadounidenses Nos. 7.229.648 y 4.311.897, las cuales se incorporan mediante referencia en su totalidad, para los fines indicados, describe dichos procesos, los cuales son métodos bien aceptados de la potenciación homeopática en la ciencia de la homeopatía. Este procedimiento da origen a una disminución uniforme de la concentración molecular de la formulación molecular inicial del anticuerpo. Este procedimiento se repite hasta obtener la potencia homeopática deseada. Para un anticuerpo específico, la potencia homeopática deseada puede determinarse sometiendo las diluciones intermedias a pruebas biológicas en el modelo farmacológico deseado. Aunque no por ello limitada, la 'potenciación homeopática' puede conllevar, por ejemplo, repetidas diluciones consecutivas combinadas con tratamiento externo, en especial agitación vertical (mecánica). En otras palabras, la solución inicial del anticuerpo está sujeta a dilución consecutiva repetida y a agitación vertical múltiple de cada solución obtenida, de acuerdo con la tecnología homeopática. La concentración de preferencia de la solución inicial del anticuerpo en el solvente, preferiblemente agua o una mezcla de agua y alcohol etílico, que oscila de cerca de 0,5 a cerca de 5,0 mg/ml. El procedimiento preferido para preparar cada componente, es decir, la solución del anticuerpo, es el uso de una mezcla de tres diluciones acuosas o acuoso-alcohólicas de la solución matriz primaria (la tintura madre) de anticuerpos diluidos 10012, 10030 y 100200 veces, respectivamente, lo cual es equivalente a diluciones homeopáticas centesimales de C12, C30 y C200. También se suministran ejemplos de cómo obtener la potencia deseada, por ejemplo en las Patentes Nos. 7.229.648 y 4.311.897, las cuales se incorporan mediante referencia para los fines indicados. El procedimiento aplicable a la formulación "activada y potenciada" de los anticuerpos aquí explicados, se describe más detalladamente a continuación.

Ha habido considerable controversia respecto al tratamiento homeopático en seres humanos. Aunque la presente invención se basa en procesos homeopáticos aceptados para obtener la formulación "activada y potenciada" de anticuerpos, no lo hace únicamente en homeopatía en seres humanos para obtener pruebas de su actividad. El inventor de la solicitud presente ha descubierto, sorprendentemente, y ha demostrado ampliamente en los modelos farmacológicos

aceptados, que el solvente obtenido en definitiva, después de dilución múltiple consecutiva de una formulación molecular inicial de un anticuerpo, tiene definitivamente actividad no relacionada con la presencia de restos de la formulación molecular del anticuerpo en la dilución deseada. Se han hecho pruebas de la formulación “activada y potenciada” del anticuerpo aquí
5 suministrada con respecto a su actividad biológica en modelos farmacológicos de actividad ampliamente aceptados, ya sea en experimentos apropiados in vitro o en modelos animales adecuados in vivo. En los experimentos que se ofrecen a continuación se ofrece prueba de la actividad biológica en tales modelos. En los estudios clínicos en seres humanos, también ofrecidos a continuación, se dan pruebas, entre otras, de que la actividad observada en el
10 modelo animal se traslada bien a la terapia en los seres humanos. El estudio en seres humanos brinda también pruebas de disponibilidad de las formulaciones “activadas y potenciadas” aquí descritas para tratar enfermedades específicas de los humanos o trastornos ampliamente aceptados en la ciencia médica como estados patológicos.

Así mismo, la formulación “activada y potenciada” reivindicada del anticuerpo engloba
15 únicamente soluciones o preparaciones sólidas cuya actividad biológica no puede explicarse mediante la presencia de la formulación molecular del anticuerpo restante de la solución de inicio. En otras palabras, aunque se contempla que la formulación “activada y potenciada” del anticuerpo puede contener restos de la formulación molecular inicial del anticuerpo, cualquier persona versada en esta ciencia no podría atribuir con algún grado de credibilidad la actividad
20 biológica observada en los modelos farmacológicos aceptados a una formulación molecular remanente del anticuerpo, debido a las concentraciones extremadamente bajas de la formulación molecular del anticuerpo restantes después de diluciones consecutivas. Aunque la invención no está limitada por teoría específica alguna, la actividad biológica de la formulación “activada y potenciada” de los anticuerpos de esta invención no es atribuible a la formulación
25 molecular inicial del anticuerpo. Se prefiere la formulación “activada y potenciada” del anticuerpo en forma líquida o sólida, en la cual la concentración de la formulación molecular del anticuerpo está por debajo del límite de detección de las técnicas analíticas aceptadas, tales como electroforesis capilar y cromatografía líquida de alta resolución. Se prefiere, en particular, la formulación “activada y potenciada” del anticuerpo en forma líquida o sólida, en la
30 cual la concentración de la formulación molecular del anticuerpo está por debajo del número de Avogadro. En la farmacología de las formulaciones moleculares de sustancias terapéuticas, es práctica común crear una curva de respuesta a la dosis en la cual se grafica el nivel de respuesta farmacológica con respecto a la concentración del medicamento activo administrado

al sujeto o según pruebas in vitro. El nivel mínimo del medicamento que produce cualquier repuesta detectable se conoce como la dosis mínima o umbral. Se contempla específicamente y se prefiere que la formulación “activada y potenciada” de los anticuerpos contenga un anticuerpo molecular, si acaso, a una concentración por debajo de la dosis mínima para la formulación molecular del anticuerpo en el modelo biológico dado.

El término "receptor CB1" tiene su significado general en la ciencia y puede incluir al receptor CB1 que ocurre naturalmente y a variantes y fórmulas modificadas del mismo. El receptor CB1 puede provenir de cualquier fuente, pero usualmente proviene de un mamífero.

El término “obesidad” significa una gama de pesos superior a los que se consideran generalmente saludables para una altura dada. Los rangos de obesidad se determinan usando el peso y la altura para calcular un número llamado “índice de masa corporal” (BMI, body mass index). Se considera que un adulto con BMI entre 25 y 29,9 tiene sobrepeso. Se considera que un adulto con BMI de 30 ó más alto, es obeso. La fórmula del BMI es como sigue:

Peso – (altura en pulgadas) $2 \times 703 = \text{BMI}$

El BMI no siempre indica con exactitud el grado de gordura. En un número de estudios cada vez mayor se indica que el grado de distribución de la grasa central (obesidad central) puede estar más estrechamente unido a riesgos metabólicos que el BMI. Pareciera que la medición del grado de distribución de la grasa central es importante para la detección temprana de riesgos ulteriores de la salud, incluso entre individuos con peso normal. S D Hsieh, H Yoshinaga and T Muto, International Journal of Obesity (2003) 27, 610–616. Ver también Price GM, Uauy R, Breeze E, Bulpitt CJ, Fletcher AE (Agosto 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 death" Am. J. Clin. Nutr. 84 (2): 449–60. La circunferencia de la cintura y los índices de ella derivados tales como la relación cintura-cadera y la relación cintura-altura se han utilizado como mediciones indirectas de la obesidad central. Sung et. al., Waist circumference and waist-height ratio of Hong Kong Chinese children, BMC Public Health 2008, 8:324. Se cree por lo tanto que la medición de los parámetros antropométricos, como por ejemplo la circunferencia de la cintura, la relación cintura-cadera y la relación cintura-altura es un indicador del grado de gordura.

El término “relación cintura-cadera” es la relación de la circunferencia de la cintura con la de las caderas. La relación cintura-cadera es igual a la circunferencia de la cintura dividida por la

circunferencia de la cadera. Una relación cintura-cadera de más de 0,9 en las mujeres y 1,0 en los hombres se asocia con un aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares y es una indicación para el tratamiento de la obesidad. Idealmente, las mujeres deben tener una relación cintura-cadera de 0,8 ó menos y los hombre de 0,95 ó menos.

- 5 El término “relación cintura-altura” de una persona se define como la circunferencia de la cintura de la persona dividida por su peso. En personas menores de 40 años, una relación cintura-altura de más de 0,5 es crítica; para personas en el grupo etario entre 40 y 50 el valor crítico está entre 0,5 y 0,6 y para personas de más de 50 años los valores críticos comienzan en 0,6.

- 10 El término "trastornos metabólicos relacionados con la obesidad" se refiere a enfermedades crónicas que necesitan tratamiento para reducir riesgos excesivos de la salud asociados con la obesidad y los trastornos, incluyendo las enfermedades representativas diabetes mellitus tipo 2, trastornos cardiovasculares e hipertensión, hiperlipidemias y anormalidades fibrinolíticas.

- 15 El término “Prueba de Fagerström” se refiere a una prueba estándar para dependencia de la nicotina que evalúa la intensidad del tabaquismo. Ver 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. La prueba consiste en una breve encuesta auto-informe que mide la dependencia de la nicotina en una escala de 0-10, siendo 10 el nivel más alto de dependencia.

- 20 El término “Escala del estado de ánimo y síntomas físicos” (MPSS, Mood and Physical Symptoms Scale) se refiere a una escala creada a principios de la década de 1980 que se utiliza para evaluar los síntomas cuando se deja de fumar. (West R, Hajek P: Evaluation of the mood and physical symptoms scale (MPSS) to assess cigarette withdrawal. Psychopharmacology 2004, 177(1-2):195-199). Los elementos principales de la MPSS incluyen una clasificación de 5 puntos de estado de ánimo deprimido, irritabilidad, agitación, dificultad en
25 concentrarse y hambre; y una clasificación de 6 puntos de fuerza de los impulsos de fumar y el tiempo empleado en tales impulsos.

- 30 El término “Escala de ansiedad y depresión hospitalaria” (HADS, Hospital Anxiety and Depression Scale) se refiere a una escala subjetiva para pruebas de detección de signos de ansiedad y depresión en pacientes internos y externos. Ver Zigmond, A. S., Snaith, R.P., The Hospital Anxiety and Depression scale, Acta Psychiatr. Scand., 1983, Vol. 67, páginas 361-370.

Mediante la presente invención se proporciona una composición farmacéutica a administrar al paciente que la necesite, consistiendo dicha composición farmacéutica en una forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano.

5 Mediante la invención presente se proporciona asimismo una composición farmacéutica a administrar al paciente que la necesite, consistiendo dicha composición farmacéutica en a) una forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano; y b) una forma activada y potenciada de un anticuerpo para la proteína S-100.

10 La composición farmacéutica para este aspecto de la invención puede estar en forma líquida o sólida. Cada una de las formulaciones activadas y potenciadas de anticuerpos incluidas en la composición farmacéutica se prepara sobre la base de una formulación molecular inicial del anticuerpo mediante un proceso aceptado en la ciencia homeopática. Los anticuerpos de inicio pueden ser monoclonales o policlonales, preparados de acuerdo con procesos conocidos, según se describen en los estudios Immunotechniques, G. Frimel, M., "Meditsyna", 1987, p. 9-33; "Hum. Antibodies. Monoclonal and recombinant antibodies, 30 años after" by Laffly E., Sodoyer R. – 2005 – Vol. 14. – N 1-2, páginas 33-55, ambos aquí incorporados mediante referencia.

15 Se contempla que la combinación farmacéutica para tratar el tabaquismo se administre en la cantidad de 6 a 8 tabletas diarias. En una de las variantes el modo de administración es 2 tabletas, 3 veces al día. En otra de las variantes el modo de administración es 3 tabletas, 2 veces al día. En otra variante el modo de administración es 4 tabletas, 2 veces al día. En otra variante el modo de administración es 1 tableta, 6 veces al día. En otra variante el modo de administración es 2 tabletas, 4 veces al día.

25 Los anticuerpos monoclonales pueden obtenerse, por ejemplo, mediante la tecnología de hibridoma. La etapa inicial del proceso incluye inmunización basada en los principios ya desarrollados en el curso de la preparación de antisueros policlonales. Otras etapas del trabajo incluyen la producción de células híbridas que generan clones de anticuerpos con especificidad idéntica. Su aislamiento por separado se realiza usando los mismos métodos que para preparar antisueros policlonales.

30 Los anticuerpos policlonales pueden obtenerse mediante la inmunización activa de animales. Para estos fines, los animales idóneos (como los conejos) reciben por ejemplo una serie de inyecciones del antígeno apropiado, ya sea un receptor canabinoide humano o proteína S-100. El sistema inmune de los animales genera los correspondientes anticuerpos, los cuales se

recogen de una manera conocida. Este procedimiento permite preparar un suero monoespecífico rico en anticuerpos.

De así desearlo, el suero que contiene los anticuerpos puede purificarse, usando por ejemplo cromatografía afín, fraccionación mediante precipitación de sales o cromatografía de intercambio de iones. El suero resultante purificado, enriquecido con anticuerpos, puede utilizarse como material de inicio para preparar la forma activada y potenciada de los anticuerpos. La concentración preferida de la solución inicial resultante de anticuerpos es el solvente, preferiblemente agua o una mezcla de agua y alcohol etílico que oscila de cerca de 0,5 a cerca de 5,0 mg/ml.

- El procedimiento preferido para preparar la forma activada y potenciada de anticuerpos de la presente invención o la combinación de anticuerpos de acuerdo a la presente invención, es el uso de una mezcla de tres diluciones acuoso-alcohólicas de la solución matriz primaria de anticuerpos diluidos 10012, 10030 y 100200 veces, respectivamente, que es equivalente a diluciones homeopáticas centesimales de C12, C30 y C200. Para preparar una formulación posológica sólida de una combinación de la invención, la masa portadora se trata con la dilución deseada obtenida mediante el proceso homeopático. Para obtener una dosificación unitaria sólida de una combinación de la invención, la masa portadora se impregna con cada una de las diluciones. Los dos tipos de impregnación son adecuados para preparar la formulación posológica de la combinación deseada.
- En la realización preferida, el material de inicio para preparar la forma activada y potenciada en que consiste la invención es un anticuerpo policlonal, generado en animales, para el antígeno correspondiente, a saber, receptor canabinoide humano y/o proteína S-100.

Para obtener la forma activada y potenciada de anticuerpos policlones para el receptor canabinoide humano, el antígeno deseado puede inyectarse como inmunógeno en un animal de laboratorio, de preferencia conejos. Para obtener anticuerpos policlones para el receptor canabinoide humano se puede usar la molécula entera del receptor canabinoide humano. La secuencia siguiente (SEQ. ID. No:1) del receptor canabinoide humano se considera específicamente el antígeno adecuado:

SEQ. ID. No: 1 receptor Humano CB1

Met Lys Ser Ile Leu Asp Gly Leu Ala Asp Thr Thr Phe Arg Thr

1

5

10

15

ES 2 542 042 A2

	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
5	Gln	Lys	Phe	Pro	Leu	Thr	Ser	Phe	Arg	Gly	Ser	Pro	Phe	Gln	Glu
	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
10	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
15	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
20	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
25	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
30	226				230					235					240

ES 2 542 042 A2

	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

ES 2 542 042 A2

Asp Thr Ser Ala Glu Ala Leu
466 470 472

SEQ ID NO: 2 receptor Humano CB2

5	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
10	31 35 40 45
	Leu Ser Ala Leu Glu Asn Val Ala Val Leu Tyr Leu Ile Leu Ser
	46 50 55 60
	Ser His Gln Leu Arg Arg Lys Pro Ser Tyr Leu Phe Ile Gly Ser
	61 65 70 75
15	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
	Phe Leu Leu Lys Ile Gly Ser Val Thr Met Thr Phe Thr Ala Ser
20	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
25	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
	166 170 175 180
	Glu Leu Phe Pro Leu Ile Pro Asn Asp Tyr Leu Leu Ser Trp Leu
30	181 185 190 195

	Leu	Phe	Ile	Ala	Phe	Leu	Phe	Ser	Gly	Ile	Ile	Tyr	Thr	Tyr	Gly
	196				200					205					210
	His	Val	Leu	Trp	Lys	Ala	His	Gln	His	Val	Ala	Ser	Leu	Ser	Gly
	211				215					220					225
5	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
10	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
	286				290					295					300
15	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
20	331				335					340					345
	Ile	Thr	Pro	Trp	Pro	Asp	Ser	Arg	Asp	Leu	Asp	Leu	Ser	Asp	Cys
	346				350					355					360

Para la inmunización de los conejos se utiliza preferiblemente un fragmento de polipéptido de receptor canabinoide humano como inmunógeno (antígeno). Con el objeto de obtener anticuerpos policlonales para lograr un fragmento de polipéptido del receptor canabinoide humano, se puede utilizar un péptido sintético de dicho receptor como inmunógeno (antígeno). Las secuencias adecuadas (receptor humano CB1) para dicho antígeno son las siguientes:

SEQ ID NO: 3.

ES 2 542 042 A2

Gln Arg Gly Thr Gln Lys
 310 315
 Ser Ile Ile Ile
 316 319
5
 SEQ ID NO: 4.
 Glu Lys Leu Gln Ser Val Cys Ser Asp Ile Phe Pro His
 258 260 265 270
 Ile Asp Glu Thr Tyr Leu
10 271 275 276
 SEQ ID NO: 5.
 Ile Gln Arg Gly Thr Gln Lys
 309 310 315
15 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 NO: 6.
 Lys
 300
 Ala His Ser His Ala Val Arg Met Ile Gln Arg Gly Thr Gln Lys
 301 305 310 315
25 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
30 SEQ ID NO: 7.

ES 2 542 042 A2

Met Ser Val Ser Thr
461 465

Asp Thr Ser Ala Glu Ala Leu
466 470 472

5

SEQ ID NO: 8.

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
10 91 95 100 105

Glu Cys Phe Met Val Leu Asn Pro Ser
106 110 114

SEQ ID NO: 9.

15

Gln
420

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

Ala Asn

20

436 437

SEQ ID NO: 10.

Gly Thr Gln Lys
312 315

25

Ser Ile Ile Ile His Thr Ser Glu Asp Gly
316 320 325

SEQ ID NO: 11.

Met Thr Ala Gly Asp Asn Pro Gln Leu Val Pro Ala Asp Gln

30

62 65 70 75

ES 2 542 042 A2

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 NO: 12.

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

SEQ ID NO: 13.

15 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
20 106 110 115 120
Val Leu Ser Leu Thr Leu
121 125 126

SEQ ID NO: 14.

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

SEQ ID NO: 15.

30 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 Lys Ser Leu
 76 80 85 86

5

SEQ ID NO: 16.

Ala Tyr Lys
 223 225

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
 256

15

El procedimiento ideal para preparar los anticuerpos policlonales de inicio para el receptor canabinoide humano puede describirse como sigue. De 7 a 9 días antes de tomar las muestras de sangre, se aplica a los conejos de 1 a 3 inyecciones intravenosas del antígeno deseado para aumentar el nivel de anticuerpos policlonales de la corriente sanguínea del conejo. Después de la inmunización se toman muestras de sangre para examinar el nivel de anticuerpos. Usualmente el nivel máximo de la reacción inmune del antígeno soluble se logra de 40 a 60 días después de la primera inyección del antígeno. Al finalizar el primer ciclo de inmunización los conejos tienen un período de rehabilitación de 30 días, después del cual se realiza nuevamente la inmunización con otras 1-3 inyecciones intravenosas.

20

25

Para obtener el antisuero que contiene los anticuerpos deseados, la sangre de los conejos inmunizados se extrae de ellos y se coloca en un tubo centrífugo de 50 ml. Los coágulos del producto formados en los lados del tubo se retiran con una espátula de madera y se coloca una varilla en el centro del tubo. La sangre se coloca después en un refrigerador durante una noche a una temperatura de aproximadamente -40°C. Al día siguiente se saca el coágulo sobre la espátula y el líquido restante se centrifuga durante 10 minutos a 13.000 rotaciones por minuto. El fluido sobrenadante es el antisuero deseado. El antisuero que se obtiene es usualmente amarillo. Se añade al antisuero 20% de NaN₃ (concentración de peso) para obtener la

30

concentración final de 0,02% y se guarda antes de usarlo, congelado, a una temperatura de -20°C o sin NaN₃ a la temperatura de -70°C. La secuencia de absorción de fase sólida es adecuada para separar los anticuerpos deseados para el receptor canabinoide del antisuero:

10 ml. de antisuero de conejo se diluye dos veces con 0,15 M de NaCl, después de lo cual se
5 añade 6,26 g. de Na₂SO₄ se mezcla e incuba durante 12-16 horas a 4°C. El sedimento se extrae mediante centrifugación, se diluye en 10 ml. de amortiguador de fosfato y se dializa contra el mismo amortiguador durante una noche a temperatura ambiente. Después de extraer el sedimento la solución se aplica a una columna de celulosa-DEAE equilibrada mediante el amortiguador de fosfato. La fracción del anticuerpo se determina midiendo la densidad óptica
10 del eluato a 280 nm.

Los anticuerpos brutos aislados se purifican usando el método de la cromatografía afín para lo cual se adjunta los anticuerpos obtenidos al receptor canabinoide situado en la matriz insoluble de los medios de la cromatografía, con la posterior elución con soluciones de sales acuosas concentradas.

15 La solución amortiguadora resultante se usa como solución inicial para el proceso de dilución homeopática usado para preparar la forma activada potenciada de los anticuerpos. La concentración preferida de la solución matriz inicial de los anticuerpos de conejo policlonales purificados con antígeno para el receptor canabinoide es 0,5 - 5,0 mg/ml, preferiblemente 2,0 - 3,0 mg/ml.

20 La proteína S100, expresada mediante neuronas y células gliales (astrocitos y oligodendrocitos), directamente o a través de interacciones con otras proteínas, ejecuta en el CNS cierto número de funciones dirigidas a mantener el funcionamiento normal del cerebro, afectando inclusive los procesos de aprendizaje y memoria, crecimiento y viabilidad de las neuronas, regulación de los procesos metabólicos en los tejidos neuronales y otros. Para
25 obtener anticuerpos policlonales para la proteína S-100 específica del cerebro, se utiliza dicha proteína S-100 cuyas propiedades físicas y químicas se describen en el artículo de M. V. Starostin, S. M. Sviridov, Neurospecific Protein S-100, Progress of Modern Biology, 1977, Vol. 5, P. 170-178; que se encuentra en el libro de M. B. Shtark, Brain-Specific Protein Antigens and Functions of Neuron, "Medicine", 1985; P. 12-14. Se destina proteína S-100 proveniente del
30 tejido cerebral del toro con ayuda de la técnica siguiente:

- el tejido cerebral del toro congelado en nitrógeno líquido se convierte en polvo usando un molino especial;
 - las proteínas se extraen en una relación 1:3 (peso/volumen) usando una solución amortiguadora de extracción con homogenización;
- 5 - el homogenado se calienta 10 min. a 60°C y se enfría después a 4°C en un baño de hielo;
- las proteínas termolábiles se retiran mediante centrifugación;
 - la fraccionación del sulfato de amonio se realiza en etapas, con el posterior retiro de las proteínas precipitadas;
- 10 - la fracción que contiene proteína S-100 se precipita usando 100% de sulfato de amonio saturado que se obtiene dejando caer el pH a 4,0; la fracción deseada se recoge por centrifugación;
- el precipitado se disuelve en un volumen mínimo de amortiguador que contiene EDTA y mercaptoetanol; el precipitado se dializa con agua deionizada y liofilizada;
- 15 - la fraccionación de las proteínas ácidas va seguida de cromatografía en medio de intercambio de iones, DEAE-celulosa DE-52 y después DEAE-sefadex A-50;
- las fracciones recogidas y dializadas, las cuales contienen proteína S-100, se dividen de acuerdo al peso molecular mediante filtración a través de un gel sobre sefadex G-100;
 - la proteína S-100 purificada se dializa y liofiliza.
- 20 El peso molecular de la proteína S-100 purificada específica del cerebro es 21000 D.
- Debido a la alta concentración de ácidos asparagínicos y glutamínicos, la proteína S-100 específica del cerebro es altamente ácida y ocupa una posición anódica extrema durante la electro-endosmosis en un sistema amortiguador discontinuo de gel de poliacrilamida, lo cual facilita su identificación.
- 25 Los anticuerpos policlonales para la proteína S-100 pueden obtenerse también con una metodología similar a la descrita para los anticuerpos del receptor canabinoide, usando un aditivo. La molécula entera de la proteína S-100 puede usarse como inmunógeno (antígeno) para inmunizar a los conejos:

ES 2 542 042 A2

SEQ ID NO: 17 - Bovino S100B

	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
5	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
	46				50					55					60
10	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													
15	91	92													

SEQ ID 18 - Humano S100B

	Met	Ser	Glu	Leu	Glu	Lys	Ala	Met	Val	Ala	Leu	Ile	Asp	Val	Phe
	1				5					10					15
20	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
25	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
30	His	Glu													

ES 2 542 042 A2

91 92

SEQ ID NO: 19 - Humano S100A1

	Met	Gly	Ser	Glu	Leu	Glu	Thr	Ala	Met	Glu	Thr	Leu	Ile	Asn	Val
5	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
10	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
15	76				80					85					90
	Trp	Glu	Asn	Ser											
	91				94										

SEQ ID NO 20 - Bovino S100A1

20	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
25	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
30	Val	Val	Leu	Val	Ala	Ala	Leu	Thr	Val	Ala	Cys	Asn	Asn	Phe	Phe

El valor antisérico obtenido es 1:500 - 1:1000, forma una sola banda desencadenante con un extracto de tejido nervioso, pero no reacciona con extractos de cuerpos heterológicos y forma un solo pico desencadenante, tanto con la proteína S-100 pura como con el extracto de tejido nervioso, lo que indica que el antisuero obtenido es monoespecífico.

Por ejemplo, para preparar una dilución centesimal 12 (denominada C12), una parte de la solución matriz inicial de los anticuerpos para el receptor canabinoide humano con una concentración de 3,0 mg/ml se diluye en 99 partes de solvente neutro acuoso o acuoso-alcohólico (preferiblemente 15% de alcohol etílico) y se agita después verticalmente numerosas

veces (10 y más) par crear la 1ª dilución centesimal (denominada C1). La 2ª dilución centesimal (C2) se prepara en base a la 1ª dilución centesimal C1. Este procedimiento se repite 11 veces para preparar la 12ª dilución centesimal C12. Así pues, la 12ª dilución centesimal C12 representa una solución obtenida mediante 12 diluciones en serie de una parte de la solución matriz inicial de anticuerpos para el receptor canabinoide humano con una concentración de 3,0 mg/ml en 99 partes de un solvente neutro en recipientes diferentes, lo cual es equivalente a la dilución homeopática centesimal C12. Se realizan procedimientos similares con el factor de dilución pertinente para obtener diluciones de C30 y C200. Pueden hacerse pruebas de las diluciones intermedias en el modelo biológico deseado para verificar la actividad. Las formulaciones activadas y potenciadas preferidas para los anticuerpos de que consta la invención son una mezcla de diluciones C12, C30 y C200 para cada forma activada y potenciada. Cuando se usa una mezcla de diluciones homeopáticas diversas (principalmente centesimales) de la sustancia activa como el componente líquido biológicamente activo, cada componente de la composición (por ejemplo C12, C30, C200) se prepara por separado según procedimiento antes descrito hasta obtener la dilución anterior a la última (por ejemplo, hasta C11, C29 y C199 respectivamente) y después una parte de cada componente se añade en un recipiente según la composición de la mezcla y se combina con la cantidad necesaria de solvente (por ejemplo, con 97 partes para la dilución centesimal).

Se puede usar la sustancia activa como mezcla de varias diluciones homeopáticas, como por ejemplo decimal y/o centesimal (D20, C30, C100 ó C12, C30, C50, etc.), determinándose experimentalmente la eficiencia de la misma mediante pruebas de la dilución en un modelo biológico adecuado, como por ejemplo los modelos descritos en los ejemplos aquí incluidos.

En el curso de la disminución de la potenciación y concentración, la agitación vertical puede sustituirse por la exposición externa a ultrasonidos, campos electromagnéticos o cualquier procedimiento similar externo de impacto aceptado por la ciencia homeopática.

La composición farmacéutica de la invención puede estar, preferiblemente, en una formulación líquida o en una formulación posológica unitaria sólida. Cuando la composición farmacéutica consta de dos anticuerpos, la formulación líquida de la misma consta de una mezcla de dos anticuerpos, preferiblemente en una relación 1:1 de la forma activada y potenciada de los anticuerpos para el receptor canabinoide humano y la forma activada y potenciada de los anticuerpos para la proteína S-100. El portador líquido de preferencia es agua o una mezcla de agua y alcohol etílico.

La formulación posológica unitaria sólida de la composición farmacéutica de la invención puede prepararse impregnando un portador sólido, farmacéuticamente aceptable, con la mezcla de soluciones acuosas o acuosas-alcohólicas de la forma activada y potenciada de los componentes activos. Cuando la composición farmacéutica consta de dos anticuerpos, los componentes activos se mezclan, principalmente en una relación 1:1, y se usan en la formulación posológica líquida. Alternativamente el portador puede impregnarse consecutivamente con cada una de las diluciones necesarias. Ambos órdenes de impregnación son aceptables.

La composición farmacéutica de la formulación posológica unitaria sólida se prepara, preferiblemente, con gránulos de un portador farmacéuticamente aceptable que se ha saturado previamente con las diluciones acuosas o acuoso-alcohólicas de la forma activada y potenciada de los anticuerpos. La formulación posológica sólida puede estar en cualquier formulación conocida de la ciencia farmacéutica, incluyendo tabletas, cápsulas, comprimidos para chupar y otros. Como ingredientes farmacéuticos inactivos se puede usar glucosa, sucrosa, maltosa, almidón, isomaltosa, isomalta y otros mono- oligo- y poli-sacáridos utilizados en la fabricación de productos farmacéuticos, así como mezclas tecnológicas de los ingredientes farmacéuticos inactivos anteriores con otros excipientes farmacéuticamente aceptables, como isomalta, crospovidona, ciclamato sódico, sacarina sódica, ácido cítrico anhidro, etc.), incluyendo lubricantes, desintegrantes, aglutinantes y colorantes. Los portadores preferidos son lactosa e isomalta. La formulación posológica farmacéutica puede incluir además excipientes farmacéuticos normales como celulosa microcristalina y estearato de magnesio.

A continuación se ofrece un ejemplo de preparación de la formulación posológica unitaria sólida. Para preparar la formulación oral sólida se impregnan 100-300 μm . de gránulos de lactosa are con soluciones acuosas o acuoso-alcohólicas de la forma activada y potenciada de los anticuerpos para el receptor canabinoide humano y/o la forma activada y potenciada de los anticuerpos para S-100 en una relación de 1 Kg. de solución de anticuerpos a 5 ó 10 Kg. de lactosa (1:5 a 1:10). Para realizar la impregnación los gránulos de lactosa se exponen a saturación por irrigación en un lecho fluidizado en ebullición en una planta de lecho en ebullición (por ejemplo, "Hüttlin Pilotlab" de Hüttlin GmbH) con secado posterior mediante un flujo de aire calentado a una temperatura por debajo de 40°C. La cantidad estimada de gránulos secos (de 10 a 34 partes en peso) saturada con la forma activada y potenciada de los anticuerpos se coloca en la mezcladora y se mezcla con 25 - 45 partes en peso de lactosa pura "no saturada"

(usada para reducir el costo y simplificar y acelerar el proceso tecnológico sin disminuir la eficacia del tratamiento), junto con 0,1 - 1 partes en peso de estearato de magnesio y 3 - 10 partes en peso de celulosa microcristalina. La masa de la tableta obtenida se mezcla uniformemente y se tabletea con presión seca directa (por ejemplo en una prensa de tabletas
5 Korsch – XL 400) para formar píldoras redondas de 150 a 500 mg., preferiblemente de 300 mg. Después del tableteo se obtienen píldoras de 300 mg. que se saturan con una solución acuosa-alcohólica (3,0-6,0 mg/píldora) de la combinación de la forma activada y potenciada de los anticuerpos. Cada componente de la combinación usada para impregnar el portador está en una formulación de mezcla de diluciones homeopáticas centesimales, preferiblemente C12,
10 C30 y C200.

Aunque la invención no está limitada a alguna teoría específica, se cree que la forma activada y potenciada de los anticuerpos aquí descrita no contiene la formulación molecular del anticuerpo en cantidad suficiente para tener la actividad biológica atribuida a dicha formulación molecular. La actividad biológica de la composición farmacéutica de la invención y la composición de la
15 combinación farmacéutica de la invención se demuestran ampliamente en los ejemplos adjuntos.

La composición farmacéutica que consta de la forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano puede utilizarse para ser administrada a pacientes que sufren de obesidad y trastornos metabólicos relacionados.

20 Tal como se muestra en los ejemplos adjuntos, la administración de la forma activada y potenciada del anticuerpo de la invención presente da como resultado una reducción de la masa corporal, una reducción de la obesidad central y facilita una reducción del consumo de alimentos.

En una modalidad, la invención presente proporciona un método para tratar la obesidad y
25 trastornos metabólicos relacionados mediante la administración de composiciones farmacéuticas que constan de una forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano, preferiblemente el receptor canabinoide 1.

En otra modalidad, la invención presente proporciona un método para facilitar la reducción del consumo de alimentos en sujetos que se espera se beneficien de dicha reducción, mediante la
30 administración de una composición farmacéutica que consta de una forma activada y

potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano, preferiblemente el receptor canabinoide 1.

En una modalidad se proporcionan los métodos para alternar los parámetros antropométricos, por ejemplo la circunferencia de la cintura, relación cintura-cadera y relación cintura-altura. En otra modalidad se proporcionan métodos para reducir la circunferencia de la cintura de un sujeto, consistiendo el método en administrar, a un sujeto que lo necesite, composiciones farmacéuticas que contienen una forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano en una cantidad eficaz para reducir la circunferencia de la cintura del sujeto. En otra modalidad el receptor canabinoide humano es el receptor canabinoide humano

1. En otra modalidad la circunferencia de la cintura del sujeto se reduce por lo menos cerca de 1%. En otras modalidades la circunferencia de la cintura del sujeto se reduce en por lo menos cerca de 1,5%, 2%, 2,5%, 3% ó 3,5%, comparado con el sujeto antes de administrar las composiciones farmacéuticas que contienen la forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano. En otra modalidad la circunferencia de la cintura del sujeto se reduce en por lo menos cerca de 1 cm. En otras modalidades la circunferencia de la cintura del sujeto se reduce en por lo menos cerca de 2, 3 ó 4 cm. comparado con el sujeto antes de administrar las composiciones farmacéuticas que contienen la forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano.

En otra modalidad se proporcionan los métodos para reducir la masa corporal de un sujeto, consistiendo el método en administrar, a un sujeto que lo necesita, composiciones farmacéuticas que constan de una forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano en una cantidad eficaz para reducir la masa corporal del sujeto. En otra modalidad el receptor canabinoide humano es el receptor canabinoide humano 1. En otra modalidad la masa corporal del sujeto se reduce en por lo menos cerca de 15%. En otras modalidades la masa corporal del sujeto se reduce en por lo menos cerca de 5%, 10% ó 15% comparado con el sujeto antes de administrarle las composiciones farmacéuticas que contienen la forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano.

En otra modalidad se proporcionan métodos para reducir el crecimiento de masa corporal de un sujeto, consistiendo el método en administrar, a un sujeto que lo necesita, composiciones farmacéuticas que contienen la forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano en una cantidad eficaz para reducir la masa corporal del sujeto. En otra modalidad el receptor canabinoide humano es el receptor canabinoide humano 1. En otra

modalidad el crecimiento de la masa corporal del sujeto se reduce en por lo menos cerca de 60%. En otras modalidades el crecimiento de la masa corporal del sujeto se reduce en por lo menos cerca de 10, 25, 30, 50 ó 60% en una cantidad eficaz para reducir la masa corporal del sujeto en una cantidad eficaz para reducir la masa corporal del sujeto comparado con el sujeto antes de administrarle las composiciones farmacéuticas que contienen la forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano.

La composición farmacéutica que consta de la forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano y la forma activada y potenciada de un anticuerpo para la proteína S-100 puede administrarse a pacientes que sufren de dependencia de sustancias psicoactivas, preferiblemente dependencia de la nicotina.

El solicitante descubrió sorpresivamente que la combinación de una forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano y una forma activada y potenciada de un anticuerpo para la proteína S-100 es útil para tratar la drogadicción.

En otra modalidad la combinación de la forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano y la forma activada y potenciada de un anticuerpo para la proteína S-100 es útil para tratar el tabaquismo.

La administración de una composición farmacéutica que consta de una forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano 1 y una forma activada y potenciada de un anticuerpo para la proteína S-100 para tratar a pacientes con tabaquismo, mejora los parámetros de calidad de vida evaluados con criterios tales como depresión y ansiedad.

Se ha demostrado experimentalmente que la administración de una composición farmacéutica que consta de una forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano 1 y de una forma activada y potenciada de un anticuerpo para la proteína S-100 en el tratamiento de pacientes con tabaquismo, mejora su capacidad para tolerar la abstinencia de fumar haciéndolo más fácil y con menos dolor, según mediciones de los análisis de datos de la prueba MPSS.

Se ha demostrado experimentalmente que la administración de la combinación a pacientes con tabaquismo no grave de > 4 según medido con la Prueba de Fagerström para dependencia de la nicotina, lleva a una reducción del hábito de fumar de por lo menos 23% en 4 semanas; por lo

menos 36% en 8 semanas y por lo menos 41% en 12 semanas. Se ha demostrado también experimentalmente que la administración de la combinación a pacientes con tabaquismo no grave llega a una reducción estadísticamente significativa del número de puntos promedio inicial de la Prueba de Fagerström de por lo menos $1,34 \pm 0,14$.

- 5 Se ha demostrado experimentalmente que la administración de la combinación a pacientes con tabaquismo grave de ≥ 7 según medido con la Prueba de Fagerström para dependencia de la nicotina, lleva a una reducción del hábito de fumar de por lo menos 11% en 4 semanas; por lo menos 22% en 8 semanas y por lo menos 30% en 12 semanas. Se ha demostrado experimentalmente que la administración de la combinación a pacientes con tabaquismo no
- 10 grave lleva a una reducción estadísticamente significativa del número de puntos promedio inicial en la Prueba de Fagerström de por lo menos $4,42 \pm 0,30$.

En una de las modalidades se contempla también la administración por separado de las dos formulaciones posológicas unitarias preparadas independientemente, cada una de ellas consistiendo de una de las formulaciones activadas y potenciadas de anticuerpos de la

15 combinación.

La invención se sigue demostrando mediante referencia a los ejemplos adjuntos no limitativos.

Ejemplos

Ejemplo 1.

El efecto de dosis ultra bajas de anticuerpos policlonales de conejo para el receptor canabinoide humano tipo 1 (ULD Anti-CB1), purificado en antígeno, obtenido por hiper-dilución de la solución matriz inicial 10012, 10030, 100200 veces (mezcla de diluciones homeopáticas centesimales C12, C30 y C200) en funcionamiento del receptor canabinoide, tipo 1, se probó in vitro en 2 regímenes: en el régimen agonista y en el régimen antagonista.

20

Régimen agonista:

25 Antes de su introducción en los pocillos de la placa (placa de 96 pocillos, volumen de los pocillos 250 μ l), las células se suspendieron en un amortiguador HBSS (Invitrogen), que contenía 20 mM HEPES (pH=7,4). Las células se incubaron previamente durante 10 minutos a temperatura ambiente además de añadirles 20 μ l de ULD preparación anti-CB1. Después de la incubación previa se añadió el activador NKH477 adenilato ciclasa. Las células se incubaron

30 durante 10 minutos a 37°C y se lisaron. Se introdujo en los pocillos un aceptante fluorescente

(cAMF, marcado D2) y un donante fluorescente (anticuerpos cAMF, marcados con criptato de europio).

Como control basal, la suspensión de células se incubó previamente en presencia del amortiguador HBSS (20 µl) en lugar de ULD anti-CB1. Como control estimulado, la suspensión de células se incubó previamente en presencia del agonista de referencia CP 55940 (20 µl) en lugar de ULD anti-CB1.

La actividad funcional (concentración cAMF) se evaluó con el método de fluorescencia homogénea con resolución de tiempo (HTRF). La intensidad de la fluorescencia en el control basal se tomó como antecedente y su valor se dedujo de las intensidades de fluorescencia en los datos experimentales (ULD anti-CB1) y el control (CP 55940):

La respuesta específica medida de la célula a la introducción de ULD anti-CB1 se calculó de acuerdo a la fórmula: intensidad de la fluorescencia en el experimento (ULD anti-CB1) – intensidad de la fluorescencia en el control basal.

La respuesta específica medida de la célula a la introducción del agonista de referencia (CP 55940) se calculó de acuerdo a la fórmula: intensidad de la fluorescencia en el control (CP 55940) – intensidad de la fluorescencia en el control basal.

Los resultados se expresaron en porcentajes de la respuesta específica de la célula a la introducción del agonista de referencia en el control estimulado:

Porcentaje de respuesta del agonista de referencia = (respuesta específica medida / respuesta específica en control a la introducción del agonista de referencia) x 100%).

Régimen antagonista:

Antes de su introducción en los pocillos de la placa (placa de 96 pocillos, volumen de los pocillos 250 µl), las células se suspendieron en un amortiguador HBSS (Invitrogen), que contenía 20 mM HEPES (pH=7.4). Las células se incubaron previamente durante 5 minutos a temperatura ambiente junto con 20 µl de ULD anti-CB1. Después de añadir en los pocillos el agonista de referencia CP 55940, las células se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se añadió a los pocillos el activador adenilato ciclasa NKH477. Las células se incubaron durante 10 minutos a 37°C y se lisaron. Se introdujo en los pocillos el aceptador fluorescente (cAMF, marcado D2) y el donante fluorescente (anticuerpos cAMF, marcados con criptato de europio).

Como control basal, la suspensión de células se incubó previamente en presencia del antagonista de referencia AM 281 (20 µl) en lugar de ULD anti-CB1. El agonista de referencia CP 55940 no se añadió a los pocillos con el control basal. Como control estimulado, la suspensión de células se incubó previamente en presencia del amortiguador HBSS, el cual
5 contenía 20 mM HEPES (pH=7,4) y el agonista de referencia CP 55940 (20 µl).

La actividad funcional (concentración cAMF) se evaluó con el método de fluorescencia homogénea con resolución de tiempo (HTRF). La intensidad de la fluorescencia en el control basal se tomó como antecedente y su valor se dedujo de las intensidades de fluorescencia en el experimento (ULD anti-Cb1) y el control (CP 55940):

10 La respuesta específica medida de la célula a la introducción de ULD anti-CB1 se calculó de acuerdo a la fórmula: intensidad de la fluorescencia en el experimento (ULD anti-CB1) – intensidad de la fluorescencia en el control basal.

La respuesta específica medida de la célula a la introducción del agonista de referencia (CP 55940) se calculó de acuerdo a la fórmula: intensidad de la fluorescencia en el control (CP
15 55940) – intensidad de la fluorescencia en el control basal.

Los resultados se expresaron en porcentajes de la inhibición de la respuesta específica de la célula a la introducción del agonista de referencia en el control:

Porcentaje de inhibición de respuesta del agonista de referencia = 100% – (respuesta específica medida / respuesta específica en control a la introducción del agonista de referencia)
20 x 100%).

Como resultado de la investigación se demostró (ver la Tabla 1) que ULD anti-CB1 cambia la actividad funcional del receptor canabinoide tipo 1, según medido por la concentración intracelular de cAMF.

La sustancia a prueba (dosis ultra bajas de anticuerpos para el receptor canabinoide tipo 1
25 (mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30 y C200) puso de manifiesto la actividad agonista del receptor canabinoide tipo 1. La magnitud del efecto agonista es 21% con referencia al efecto del agonista estándar CP 55940 (el efecto agonista estándar se toma como 100%).

Tabla 1

Receptor	Sustancia a prueba	Contenido de ULD anti-CB1 en el pocillo (% del volumen) (el volumen total en el pocillo fue 200 microlitros)	Régimen agonista		Régimen antagonista		Explicación
			% de respuesta ULD anti-CB1	Agonista estándar	% de inhibición del antagonista	Antagonista estándar	
Receptor CB1	ULD anti-CB1	10%	21	CP 55940	0	AM 281	ULD anti-CB1 posee efecto agonista cuya magnitud es 21% con referencia al efecto del agonista estándar

Ejemplo 2.

La sustancia a prueba estaba en forma de una solución acuosa de dosis ultra bajas de anticuerpos policlonales de conejo para el receptor canabinoide humano tipo 1 (ULD anti-CB1), purificado en antígeno, obtenido mediante hiper-dilución de la solución matriz inicial 10012, 10030, 100200 veces (mezcla de las diluciones homeopáticas centesimales C12, C30 y C200).

Se utilizaron en el estudio 40 ratones machos de la línea C57B1 (peso al comienzo del estudio: 13,5-15,5 g). 10 ratones recibieron la alimentación regular normal (dieta normal); 30 ratones recibieron la alimentación normal con aditivos altos en calorías (dieta calórica alta) y, simultáneamente, o bien agua destilada (control, 0,4 ml/Kg.) o Subutramine (capsulas de Meridia 10 mg., Abbott GmbH, Alemania) (10 mg/Kg.) o ULD anti-CB1 (0,4 ml/Kg). Todas las preparaciones se administraron intragástricamente una vez al día en el transcurso de 5 meses.

El consumo del alimento por los ratones se midió antes de introducir las sustancias de la prueba. El consumo de alimentos por los ratones se midió también todas las semanas siguientes. El consumo de alimentos se evaluó como la cantidad promedio de alimentos (en gramos) consumida por un ratón después de 1 y 2 meses del estudio y como la cantidad promedio de alimentación por 10 g. de masa corporal del ratón.

Durante todo el período de observación los ratones con dieta calórica baja consumieron, en promedio, 15% menos de alimentos que los ratones con dieta calórica alta (Tabla 2). Tanto la Subutramine como ULD anti-CB1 disminuyeron el consumo de alimentos. El efecto de la Subutramine se manifestó algo más alto: el consumo de alimentos disminuyó en una semana en 19,3% ($p < 0,05$), mientras que con ULD anti-CB1 disminuyó en 9,3% con referencia al control ($p > 0,05$). En la Tabla 2 se muestran los resultados del estudio, en especial el efecto de ULD anti-CB1 y Subutramine sobre el consumo de alimentos por ratones C57B1 (valores promedio durante 5 meses de observación), $M \pm m$.

Tabla 2

Preparación	Consumo de alimentos (g/ratón) por día	Consumo de alimentos (g. por 10 g. de masa corporal) por día
Dieta normal	2,95 $\pm$ 1,42	1,35 $\pm$ 0,05
Dieta calórica alta + agua destilada	3,4 $\pm$ 1,64#	1,54 $\pm$ 0,05#
Dieta calórica alta + Subutramine	2,75 $\pm$ 1,36**	1,28 $\pm$ 0,05**
Dieta calórica alta + ULD anti-CB1	3,10 $\pm$ 2,02	1,44 $\pm$ 0,08

** - las diferencias con respecto al control son estadísticamente significativas con $p < 0,01$;

- las diferencias con respecto a la dieta normal son estadísticamente significativas con $p < 0,05$.

En la semana veinte del experimento, los ratones de la dieta alta en grasas que habían recibido ULD anti-CB1 consumieron más alimentos, en comparación con la primera semana del experimento, lo cual se muestra en la Ilustración 1. En la Ilustración 1 se muestra el efecto de ULD anti-CB1 y Subutramine sobre el crecimiento de la masa corporal de ratones C57B1 y el consumo de alimentos por 10 g. de peso después de la semana 20, la última del experimento.

Se observó una reducción del crecimiento de masa corporal del 51,2% en los ratones que recibieron ULD anti-CB1, comparado con el control. En la última semana del experimento, la 20, Subutramine redujo la masa corporal en 51,5%, en comparación con el grupo de control.

Ejemplo 3

La sustancia de la prueba estaba en forma de solución acuosa de dosis ultra bajas of anticuerpos policlonales de conejo para el receptor canabinoide humano tipo 1 (ULD anti-CB1), purificado en antígeno, obtenida mediante hiper-dilución de la solución matriz inicial 10012, 10030, 100200 veces (mezcla de diluciones homeopáticas centesimales C12, C30 y C200).

Se utilizaron en el estudio 33 ratones machos de la línea C57B1 (peso al comienzo del estudio: 13,09±0,738 g). Los ratones recibieron la dieta modificada con alto contenido de grasa (45%) y simultáneamente, o bien agua destilada (control, 0,2 ml/Kg.) o Subutramine (10 mg/Kg) o ULD anti-CB1 (0,2 ml/Kg). Todas las preparaciones ULD anti-CB1 se administraron intragástricamente una vez al día en el transcurso de 2 meses. El peso de los ratones se midió en balanzas electrónicas Philips Cucina HR 239016 (Hungría) hasta comenzar a introducir las preparaciones (inicialmente) y también cada semana después de comenzar a introducirlas. El crecimiento de la masa corporal de los ratones se evaluó como un porcentaje del peso inicial.

Comenzando a las 6 semanas desde la introducción, ULD anti-CB1 redujo el crecimiento de masa corporal de los ratones que se mantuvieron en la dieta alta en grasas. En la Tabla 3 se muestra la masa promedio semanas (gramos) de los ratones C57B16 que recibieron la dieta alta en grasas y ULD anti-CB1 (0,2 ml/ratón) o Subutramine (10 mg/Kg.) ($M \pm m$). En la Tabla 3 se muestra el crecimiento en masa corporal de los ratones.

Tabla 3

Grupo	Masa corporal (gramos), semanas del estudio								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Agua destilada	12,18 ±0,501	15,27 ±0,982	15,27 ±0,488	16,00 ±0,972	18,18 ±0,569	17,27 ±0,557	20,18 ±0,501	20,55 ±0,608	21,45 ±0,857
Δ a inicial		25,4	25,4	31,3	49,3	41,8	65,7	68,7	76,1
Subutramine	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
Δ a inicial		-2,6	21,1	43,4	46,1	51,3	61,8	71,1	65,8
ULD anti-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	22,00 ±0,467
Δ a inicial		21,9	31,4	47,9	52,1	52,1	49,43	63,0	65,8

Nota: * - $p < 0,05$ comparado con el grupo de control;

** - $p < 0,001$ comparado con el grupo de control.

- 5 Tal como se muestra, ULD anti-CB1 reduce el crecimiento en masa corporal de los ratones en la dieta alta en grasas, disminuye el consumo de alimentos y no es inferior en eficacia al conocido compuesto Subutramine, ampliamente utilizado, para reducir la masa corporal.

Ejemplo 4.

- 10 Tabletas de 300 mg. saturadas con una solución de agua-alcohol (6 mg/tableta) de la forma activada y potenciada de anticuerpos policlonales de conejo para el receptor canabinoide humano tipo 1, purificado con antígeno, en dosis ultra bajas, obtenidas mediante Kuiper-dilución de la solución matriz inicial 10012, 10030, 100200 veces (mezcla de diluciones homeopáticas centesimales C12, C30 y C200 (ULD anti-CB1).

Participaron en el estudio 80 sujetos (20 hombres y 60 mujeres) entre 20 y 69 años (la edad promedio fue $40,2 \pm 1,26$ años), 68,7% de los cuales sufrían de masa corporal excesiva u obesidad (grado I-III). A los sujetos se les dio 1 tableta, 2 veces al día. En la Tabla 4 se muestran los indicadores demográficos y antropométricos de los pacientes incluidos en el estudio. Se incluyeron en el análisis de seguridad los datos de todos los sujetos que participaron en el estudio ($n=80$). Se observó buena tolerancia a la preparación durante todo el período de observación de los sujetos. No se presentaron efectos secundarios. Todos los sujetos de los grupos bajo estudio finalizaron el tratamiento dentro de los límites de tiempo establecidos por el protocolo del estudio; ningún paciente se retiró antes de tiempo. Durante la evaluación del efecto de ULD anti-CB1 sobre el cambio de la masa corporal de los sujetos se descubrió que el uso de la preparación produjo una reducción de la masa corporal en 56 (70%) pacientes. En 24 (30%) pacientes el peso permaneció sin cambio o aumentó de manera insignificante. Debe mencionarse, sin embargo, que entre tales pacientes, 14 (17,5%) tenían inicialmente masa corporal normal ($BMI < 25 \text{ Kg/m}^2$).

Cuadro 4

Parámetro		Valor	
Edad (años)	M±m	40,2 ± 1,26	
Altura (centímetros)	M±m	167,1 ± 0,89	
Peso (kg.)	M±m	80,3 ± 1,85	
Sexo	hombres	20 personas (25 %)	
	mujeres	60 personas (75 %)	
BMI, kg/m2	M ± m	28,7 ± 0.6	
BMI, kg/m2	Menos de 25	25 personas (31,3 %)	Masa corporal normal
	25 – 29,99	28 personas (35 %)	Masa corporal en exceso (pre-obesidad)
	30 – 34,99	20 personas (25 %)	Obesidad grado I
	35 – 39,99	5 personas (6.2 %)	Obesidad grado II
	40 ó más	2 personas (2.5 %)	Obesidad grado III

Se observó una reducción estadísticamente significativa de la masa corporal ($p < 0,001$) en los pacientes que respondieron al tratamiento. Después de sólo 15 días de administrar ULD anti-CB1, la reducción de la masa corporal fue 1,1 Kg. (1,3%) y en 1 mes alcanzó 1,9 Kg (2,2%) del valor original (Ilustración 2).

Respecto a los pacientes que respondieron al tratamiento se observó una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,001$) de la circunferencia de la cintura y los muslos sólo una (1) semana después de comenzar la administración de ULD anti-CB1, que al final del tratamiento alcanzó 2,3% y 2,7%, respectivamente. En la Tabla 5 se presenta la dinámica del cambio de la circunferencia de la cintura y los muslos.

Tabla 5

	Día 1 (inicial)	Día 7	Día 14	Día 15	Día 16	Día 22	Día 29	Día 30
Circunferencia de la cintura, 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 con Inicial. %		-1,1%	-2,7%	-2,2%	-1,2%	-1,9%	-2,1%	-2,3%
Circunferencia de los muslos, 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 con Inicial. %		0,0%	-1,4%	-0,8%	-1,9%	-2,3%	-2,4%	-2,7%

** - $p < 0,01$ con referencia al valor inicial; *** - $p < 0,001$ con referencia al valor inicial.

En la evaluación de la sensación de hambre de los pacientes con la escala analógica visual (VAS, visual analog scale), la mayor intensidad de la sensación de hambre se observó en horas de la noche. Al final de 1 mes después de comenzar la administración de ULD anti-CB1, el nivel de hambre en horas de la noche se redujo significativamente (con $p < 0,001$) de $49,4 \pm 3,75$ a $42,0 \pm 4,32$ puntos. Se observó también una tendencia en horas de la mañana y durante el día a reducirse la sensación de hambre (de $20,5 \pm 3,23$ a $13,6 \pm 1,78$ puntos en horas de la mañana, de $44,7 \pm 3,45$ a $27,3 \pm 3,72$ puntos en horas del día). Aunque los datos relativos al hambre en la mañana no alcanzaron valores estadísticamente significativos al final el

tratamiento, cuyo observación pudiera estar relacionada con valores iniciales moderados, no puede ignorarse la dinámica.

Así pues, el estudio clínico de ULD anti-CB1 que se realizó confirmó la alta tolerancia de la preparación sometida a prueba; no hubo efectos secundarios al tomar la preparación de la prueba.

Ejemplo 5. Prueba de Fagerström para dependencia de la nicotina

Este ejemplo es la prueba misma. Los datos pertinentes se proporcionan por separado más abajo. La Prueba de Fagerström para dependencia de la nicotina es una prueba para evaluar la intensidad de la adicción a la nicotina. Ver 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, aquí incorporado mediante referencia. En los estudios descritos a continuación los pacientes respondieron todas las preguntas. La puntuación total arroja el grado de dependencia de la nicotina. El grado de dependencia de la nicotina se evalúa mediante la suma de las puntuaciones como sigue: menos de 4 – dependencia leve; 4–6 – grado promedio de dependencia; y 7–10 –dependencia fuerte.

Tabla 6

1. ¿Qué tan pronto después de despertarse fuma su primer cigarrillo?	
Más de 60 minutos	0
31-60 minutos	1
6-30 minutos	2
Menos de 5 minutos	3
2. ¿Es difícil para usted no fumar en lugar donde está prohibido como por ejemplo en reuniones, un avión, en el cine, etc.?	
No	0
Sí	1
3. ¿De qué cigarrillo le resulta más difícil prescindir?	
El primero en la mañana	1
Cualquier otro	0
4. ¿Cuántos cigarrillos fuma por día?	
10 ó menos	0

11–20	1
21–30	2
31 ó más	3
5. ¿Fuma más en las primeras horas de la mañana que en cualquier otro momento del día?	
No	0
Sí	1
6. ¿Fuma incluso si está enfermo y tiene que quedarse en cama la mayor parte del día?	
No	0
Sí	1

Ejemplo 6. Prueba de la escala del estado de ánimo y síntomas físicos (MPSS).

- Este ejemplo es la prueba misma. Los datos importantes se suministran por separado más abajo. En los estudios descritos a continuación los pacientes que han dejado de fumar respondieron 12 preguntas (la puntuación se evaluó de 1 a 5 puntos para cada pregunta), evaluando los sentimientos durante las últimas 24 horas (preguntas 1-7), deseos de fumar (preguntas 8-9) y expresión de síntomas físicos (preguntas 10-12). Los pacientes colocaron un círculo sólo en un número para cada pregunta. El resumen de los resultados puede dividirse en tres dominios (M – preguntas 1-7, C – preguntas 8-9 y P – preguntas 10-12) o mediante la puntuación global, la cual puede variar de mínimo (12 puntos) a máximo (60 puntos), reflejando el nivel de los síntomas de abstinencia de nicotina.

Tabla 7

Se ruega indicar para cada pregunta cómo se han sentido en las últimas 24 horas (Colocar un círculo sólo en un número de cada pregunta)

	No estuve	En un ligero grado	Bastante fuerte	Muy fuerte	Extremadam. fuerte
1. Deprimido	1	2	3	4	5
2. Ansioso	1	2	3	4	5
3. Irritado	1	2	3	4	5
4. Preocupado	1	2	3	4	5
5. Sensación de hambre	1	2	3	4	5
6. Atención deficiente	1	2	3	4	5
7. Trastorno del sueño	1	2	3	4	5

8. ¿Durante cuánto tiempo le apeteció fumar en las últimas 24 horas? (Coloque un círculo sólo en un número)

Ni una vez	No mucho tiempo	La menor parte del día	La mayor parte del día	Casi siempre	Constantemente
0	1	2	3	4	5

9. ¿Qué tan fuerte fue el deseo de fumar? (Coloque un círculo sólo en un número)

Ninguno	Ligero	Moderado	Fuerte	Muy fuerte	Extremadam. fuerte
0	1	2	3	4	5

5

¿Hubo alguna manifestación en las últimas 24 horas? (Coloque un círculo sólo en un número)

	No	Ligera	Moderada	Fuerte	Muy fuerte
10. Dolores en la boca	1	2	3	4	5
11. Estreñimiento	1	2	3	4	5
12. Tos/dolor de garganta	1	2	3	4	5

West, R., Hajek, P. Escala de evaluación del estado de ánimo y los síntomas físicos (MPSS) para evaluar la abstinencia del cigarrillo. *Psychopharmacology*, 2004; Volume 177, Numbers 1-2, 195-199, aquí incorporado mediante referencia.

10

Ejemplo 7. Escala de ansiedad y depresión hospitalaria (HADS).

Este ejemplo es la prueba misma. Los datos pertinente se proporcionan por separado a continuación. La Escala de ansiedad y depresión hospitalaria (HADS) es una escala subjetiva y para detectar signos de ansiedad y depresión en pacientes internos y externos hospitalarios.

15 Ver Zigmond, A. S., Snaith, R.P. The Hospital Anxiety and Depression scale // *Acta Psychiatr. Scand.* - 1983. - Vol. 67. - P. 361-370, aquí incorporado mediante referencia.

Método de aplicación: El formulario de la escala se da a los pacientes para que lo llenen y va acompañado de las instrucciones siguientes:

“Los científicos creen que las emociones juegan un papel importante en el comienzo de la mayoría de las enfermedades. Si su doctor sabe más acerca de sus experiencias, puede ayudarle mejor. Este cuestionario ha sido diseñado par ayudar a su doctor a entender cómo se siente usted. No preste atención a los números y letras en la parte izquierda del cuestionario.

- 5 Lea cuidadosamente cada uno de los enunciados y coloque una “X” en el espacio vacío a la izquierda, junto a la respuesta que corresponde mejor a cómo se sintió la semana pasada. No piense mucho sobre cada enunciado. Su primera reacción será siempre la mejor”.

La escala costa de 14 enunciados divididos en 2 subescalas: “ansiedad” (preguntas con números impares – 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13) i “depresión” (preguntas con números pares – 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14). Cada enunciado tiene 4 repuestas posibles que reflejan la magnitud del sentimiento o emoción y caracterizan de manera incremental la gravedad del síntoma, de 0 (ausencia) a 3 (máximo).

Al interpretar los resultados se toma en cuenta el indicador global para cada subescala dividido en 3 rangos de valores: 0–7 que indica “normal” (ausencia de síntomas de ansiedad y 15 depresión expresados de manera confiable); 8–10 que indica “ansiedad/depresión subclínica”; y 11 y por encima que indica “ansiedad/depresión clínica”.

Tabla 8

1	Experimenté tensión, no soy yo mismo --- siempre --- con frecuencia --- cada cierto tiempo, algunas veces --- no experimenté nada en absoluto	3 2 1 0
2	Lo que me daba antes una gran satisfacción sigue dándome el mismo sentimiento --- definitivamente --- probablemente --- sólo en un pequeño grado --- nada en absoluto	0 1 2 3
3	Siento miedo, como si algo malo está a punto de suceder --- definitivamente y el miedo es muy fuerte --- sí, es así, pero el miedo no es muy fuerte --- algunas veces, pero no me preocupa --- no lo experimento en absoluto	3 2 1 0

4	Puedo reír y ver algo divertido en un suceso u otro --- definitivamente --- probablemente --- sólo en un pequeño grado --- no puedo en absoluto	0 1 2 3
5	Por mi mente pasan pensamientos inquietantes --- constantemente --- la mayor parte del tiempo --- de vez en cuando --- sólo a veces	3 2 1 0
6	Estoy animado --- nada en absoluto --- muy raramente --- algunas veces --- prácticamente siempre	3 2 1 0
7	Me resulta fácil sentarme y relajarme --- definitivamente --- probablemente --- sólo rara vez --- no puedo en absoluto	0 1 2 3
8	Me parece que he comenzado a hacer todo muy lentamente --- prácticamente siempre --- con frecuencia --- algunas veces --- nada en absoluto	3 2 1 0
9	Experimento tensión interna o temores --- no experimento en absoluto --- algunas veces --- con frecuencia --- muy frecuentemente	0 1 2 3
10	No me preocupa mi aspecto --- definitivamente --- no empleo tanto tiempo en ello como debiera --- quizá, he comenzado a prestarle menos atención --- cuido mi aspecto tanto como antes	3 2 1 0
11	Experimento inquietud, como si tuviese que moverme constantemente	

	--- definitivamente	3
	--- probablemente	2
	--- sólo en un pequeño grado	1
	--- no lo experimento en absoluto	0
12	Siento que mis asuntos (búsquedas, intereses) pueden darme un sentido de satisfacción	0
	--- igual que usualmente	1
	--- sí, pero no en el mismo grado que antes	2
	--- considerablemente menos que lo usual	3
	--- no me siento así en absoluto	
13	Me embarga el pánico repentinamente	
	--- muy frecuentemente	3
	--- con bastante frecuencia	2
	--- no con tanta frecuencia	1
	--- no sucede en absoluto	0
14	Me siento satisfecho con un buen libro, programa de radio o televisión	
	--- con frecuencia	0
	--- algunas veces	1
	--- raramente	2
	--- muy raramente	3

Zigmond, A. S., Snaith, R.P. The Hospital Anxiety and Depression scale // Acta Psychiatr. Scand. - 1983. - Vol. 67. - P. 361-370, aquí incorporado mediante referencia.

5 Ejemplo 8. Estudio clínico controlado con placebo y doblemente enmascarado para evaluar la combinación de una dosis ultra baja de anticuerpos para la proteína S-100 y dosis ultra bajas de anticuerpos para el receptor CB1, y de dosis ultra bajas de anticuerpos para el receptor CB1 en el tratamiento del tabaquismo moderado y la obesidad.

10 Tabletas de 300 mg. saturadas con soluciones de agua-alcohol (6 mg/tab.) de dosis ultra bajas de anticuerpos policlonales de conejo para la proteína S-100 específica del cerebro (ULD anti-S100) y para el receptor canabinoide tipo 1 (ULD anti-CB1), cada una de ellas obtenida mediante hiper-dilución de la solución matriz inicial 10012, 10030, 100200 veces (mezcla de las diluciones homeopáticas centesimales C12, C30 y C200) se utilizaron en el estudio (ULD anti-S100 + ULD anti-CB1). También se utilizaron en dicho estudio tabletas de 300 mg. saturadas con una solución de agua-alcohol (6 mg/tab.) de dosis ultra bajas de anticuerpos policlonales de

conejo para el receptor canabinoide tipo 1 (ULD anti-CB1) obtenidas mediante hiper-dilución de la solución matriz inicial 10012, 10030, 100200 veces (mezcla de las diluciones homeopáticas centesimales C12, C30 y C200).

Se incluyó a 59 pacientes con el deseo de dejar de fumar en un estudio comparativo, doblemente enmascarado, controlado con placebo para evaluar la eficacia de una combinación de ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 y anti-CB1 para tratar el tabaquismo. 22 pacientes se incluyeron en el grupo de la preparación activa y se les dio ULD anti-S100 + ULD anti-CB1, 1 tableta 3 veces al día. 17 pacientes se incluyeron en el grupo de preparación para comparar y se les dio ULD anti-Cb1, 1 tableta 3 veces al día. 20 pacientes se incluyeron en el grupo con placebo y se les dio 1 tableta 3 veces al día (una tableta de lactosa granulada y excipientes sin ingrediente activo alguno). El tratamiento duró 12 semanas. Los tres grupos de pacientes eran comparables en cuanto a los indicadores iniciales demográficos, antropométricos y clínicos. Todos los pacientes tenían dependencia de la nicotina en menor grado, de acuerdo a la Prueba de Fagerström test (menos de 4 puntos), habían fumado no menos de un año y tenía obesidad grado uno (1) (índice de masa corporal [BMI] = 30,0-34,9 kg/m²). Todos los pacientes del estudio concluyeron el tratamiento en los períodos requeridos por el protocolo del estudio; ningún paciente se retiró antes de tiempo.

En el análisis de los datos puede apreciarse que el número de pacientes que dejó de fumar aumentó entre quienes recibieron ULD anti-S100+ULD anti-CB1 y ULD anti-CB1 (Cuadro 9). En el grupo con ULD anti-S100+ULD la porción de pacientes que dejó de fumar en 4 semanas de tratamiento fue 23%; en 8 semanas, 36%; y al final de las 12 semanas alcanzó 41%. En el grupo con ULD anti-CB1 los indicadores correspondientes fueron 12%, 24% y 29% (versus 5%, 5% y 10%, respectivamente, en el grupo con placebo). La diferencia en la eficacia del tratamiento de acuerdo al parámetro principal de eficacia, comparado al tratamiento con placebo fue 31% (para el grupo con ULD anti-S100+ULD) y 19% (para el grupo con ULD anti-CB1) y fue estadísticamente significativa.

En la evaluación del efecto de ULD anti-S100+ULD anti-CB1 se observó una disminución substancias del tabaquismo, tanto para el grupo como un todo como para el subgrupo de pacientes que no pudieron dejar de fumar. La puntuación total promedio inicial de la Prueba de Fagerström fue 2,67±0,14. En 12 semanas de tratamiento disminuyó a 1,33±0,14; además, la disminución fue estadísticamente significativa, no sólo al compararla con los indicadores iniciales, sino también al compararla con el grupo de placebo. Los pacientes que recibieron

ULD anti-CB1 y no dejaron de fumar demostraron también una dinámica positiva con respecto a la manifestación de su tabaquismo, el cual fue significativamente inferior al finalizar los 3 meses de tratamiento, en comparación con los niveles iniciales y con el placebo.

En el análisis de los datos de la Escala de estado de ánimo y síntomas físicos (MPSS, Mood and Physical Symptoms Scale) se observó que los síntomas de abstinencia de la nicotina disminuyeron gradualmente entre los pacientes que dejaron de fumar, alcanzando valores mínimos 12 semanas después de comenzar el tratamiento, tanto con ULD anti-S100+ULD anti-CB1 como con ULD anti-CB1 (Cuadro 9). La puntuación total más baja se registró en el grupo con ULD anti-S100+ULD anti-CB1, lo que demostró que la administración de la combinación de ULD anti-S100+ULD anti-CB1 y ULD anti-CB1 hizo posible soportar dejar de fumar más fácilmente y sin dolor, incluyendo comparado con ULD anti-CB1 tomado solo.

Tabla 9

Dinámica de los indicadores básicos dependiendo de la forma de tratamiento

Período	ULD anti-S100+ULD anti-CB1 (M±SE)	ULD anti-CB1 (M±SE)	Placebos (M±SE)
	Prueba de Fagerström, puntos (n – número de fumadores)		
Inicial	2,64±0,10 (n=22)	2,65±0,12 (n=17)	2,65±0,11 (n=20)
Inicial	2,67±0,14 (n=12)	2,58±0,14 (n=12)	2,66±0,11 (n=18)
12 semanas	1,33±0,14* # (n=12)	1,25±0,13* (n=12)	2,39±0,26 (n=18)
	Porción de pacientes que dejó de fumar, %		
4 semanas	23% (n=5)	12% (n=2)	5% (n=1)
8 semanas	36% (n=8)	24% (n=4)	5% (n=1)
12 semanas	41% (n=10)	29% (n=5)	10% (n=2)
	Escala de síntomas (MPSS) cancelados, puntos (n – número que dejó de fumar)		
4 semanas	33,4±1,25 (n=5)	33,00±2,00 (n=2)	36 (n=1)
8 semanas	28,12±1,02 (n=8)	25,50±2,22 (n=4)	34 (n=1)
12 semanas	14,85± 2,41* ** (n=10)	20,80±1,62* (n=5)	32,50±0,50 (n=2)
	Escala de ansiedad y depresión hospitalaria (HADS), puntos (n – número de pacientes examinados)		

Inicial	11,73±0,36 (n=22)	11,41±0,50 (n=17)	11,4±0,44 (n=20)
4 semanas	10,32±0,32 (n=22)	10,47±0,30 (n=17)	11,95±0,45 (n=20)
8 semanas	8,59±0,33 (n=22)	9,88±0,32 (n=17)	12,55±0,35 (n=20)
12 semanas	7,68± 0,46* # (n=22)	9,41±0,35 (n=17)	12,05±0,18 (n=20)

Nota: * importancia estadística de las diferencias con el grupo de placebo, $p<0,05$;

** Importancia estadística de las diferencias entre los grupos de ULD anti-S100+ULD anti-CB1 y ULD anti-CB1, $p<0,05$;

Importancia estadística de las diferencias con los valores iniciales.

5

Todos los grupos de pacientes incluidos en el estudio tenían obesidad en primer grado. El Índice de masa corporal (BMI, Body Mass Index) se midió a intervalos regulares en los pacientes de todos los grupos del estudio. Los resultados del estudio se presentan en la Tabla 10.

10

Tabla 10

Diferencias promedio entre el peso inicial y actual (en kg.) en cada visita

Período	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 semanas	-1,2±0,5	-0,9±0,3	-0,4±0,2
4 semanas	-1,7±0,4	-1,5±0,5	-0,5±0,4
6 semanas	-2,5±0,4	-2,2±0,6	-1,3±0,4
8 semanas	-3,1±0,7*	-2,8±0,7*	-1,3±0,4
10 semanas	-3,8±0,6*	-3,4±0,8*	-1,8±0,5*
12 semanas	-4,2±0,9*	-3,8±1,0*	-1,8±0,6*

Nota: Para evaluar la importancia estadística del cambio, se utilizaron los criterios de doble cara de Student en la modificación de Dunnett para hacer comparaciones de peso en la visita de control (visita 0), con todas las visitas posteriores.

15 Las diferencias significativas ($p<0,05$) se señalan con asteriscos.

Como resultado del ciclo de tratamiento de 12 semanas, la masa corporal disminuyó significativamente en ambos grupo de prueba, en comparación con el de placebo. En 3 meses de tratamiento, casi la mitad de los pacientes (52% y 47%) de los dos grupos de tratamiento redujo su peso en 5% ó más, en comparación con el estado inicial (comparado con 15% de los pacientes del grupo con placebo; con $p < 0,05$) (Ilustración 3).

En la evaluación de la seguridad del tratamiento, realizada sobre la base del registro de efectos secundarios durante el período del tratamiento y en un estudio de seguimiento de los indicadores de laboratorio se observó buena tolerancia tanto a ULD anti-S100+ULD anti-CB1 como a ULD anti-CB1. En el análisis de seguridad se incluyeron los datos de todos los pacientes que participaron en el estudio ($n=59$). No se observó efecto secundario alguno del tratamiento sobre el sistema nervioso central; no hubo indicadores de consecuencias psiquiátricas. Esta conclusión se confirmó monitoreando los indicadores con el uso de la Escala de ansiedad y depresión hospitalaria (HADS) (Cuadro 9). ULD anti-S100+ULD anti-CB1 demostraron tener un efecto positivo sobre los síntomas de ansiedad y depresión, los cuales se redujeron significativamente hacia el final del tratamiento, en comparación tanto con los valores iniciales como los del grupo con placebo. No hubo efectos secundarios. En los indicadores de laboratorio, incluyendo los análisis generales y bioquímicos de sangre y los análisis clínicos de orina, no se observaron desviaciones significativas con respecto a los valores normales.

Por lo tanto, en el estudio se demostró la eficacia y seguridad de la combinación de ULD anti-S100+ULD anti-CB1 y ULD anti-CB1 en el tratamiento del tabaquismo. Los efectos de los tratamientos resultaron evidentes por el alto porcentaje de pacientes que dejó de fumar, la reducción de los síntomas de abstinencia en el transcurso del tratamiento y la reducción de la dependencia de la nicotina en los pacientes que no pudieron dejar de fumar. Todos los efectos observados fueron estadísticamente significativos, en comparación con el grupo de placebo. La eficacia de la combinación ULD anti-S100+ULD anti-CB1 superó la eficacia de ULD anti-CB1 tomado solo. El perfil de seguridad fue excelente tanto para la combinación ULD anti-S100+ULD anti-CB1 como para ULD anti-CB1. Tanto la combinación ULD anti-S100+ULD anti-CB1 como ULD anti-CB1 no produjeron la aparición de ansiedad y/o depresión de manifestación clínica. Se demostró además una disminución de la masa corporal en pacientes con obesidad grado 1.

Ejemplo 9. Se realizó un estudio clínico comparativo, doblemente enmascarado y controlado con placebo para evaluar la combinación de una dosis ultra baja de anticuerpos para la proteína

S-100 y dosis ultra bajas of anticuerpos to CB1 receptor, y dosis ultra bajas of anticuerpos para el receptor CB1, en el tratamiento de dependencia grave de la nicotina.

Tabletas de 300 mg. saturadas con soluciones de agua-alcohol (6 mg/tab.) de dosis ultra bajas of anticuerpos policlonales de conejo para la proteína S-100 específica del cerebro (ULD anti-S100) y to receptor canabinoide tipo 1 (ULD anti-CB1), cada una de ellas obtenida mediante
 5 hiper-dilución de la solución matriz inicial 10012, 10030, 100200 veces (mezcla de las diluciones homeopáticas centesimales C12, C30, C200) se utilizaron en el estudio (ULD anti-S100 + ULD anti-CB1). También se utilizaron en dicho estudio tabletas de 300 mg. saturadas
 10 con una solución de agua-alcohol (6 mg/tab.) de dosis ultra bajas of anticuerpos policlonales de conejo para el receptor canabinoide tipo 1 (ULD anti-CB1) obtenidas mediante hiper-dilución de la solución matriz inicial 10012, 10030, 100200 veces (mezcla de las diluciones homeopáticas centesimales C12, C30, C200).

Para evaluar la eficacia de ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 en el tratamiento del tabaquismo, se realizó un estudio comparativo, controlado con placebo y doblemente enmascarado en el que
 15 participaron 61 pacientes que se asignaron aleatoriamente a tres grupo, como sigue: 18 pacientes al primer grupo (ULD anti-S100 + ULD anti-CB1, 1 tableta, 4 veces al día), 22 pacientes al segundo grupo (ULD anti-CB1, 1 tableta 4 veces al día) y 21 pacientes al grupo con placebo (1 tableta, 4 veces al día) (una tableta de lactosa granulada y excipientes sin
 20 ingrediente activo alguno) . El tratamiento duró 12 semanas. Los pacientes de los tres grupos eran comparables de acuerdo a los indicadores iniciales, incluyendo los aspectos demográficos, físicos y de laboratorio. De acuerdo a los resultados primarios de la Prueba de Fagerström, todos los participantes tenían dependencia fuerte de la nicotina (≥ 7 puntos) y habían fumado durante más de tres años. En el transcurso de las visitas mensuales se monitoreó a los
 25 pacientes y se les hizo exámenes y análisis físicos y de laboratorio (Prueba de Fagerström, Escala de ansiedad y depresión hospitalaria [HADS]). Los síntomas de abstinencia se midieron (Mood and Physical Symptoms Scale [MPSS]) en los pacientes que dejaron de fumar. Todos los pacientes concluyeron el tratamiento en los períodos requeridos por el protocolo del estudio; ningún paciente se retiró antes de tiempo.

Los resultados del estudio se presentan en la Tabla 11:

Tabla 11. Dinámica de los indicadores básicos, dependiendo de la forma de tratamiento

Período	ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 (M±SE)	ULD anti-CB1 (M±SE)	Placebo (M±SE)
Prueba de Fagerström, puntos (n – número de fumadores)			
Inicial	8,78±0,26 (n=18)	8,55±0,26 (n=22)	8,52±0,24 (n=21)
Inicial	8,92±0,34 (n=12)	8,47±0,24 (n=17)	8,47±0,25 (n=20)
12 semanas	4,50±0,26* ** # (n=12)	6,11±0,26* (n=17)	8,73±0,23 (n=19)
Porción de pacientes que dejó de fumar, %			
4 semanas	11% (n=2)	9% (n=2)	5% (n=1)
8 semanas	22% (n=4)	14% (n=3)	5% (n=1)
12 semanas	30% (n=6)	23% (n=5)	10% (n=2)
Escala de síntomas de abstinencia (MPSS), puntos (n – número que dejó de fumar)			
4 semanas	54,33±1,2 (n=2)	54,50±0,50 (n=2)	54 (n=1)
8 semanas	46,75±1,89 (n=4)	47,33±0,67 (n=3)	50 (n=1)
12 semanas	38,67± 0,88* ** (n=6)	45,22±1,11* (n=5)	53,00±1,00 (n=2)
Escala de ansiedad y depresión hospitalaria (HADS), puntos (n – número de pacientes examinados)			
Inicial	12,61±0,36 (n=18)	12,50±0,29 (n=22)	11,81±0,38 (n=21)
4 semanas	11,17±0,31 (n=18)	11,95±0,25 (n=22)	13,05±0,47 (n=21)
8 semanas	9,56±0,30 (n=18)	10,86±0,22 (n=22)	13,24±0,39 (n=21)
12 semanas	7,72± 0,32* # (n=18)	9,50±0,19 (n=22)	12,67±0,23 (n=21)

Nota: * Las diferencias con el grupo de placebo son estadísticamente significativas, con $p<0.05$;

** Las diferencias entre los grupos ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 y ULD anti-CB1

5 son estadísticamente significativas, con $p<0.05$;

Las diferencias con los indicadores iniciales son estadísticamente significativas, con $p<0.05$.

En el grupo ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 la porción de pacientes que dejó de fumar en 4 semanas de tratamiento fue 11%; en 8 semanas, 22%; y al final de las 12 semanas llegó a

30%. En el grupo ULD anti-CB1, los indicadores correspondientes fueron 9%, 14% y 23% (versus 5%, 5% y 10%, respectivamente, en el grupo con placebo).

Las manifestaciones del tabaquismo disminuyeron substancialmente al administrar ULD anti-S100 + ULD anti-CB1, tanto para el grupo como un todo como para el subgrupo de pacientes que no fueron capaces de dejar de fumar (ver el Cuadro 11). Sus puntos totales promedio
5 iniciales con la Prueba de Fagerström fueron $8,92 \pm 0,34$, los cuales disminuyeron casi dos veces en las 12 semanas de tratamiento, a $4,50 \pm 0,26$. Además, la disminución fue estadísticamente significativa, no solamente en comparación con los valores iniciales, sino también comparándolos con el grupo ULD anti-CB1 y el grupo con placebo.

10 Al administrar la combinación ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 los pacientes mostraron también una disminución estadísticamente significativa de los síntomas de abstinencia, en comparación tanto con el grupo con ULD anti-CB1 (with $p < 0,05$) como con el grupo con placebo ($p < 0,005$), sobre la base de los datos de la escala MPSS, alcanzando valores mínimos a las 12 semanas después de comenzar el tratamiento

15 También se realizó una evaluación de seguridad. En el análisis de seguridad se incluyeron datos de todos los pacientes que participaron en el estudio ($n=61$) y se realizó sobre la base del registro de efectos secundarios y un estudio de seguimiento de los indicadores de laboratorio. En los resultados del estudio se observa no sólo buena tolerancia a la combinación ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 y a ULD anti-CB1 solo, sino también la ausencia de efectos secundarios
20 conectados a la ingesta de medicinas. No se descubrió efecto secundario alguno del tratamiento para el sistema nervioso central; no hubo indicadores de consecuencias psiquiátricas. Esta conclusión se confirmó monitoreando los indicadores con el uso de la Escala de ansiedad y depresión hospitalaria (HADS) (Cuadro 11). ULD anti-S100+ULD anti-CB1 demostró tener un efectos positivo sobre los síntomas de ansiedad y depresión, los cuales se
25 redujeron considerablemente hacia el final del tratamiento, en comparación tanto con los valores iniciales como con el grupo de placebo. No hubo efectos secundarios. En los indicadores de laboratorio, incluyendo los análisis generales y bioquímicos de sangre y los análisis clínicos de orina, no se observaron desviaciones significativas con respecto a los valores normales.

30 Por lo tanto, en los resultados del estudio se demostró la eficacia y seguridad de ULD anti-S100+ULD anti-CB1 para el tratamiento de la dependencia aguda de la nicotina. Casi un tercio

de los fumadores pudieron librarse de su dependencia de la nicotina durante el ciclo de tratamiento de 12 semanas. Según se muestra en el Cuadro 11, la eficacia de ULD anti-S100+ULD anti-CB1 superó la eficacia del placebo de manera estadísticamente significativa. ULD anti-S100+ULD anti-CB1 aumentó considerablemente la capacidad de los pacientes para soportar el dejar de fumar más fácilmente y sin dolor. Entre los pacientes que no pudieron dejar de fumar en el transcurso de la observación, la manifestación de la dependencia de la nicotina disminuyó significativamente al administrarles ULD anti-S100+ULD anti-CB1 en comparación con ambos ULD anti-CB1 y placebo.

Tanto ULD anti-S100+ULD anti-CB1 como ULD anti-CB1 se caracterizaron por un excelente perfil de seguridad y ausencia de efectos secundarios para el sistema nervioso central.

Ejemplo 10.

Se estudiaron los efectos de: i) la combinación de dosis ultra bajas of anticuerpos policlonales de conejo para la proteína S-100 específica del cerebro (ULD anti-S100) y dosis ultra bajas of anticuerpos para el receptor canabinoide tipo 1 (ULD anti-CB1), ambas obtenidas mediante hiper-dilución de la solución matriz inicial 10012, 10030, 100200 veces (mezcla de diluciones homeopáticas centesimales C12, C30, C200) (ULD anti-S100 + ULD anti-CB1); ii) ULD anti-CB1 solo; y iii) ULD anti-S100 solo, sobre la actividad motora de los ratones para evaluar sus propiedades antinicotínicas.

Se utilizaron 40 ratones blancos mestizos (22-25 g, 1,5 mo.) 10 ratones se dejaron intactos. Al resto de los ratones se les administró nicotina subcutáneamente durante 4 días en una dosis de 0,3 mg/kg. La administración de nicotina estuvo precedida (1 hora antes) de la administración intragástrica, o bien de agua destilada (control, 0,4 ml/ratón), o ULD anti-S100 (0,4 ml/ratón), o ULD anti-CB1 (0,4 ml/ratón), o ULD anti-S100 + ULD anti-CB1 (0,4 ml/ratón). 30 minutos después de la última administración de nicotina se realizó una prueba “campo abierto”. Se colocó a los animales en el centro de una instalación foto-sensible TruScan (Coulbourn, USA) donde se registró automáticamente su actividad locomotora vertical y horizontal durante dos (2) minutos. El modelo “campo abierto” permite evaluar el efecto de los compuestos sobre la actividad locomotora de los animales (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. - Vol. 27. - No 3. – p. 201-209, el cual se incorporado aquí mediante referencia en su totalidad y para los fines indicados). Parámetros de la instalación: tamaño

270x270x360 mm., dividido en 64 cuadrados, 2,5 x 2,5, con aberturas de 25 mm. situadas en el piso de la plataforma, iluminación con lámpara de 150 vatios.

La nicotina es un alcaloide que se encuentra en las plantas de la familia Solanaceae, predominantemente en el tabaco, y que posee actividad psicotrópica. Se cree que el efecto de la nicotina es indirecto, a través de los receptores N-colina periféricos y centrales. Dependiendo de la dosis, la introducción de este alcaloide en el cuerpo puede causar el desarrollo de sintomatología de ansiedad-depresión, euforia, excitación o, vice versa, tranquilidad. Además, la aplicación prolongada de la nicotina produce dependencia. Las preparaciones utilizadas para hacer más fácil dejar de fumar, tienen el objeto, entre otros, de eliminar los cambios patológicos de la esfera psico-emocional, lo cual facilita la liberación del paciente de la predilección patológica del tabaco.

En el presente estudio la administración de nicotina produjo un aumento de la actividad motora de los ratones: el tiempo de actividad aumentó en 8,2% ($p<0,05$), la distancia viajada en 5,1%, la cantidad de aberturas investigadas en 78,2% ($p<0,05$), el tiempo de reacción al estudio en 76,9%, mientras que el tiempo de inmovilidad, a la inversa, disminuyó en 13,5% ($p<0,05$), comparado con los animales intactos.

ULD anti-S100 solo no tuvo un efecto significativo para el control con respecto a los parámetros específicos investigados. ULD anti-CB1 redujo el tiempo de actividad y la distancia viajada por los ratones en el grupo bajo prueba al nivel de los ratones intactos. Sin embargo, ULD anti-CB1 no tuvo efecto alguno sobre el período de inmovilidad, la cantidad de aberturas y el período de reacción. Al mismo tiempo, la administración combinada de ULD anti-CB1 y ULD anti-S100 redujo el tiempo de actividad y, correspondientemente, aumentó el tiempo de inmovilidad al nivel de los animales intactos, reduciendo considerablemente la distancia viajada (en 29,2% comparado con el control y en 25,5% comparado con los animales intactos) y disminuyó algo la actividad (la cantidad de aberturas cayó en 15,3%, el tiempo de reacción cayó en 17,4%).

Así pues, la administración de ULD anti-CB1 y la administración combinada de ULD anti-CB1 y ULD anti-S100, contribuye a la eliminación de cambios en el comportamiento de animales causados por la administración de nicotina. El uso de una combinación de ULD anti-CB1+ULD anti-S100 fue más eficaz, en comparación con la administración de ULD anti-CB1 solo.

Tabla 12. Efecto de las preparaciones sobre la actividad motora de los ratones (pruebas a campo abierto), $M \pm m$

	Tiempo de actividad, seg.	Distancia de movim., cm.	Tiempo de inmovilidad, seg.	Cantidad de aperturas investigadas	Tiempo de reacción al estudio
Intacto	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
Control	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

*Las diferencias respecto al intacto son estadísticamente significativas: - con $p < 0,05$.

La diferencia respecto al control es estadísticamente significativa: # - con $p < 0,05$; ## - con $p < 0,01$.

5

REIVINDICACIONES

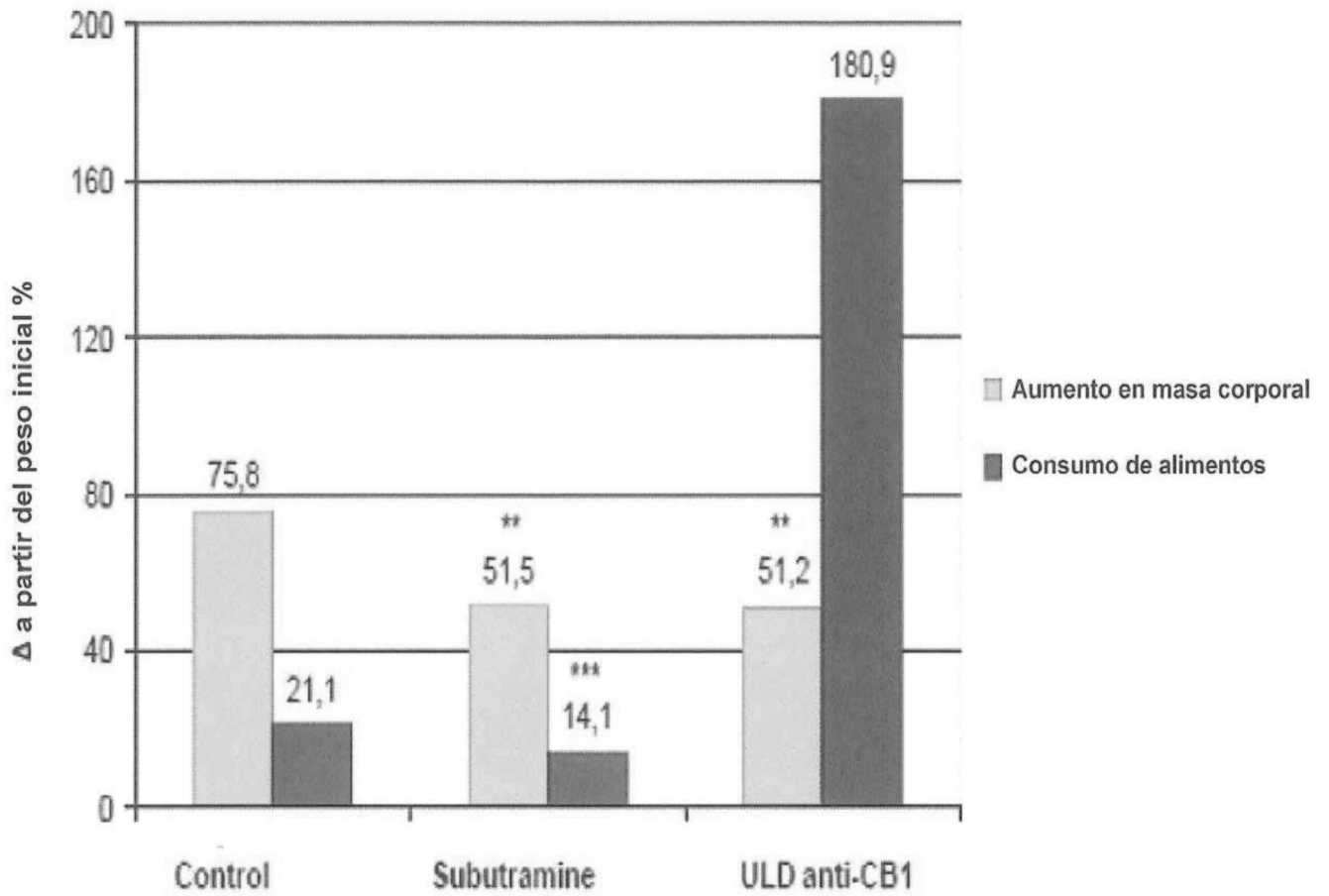
1. Una composición farmacéutica que consta de una forma activada y potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano.
2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la cual dicho receptor canabinoide humano es el receptor canabinoide 1 (CB1).
3. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, en la cual la forma activada y potenciada de un anticuerpo es para la totalidad del receptor canabinoide humano 1.
4. La composición farmacéutica de la reivindicación 3, en la cual la totalidad de dicho receptor canabinoide humano 1 consta de la secuencia proporcionada en SEQ ID No: 1.
5. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, en la cual dicha forma activada y potenciada de un anticuerpo es para un fragmento de polipéptido del receptor canabinoide humano 1.
6. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, en la cual dicho fragmento de polipéptido del receptor canabinoide humano 1 se selecciona a partir del grupo que consta de las secuencias proporcionadas en SEQ ID Nos: 2-15.
7. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la cual dicha forma activada y potenciada de un anticuerpo están en forma de mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30 y C200.
8. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la cual dicha forma activada y potenciada de un anticuerpo está en forma de una mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30 y C200 impregnadas en un portador sólido.
9. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la cual la forma activada y potenciada de un anticuerpo para un receptor canabinoide humano es un anticuerpo monoclonal, policlonal o natural.
10. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en la cual dicha forma activada y potenciada de un anticuerpo para un receptor canabinoide humano es un anticuerpo policlonal.

11. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la cual el anticuerpo para el receptor canabinoide humano se prepara mediante diluciones centesimales sucesivas junto con agitación de cada dilución.
12. Uso de una composición de las reivindicaciones 1 ó 2 para preparar un medicamento
5 destinado al tratamiento de la obesidad y los trastornos metabólicos relacionados.
13. El uso de la reivindicación 12, en el cual el medicamento se prepara para administrar dicha composición farmacéutica como una o dos formulaciones posológicas unitarias de una a cuatro veces al día.
14. El uso de la reivindicación 13, en el cual el medicamento se prepara para administrar
10 dicha(s) formulación(es) posológica(s) dos veces al día.
15. Uso de una composición farmacéutica de las reivindicaciones 1 ó 2 para preparar un medicamento destinado a alterar los parámetros antropométricos de un mamífero.
16. El uso de la reivindicación 15, en el cual el parámetro antropométrico es la circunferencia de la cintura.
- 15 17. El uso de la reivindicación 15, en el cual dicho parámetro antropométrico es la relación cintura-altura.
18. El uso de la reivindicación 15, en el cual dicho parámetro antropométrico es la relación cintura-cadera.
19. El uso de la reivindicación 16, en el cual la circunferencia de la cintura se reduce por lo
20 menos 1%.
20. El uso de la reivindicación 16, en el cual la circunferencia de la cintura se reduce por lo menos 2%.
21. El uso de la reivindicación 16, en el cual la circunferencia de la cintura se reduce por lo menos 3%.
- 25 22. El uso de la reivindicación 16, en el cual la circunferencia de la cintura se reduce por lo menos 1 cm.
23. El uso de la reivindicación 16, en el cual la circunferencia de la cintura se reduce por lo menos 3 cm.

24. Uso de una composición farmacéutica de las reivindicaciones 1 ó 2 para preparar un medicamento destinado a reducir la masa corporal de un mamífero.
25. El uso de la reivindicación 24, en el cual la masa corporal se reduce por lo menos 5%.
26. El uso de la reivindicación 24, en el cual la masa corporal se reduce por lo menos 10%.
- 5 27. El uso de la reivindicación 24, en el cual la masa corporal se reduce por lo menos 15%.
28. El uso de la reivindicación 24, en el cual la masa corporal se reduce en menos 15%.
29. Uso de una composición farmacéutica de las reivindicaciones 1 ó 2 para preparar un medicamento destinado reducir el crecimiento de masa corporal de un mamífero.
30. El uso de la reivindicación 29, en el cual el crecimiento de masa corporal se reduce por
10 lo menos 10%.
31. El uso de la reivindicación 29, en el cual el crecimiento de masa corporal se reduce por lo menos 30%.
32. Uso de una composición farmacéutica de las reivindicaciones 1 ó 2 para preparar un medicamento destinado a facilitar la reducción del consumo de alimentos en un mamífero.
- 15 33. La composición farmacéutica de las reivindicaciones 1 ó 2, que comprende además la forma activada y potenciada de un anticuerpo para la proteína S-100.
34. La composición farmacéutica de la reivindicación 33, en la cual el anticuerpo para la proteína S-100 es un anticuerpo para la totalidad de la proteína S-100.
35. La composición farmacéutica de la reivindicación 34, en la cual la totalidad de dicha
20 proteína S-100 consiste en la secuencia proporcionada en SEQ ID No: 16.
36. La composición farmacéutica de la reivindicación 33, en la cual el anticuerpo para la proteína S-100 está en forma de una mezcla de diluciones homeopáticas C12, C30 y C200 impregnadas en el portador sólido.
37. La composición farmacéutica de la reivindicación 33, en la cual el anticuerpo para la
25 proteína S-100 es un anticuerpo monoclonal, policlonal o natural.
38. La composición farmacéutica de la reivindicación 37, en la cual el anticuerpo para la proteína S-100 es un anticuerpo policlonal.

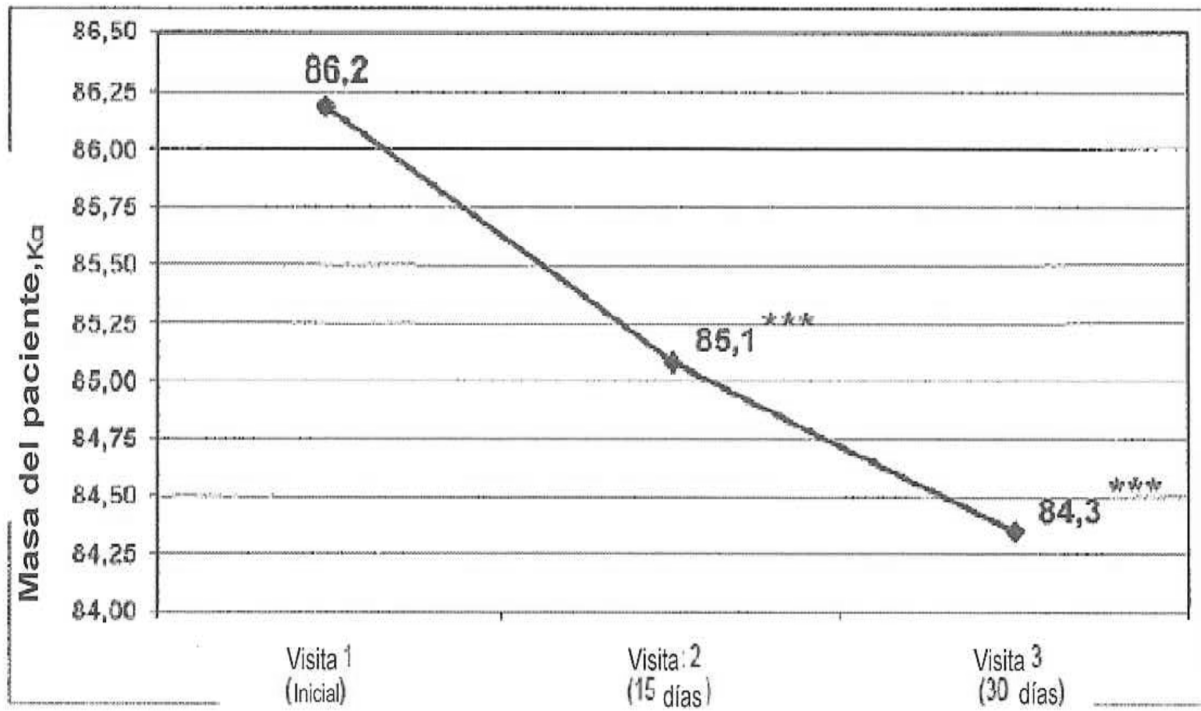
39. La composición farmacéutica de la reivindicación 36, en la cual el anticuerpo para la proteína S-100 se prepara mediante diluciones centesimales sucesivas junto con agitación de cada dilución.
40. Uso de la composición farmacéutica de la reivindicación 33 para preparar un medicamento destinado al tratamiento de la adicción a sustancias psicoactivas.
41. El uso de la reivindicación 40, en el cual dicha sustancia psicoactiva es la nicotina.
42. El uso de la reivindicación 41, en el cual el medicamento está destinado a producir una mejoría estadísticamente significativa de la capacidad para tolerar el abandono del tabaquismo, medido con un análisis de datos de la prueba MPSS.
43. El uso de la reivindicación 41, en el cual el medicamento está destinado a producir una reducción estadísticamente significativa del hábito de fumar en pacientes con tabaquismo moderado, medido con la Prueba de Fagerström para dependencia de la nicotina.
44. El uso de la reivindicación 41, en el cual el medicamento está destinado a producir una reducción estadísticamente significativa del hábito de fumar en pacientes con fuerte adicción a la nicotina, según mediciones de la Prueba de Fagerström para dependencia de la nicotina.
45. Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de pacientes que sufren de adicción a sustancias psicoactivas, habiéndose obtenido dicha composición proporcionando: a) una solución potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano; y b) una solución potenciada de una forma activada y potenciada de un anticuerpo para la proteína S-100, cada una de ellas preparada mediante dilución repetida consecutiva y agitación vertical múltiple de cada solución obtenida, de acuerdo con la tecnología homeopática, y después, o bien combinando las soluciones potenciadas mediante su mezclado o, alternativamente, impregnando una pasa portadora con dicha solución combinada o con las soluciones por separado.
46. Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de la obesidad y trastornos metabólicos relacionados, habiendo sido obtenida dicha composición proporcionando una solución potenciada de un anticuerpo para el receptor canabinoide humano, preparada mediante dilución repetida consecutiva y agitación vertical múltiple de cada solución obtenida, de acuerdo con la tecnología homeopática, e impregnando después opcionalmente una masa portadora con dicha solución.

47. El uso de la reivindicación 40, en el cual la adicción a la sustancia psicoactiva es a la nicotina.



Las diferencias con respecto al control son estadísticamente significativas, con $p < 0,01$; *** con $p < 0,001$

Figura 1



***-p<0,001 con referencia a la masa inicial

Figura 2

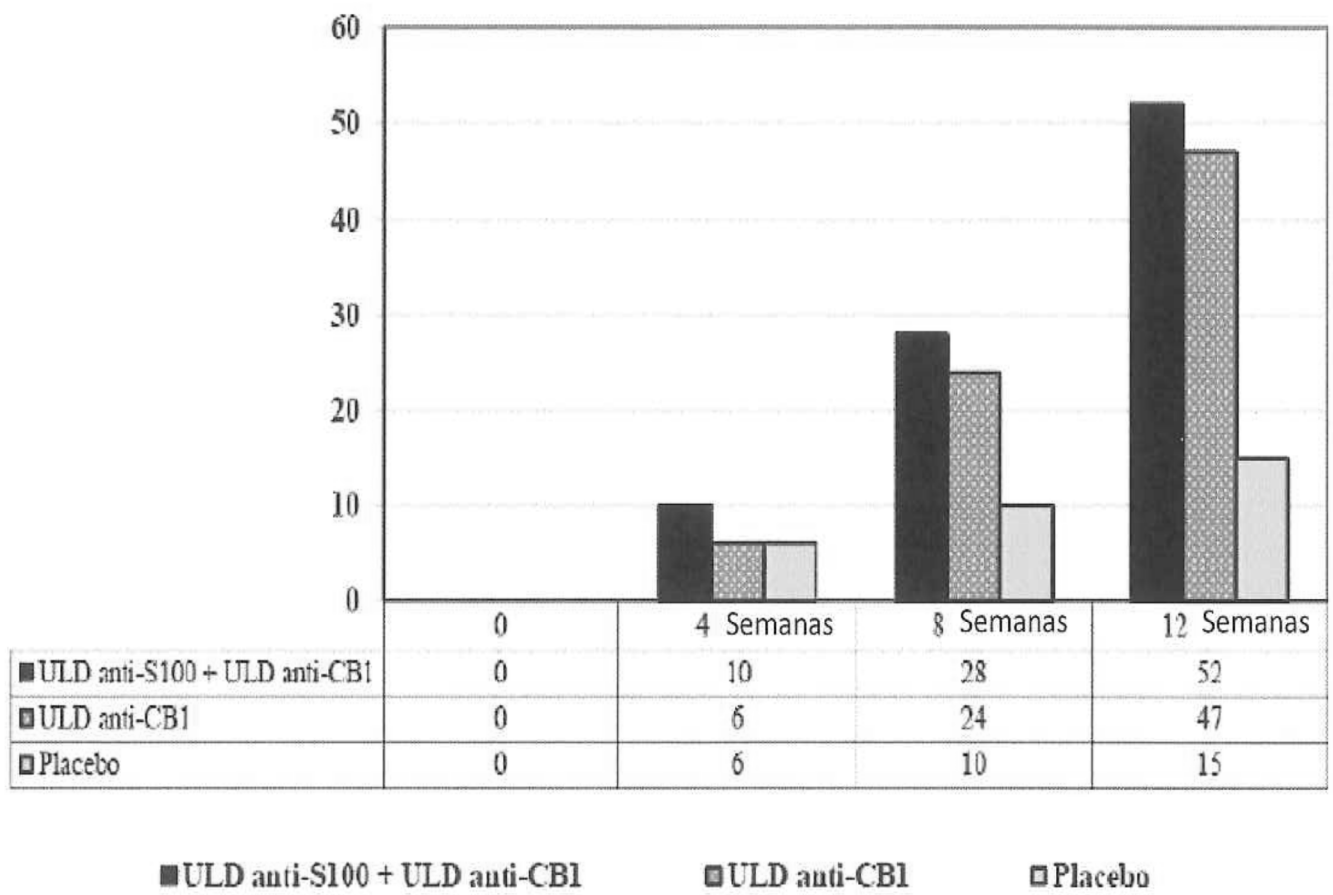


Figura 3

ES 2 542 042 A2

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Epshtein, Oleg Ilich
 <120> Composiciones farmacéuticas y métodos de tratamiento
 <130> 841-032-PCT
 <140> PCT/IB2011/002404
 <141> 2011-07-15
 <150> RU2010129289
 <151> 2010-07-15
 <150> RU2010130350
 <151> 2010-07-21
 <150> RU2011122407
 <151> 2011-06-02
 <160> 20
 <170> BiSSAP 1.0
 <210> 1
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..472
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"
 <400> 1
 Met Lys Ser Ile Leu Asp Gly Leu Ala Asp Thr Thr Phe Arg Thr Ile
 1 5 10 15
 Thr Thr Asp Leu Leu Tyr Val Gly Ser Asn Asp Ile Gln Tyr Glu Asp
 20 25 30
 Ile Lys Gly Asp Met Ala Ser Lys Leu Gly Tyr Phe Pro Gln Lys Phe
 35 40 45
 Pro Leu Thr Ser Phe Arg Gly Ser Pro Phe Gln Glu Lys Met Thr Ala
 50 55 60
 Gly Asp Asn Pro Gln Leu Val Pro Ala Asp Gln Val Asn Ile Thr Glu
 65 70 75 80
 Phe Tyr Asn Lys Ser Leu Ser Ser Phe Lys Glu Asn Glu Glu Asn Ile
 85 90 95
 Gln Cys Gly Glu Asn Phe Met Asp Ile Glu Cys Phe Met Val Leu Asn
 100 105 110
 Pro Ser Gln Gln Leu Ala Ile Ala Val Leu Ser Leu Thr Leu Gly Thr
 115 120 125
 Phe Thr Val Leu Glu Asn Leu Leu Val Leu Cys Val Ile Leu His Ser
 130 135 140
 Arg Ser Leu Arg Cys Arg Pro Ser Tyr His Phe Ile Gly Ser Leu Ala
 145 150 155 160
 Val Ala Asp Leu Leu Gly Ser Val Ile Phe Val Tyr Ser Phe Ile Asp
 165 170 175
 Phe His Val Phe His Arg Lys Asp Ser Arg Asn Val Phe Leu Phe Lys
 180 185 190
 Leu Gly Gly Val Thr Ala Ser Phe Thr Ala Ser Val Gly Ser Leu Phe
 195 200 205
 Leu Thr Ala Ile Asp Arg Tyr Ile Ser Ile His Arg Pro Leu Ala Tyr
 210 215 220
 Lys Arg Ile Val Thr Arg Pro Lys Ala Val Val Ala Phe Cys Leu Met

ES 2 542 042 A2

```

225          230          235          240
Trp Thr Ile Ala Ile Val Ile Ala Val Leu Pro Leu Leu Gly Trp Asn
          245          250          255
Cys Glu Lys Leu Gln Ser Val Cys Ser Asp Ile Phe Pro His Ile Asp
          260          265          270
Glu Thr Tyr Leu Met Phe Trp Ile Gly Val Thr Ser Val Leu Leu Leu
          275          280          285
Phe Ile Val Tyr Ala Tyr Met Tyr Ile Leu Trp Lys Ala His Ser His
          290          295          300
Ala Val Arg Met Ile Gln Arg Gly Thr Gln Lys Ser Ile Ile Ile His
305          310          315          320
Thr Ser Glu Asp Gly Lys Val Gln Val Thr Arg Pro Asp Gln Ala Arg
          325          330          335
Met Asp Ile Arg Leu Ala Lys Thr Leu Val Leu Ile Leu Val Val Leu
          340          345          350
Ile Ile Cys Trp Gly Pro Leu Leu Ala Ile Met Val Tyr Asp Val Phe
          355          360          365
Gly Lys Met Asn Lys Leu Ile Lys Thr Val Phe Ala Phe Cys Ser Met
          370          375          380
Leu Cys Leu Leu Asn Ser Thr Val Asn Pro Ile Ile Tyr Ala Leu Arg
385          390          395          400
Ser Lys Asp Leu Arg His Ala Phe Arg Ser Met Phe Pro Ser Cys Glu
          405          410          415
Gly Thr Ala Gln Pro Leu Asp Asn Ser Met Gly Asp Ser Asp Cys Leu
          420          425          430
His Lys His Ala Asn Asn Ala Ala Ser Val His Arg Ala Ala Glu Ser
          435          440          445
Cys Ile Lys Ser Thr Val Lys Ile Ala Lys Val Thr Met Ser Val Ser
          450          455          460
Thr Asp Thr Ser Ala Glu Ala Leu
465          470

```

```

<210> 2
<211> 360
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> SOURCE
<222> 1..360
<223> /tipo_molécula="proteína"
      /organismo="Homo sapiens"

```

```

<400> 2
Met Glu Glu Cys Trp Val Thr Glu Ile Ala Asn Gly Ser Lys Asp Gly
1      5      10      15
Leu Asp Ser Asn Pro Met Lys Asp Tyr Met Ile Leu Ser Gly Pro Gln
          20      25      30
Lys Thr Ala Val Ala Val Leu Cys Thr Leu Leu Gly Leu Leu Ser Ala
          35      40      45
Leu Glu Asn Val Ala Val Leu Tyr Leu Ile Leu Ser Ser His Gln Leu
          50      55      60
Arg Arg Lys Pro Ser Tyr Leu Phe Ile Gly Ser Leu Ala Gly Ala Asp
65      70      75      80
Phe Leu Ala Ser Val Val Phe Ala Cys Ser Phe Val Asn Phe His Val
          85      90      95
Phe His Gly Val Asp Ser Lys Ala Val Phe Leu Leu Lys Ile Gly Ser
          100     105     110
Val Thr Met Thr Phe Thr Ala Ser Val Gly Ser Leu Leu Leu Thr Ala
          115     120     125
Ile Asp Arg Tyr Leu Cys Leu Arg Tyr Pro Pro Ser Tyr Lys Ala Leu
130          135          140

```

ES 2 542 042 A2

```

Leu Thr Arg Gly Arg Ala Leu Val Thr Leu Gly Ile Met Trp Val Leu
145              150              155              160
Ser Ala Leu Val Ser Tyr Leu Pro Leu Met Gly Trp Thr Cys Cys Pro
              165              170              175
Arg Pro Cys Ser Glu Leu Phe Pro Leu Ile Pro Asn Asp Tyr Leu Leu
              180              185              190
Ser Trp Leu Leu Phe Ile Ala Phe Leu Phe Ser Gly Ile Ile Tyr Thr
              195              200              205
Tyr Gly His Val Leu Trp Lys Ala His Gln His Val Ala Ser Leu Ser
              210              215              220
Gly His Gln Asp Arg Gln Val Pro Gly Met Ala Arg Met Arg Leu Asp
225              230              235              240
Val Arg Leu Ala Lys Thr Leu Gly Leu Val Leu Ala Val Leu Leu Ile
              245              250              255
Cys Trp Phe Pro Val Leu Ala Leu Met Ala His Ser Leu Ala Thr Thr
              260              265              270
Leu Ser Asp Gln Val Lys Lys Ala Phe Ala Phe Cys Ser Met Leu Cys
              275              280              285
Leu Ile Asn Ser Met Val Asn Pro Val Ile Tyr Ala Leu Arg Ser Gly
              290              295              300
Glu Ile Arg Ser Ser Ala His His Cys Leu Ala His Trp Lys Lys Cys
305              310              315              320
Val Arg Gly Leu Gly Ser Glu Ala Lys Glu Glu Ala Pro Arg Ser Ser
              325              330              335
Val Thr Glu Thr Glu Ala Asp Gly Lys Ile Thr Pro Trp Pro Asp Ser
              340              345              350
Arg Asp Leu Asp Leu Ser Asp Cys
              355              360

```

```

<210> 3
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> SOURCE
<222> 1..19
<223> /tipo_molécula="proteína"
      /organismo="Homo sapiens"

```

```

<400> 3
Glu Lys Leu Gln Ser Val Cys Ser Asp Ile Phe Pro His Ile Asp Glu
1              5              10              15
Thr Tyr Leu

```

```

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> SOURCE
<222> 1..10
<223> /tipo_molécula="proteína"
      /organismo="Homo sapiens"

```

```

<400> 4
Gln Arg Gly Thr Gln Lys Ser Ile Ile Ile
1              5              10

```

<210> 5
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..29
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"
 <400> 5
 Ile Gln Arg Gly Thr Gln Lys Ser Ile Ile Ile His Thr Ser Glu Asp
 1 5 10 15
 Gly Lys Val Gln Val Thr Arg Pro Asp Gln Ala Arg Met
 20 25

<210> 6
 <211> 45
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..45
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"
 <400> 6
 Lys Ala His Ser His Ala Val Arg Met Ile Gln Arg Gly Thr Gln Lys
 1 5 10 15
 Ser Ile Ile Ile His Thr Ser Glu Asp Gly Lys Val Gln Val Thr Arg
 20 25 30
 Pro Asp Gln Ala Arg Met Asp Ile Arg Leu Ala Lys Thr
 35 40 45

<210> 7
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..12
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"
 <400> 7
 Met Ser Val Ser Thr Asp Thr Ser Ala Glu Ala Leu
 1 5 10

<210> 8
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..36

ES 2 542 042 A2

<223> /tipo_molécula="proteína"
/organismo="Homo sapiens"

<400> 8
 Thr Glu Phe Tyr Asn Lys Ser Leu Ser Ser Phe Lys Glu Asn Glu Glu
 1 5 10 15
 Asn Ile Gln Cys Gly Glu Asn Phe Met Asp Ile Glu Cys Phe Met Val
 20 25 30
 Leu Asn Pro Ser
 35

<210> 9
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..18
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"

<400> 9
 Gln Pro Leu Asp Asn Ser Met Gly Asp Ser Asp Cys Leu His Lys His
 1 5 10 15
 Ala Asn

<210> 10
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..14
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"

<400> 10
 Gly Thr Gln Lys Ser Ile Ile Ile His Thr Ser Glu Asp Gly
 1 5 10

<210> 11
 <211> 51
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..51
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"

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

ES 2 542 042 A2

35 40 45
 Val Leu Asn
 50

<210> 12
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..14
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"

<400> 12
 Val Val Ala Phe Cys Leu Met Trp Thr Ile Ala Ile Val Ile
 1 5 10

<210> 13
 <211> 47
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..47
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"

<400> 13
 Glu Phe Tyr Asn Lys Ser Leu Ser Ser Phe Lys Glu Asn Glu Glu Asn
 1 5 10 15
 Ile Gln Cys Gly Glu Asn Phe Met Asp Ile Glu Cys Phe Met Val Leu
 20 25 30
 Asn Pro Ser Gln Gln Leu Ala Ile Ala Val Leu Ser Leu Thr Leu
 35 40 45

<210> 14
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..9
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"

<400> 14
 Asn Glu Glu Asn Ile Gln Cys Gly Glu
 1 5

<210> 15
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>

ES 2 542 042 A2

<221> SOURCE
 <222> 1..32
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"

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

<210> 16
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..34
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"

<400> 16
 Ala Tyr Lys Arg Ile Val Thr Arg Pro Lys Ala Val Val Ala Phe Cys
 1 5 10 15
 Leu Met Trp Thr Ile Ala Ile Val Ile Ala Val Leu Pro Leu Leu Gly
 20 25 30
 Trp Asn

<210> 17
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..92
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Bos taurus"

<400> 17
 Met Ser Glu Leu Glu Lys Ala Val Val Ala Leu Ile Asp Val Phe His
 1 5 10 15
 Gln Tyr Ser Gly Arg Glu Gly Asp Lys His Lys Leu Lys Lys Ser Glu
 20 25 30
 Leu Lys Glu Leu Ile Asn Asn Glu Leu Ser His Phe Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Lys Glu Gln Glu Val Val Asp Lys Val Met Glu Thr Leu Asp Ser Asp
 50 55 60
 Gly Asp Gly Glu Cys Asp Phe Gln Glu Phe Met Ala Phe Val Ala Met
 65 70 75 80
 Ile Thr Thr Ala Cys His Glu Phe Phe Glu His Glu
 85 90

<210> 18
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..92
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"

<400> 18
 Met Ser Glu Leu Glu Lys Ala Met Val Ala Leu Ile Asp Val Phe His
 1 5 10 15
 Gln Tyr Ser Gly Arg Glu Gly Asp Lys His Lys Leu Lys Lys Ser Glu
 20 25 30
 Leu Lys Glu Leu Ile Asn Asn Glu Leu Ser His Phe Leu Glu Glu Ile
 35 40 45
 Lys Glu Gln Glu Val Val Asp Lys Val Met Glu Thr Leu Asp Asn Asp
 50 55 60
 Gly Asp Gly Glu Cys Asp Phe Gln Glu Phe Met Ala Phe Val Ala Met
 65 70 75 80
 Val Thr Thr Ala Cys His Glu Phe Phe Glu His Glu
 85 90

<210> 19
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..94
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Homo sapiens"

<400> 19
 Met Gly Ser Glu Leu Glu Thr Ala Met Glu Thr Leu Ile Asn Val Phe
 1 5 10 15
 His Ala His Ser Gly Lys Glu Gly Asp Lys Tyr Lys Leu Ser Lys Lys
 20 25 30
 Glu Leu Lys Glu Leu Leu Gln Thr Glu Leu Ser Gly Phe Leu Asp Ala
 35 40 45
 Gln Lys Asp Val Asp Ala Val Asp Lys Val Met Lys Glu Leu Asp Glu
 50 55 60
 Asn Gly Asp Gly Glu Val Asp Phe Gln Glu Tyr Val Val Leu Val Ala
 65 70 75 80
 Ala Leu Thr Val Ala Cys Asn Asn Phe Phe Trp Glu Asn Ser
 85 90

<210> 20
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..94
 <223> /tipo_molécula="proteína"
 /organismo="Bos taurus"

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

ES 2 542 042 A2

Glu	Leu	Lys	Glu	Leu	Leu	Gln	Thr	Glu	Leu	Ser	Gly	Phe	Leu	Asp	Ala
		35					40					45			
Gln	Lys	Asp	Ala	Asp	Ala	Val	Asp	Lys	Val	Met	Lys	Glu	Leu	Asp	Glu
	50					55					60				
Asn	Gly	Asp	Gly	Glu	Val	Asp	Phe	Gln	Glu	Tyr	Val	Val	Leu	Val	Ala
65					70					75					80
Ala	Leu	Thr	Val	Ala	Cys	Asn	Asn	Phe	Phe	Trp	Glu	Asn	Ser		
				85					90						