

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-527341
(P2018-527341A)

(43) 公表日 平成30年9月20日 (2018.9.20)

| (51) Int. Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|---------------------------------|----------------|-------------|
| A 6 1 K 31/05 (2006.01) | A 6 1 K 31/05 | 4 C 0 8 6 |
| A 6 1 K 31/192 (2006.01) | A 6 1 K 31/192 | 4 C 2 0 6 |
| A 6 1 P 25/08 (2006.01) | A 6 1 P 25/08 | |
| A 6 1 K 31/352 (2006.01) | A 6 1 K 31/352 | |

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 32 頁)

(21) 出願番号 特願2018-507504 (P2018-507504)
 (86) (22) 出願日 平成28年7月29日 (2016.7.29)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年2月13日 (2018.2.13)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2016/052340
 (87) 国際公開番号 W02017/025712
 (87) 国際公開日 平成29年2月16日 (2017.2.16)
 (31) 優先権主張番号 1514079.1
 (32) 優先日 平成27年8月10日 (2015.8.10)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 508368987
 ジーダブリュー・ファーマ・リミテッド
 GW PHARMA LIMITED
 英国 シービー24 9ピーゼット ケンブリッジ ヒストン チバーズ ウェイ
 ビジョン パーク ソプリン ハウス
 (74) 代理人 100108453
 弁理士 村山 靖彦
 (74) 代理人 100110364
 弁理士 実広 信哉
 (74) 代理人 100133400
 弁理士 阿部 達彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癲癇の治療におけるカンナビノイドの使用

(57) 【要約】

本発明は、癲癇の治療における治療に有効な量のカンナビジオール酸 (C B D A) の使用に関する。一実施形態では、C B D A は、全般性発作、好ましくは強直間代性発作の治療に使用される。好ましくは、使用される C B D A は、C B D A 含量が 60% を超える生薬原薬の形態であり、最も好ましくは、それは、C B D A が全抽出物の 95% (w/w) を超え、96% (w/w) および 97% (w/w) を超え、最も好ましくは 98% (w/w) までを超えて存在し、かつ抽出物の他の成分が特徴付けられるような高度に精製された大麻の抽出物である。具体的には、カンナビノイドであるテトラヒドロカンナビノール (T H C) またはテトラヒドロカンナビノール酸 (T H C A) が実質的に除去されている。あるいは、C B D A は合成的に生成され得る。

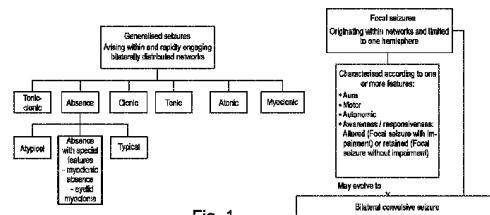


Fig. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

癲癇の治療における使用のための治療に有効な量のカンナビジオール酸（C B D A）。

【請求項 2】

前記癲癇が全般性癲癇である、請求項 1 に記載の使用のための治療に有効な量の C B D A。

【請求項 3】

前記癲癇が強直間代性発作によって特徴付けられる、請求項 1 または 2 に記載の使用のための治療に有効な量の C B D A。

【請求項 4】

前記治療に有効な量が少なくとも 0.1 mg である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の使用のための治療に有効な量の C B D A。

【請求項 5】

前記 C B D A が、前記 C B D A が全抽出物の 98% (w/w) を超えて存在するような高度に精製された抽出物の形態である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の使用のための治療に有効な量の C B D A。

【請求項 6】

前記高度に精製された抽出物が 1% (w/w) 未満のテトラヒドロカンナビノール（THC）またはテトラヒドロカンナビノール酸（THCA）を含む、請求項 5 に記載の使用のための治療に有効な量の C B D A。

【請求項 7】

前記 C B D A が合成的に生成される、請求項 1 に記載の使用のための治療に有効な量の C B D A。

【請求項 8】

前記 C B D A が 1 つまたは複数の他のカンナビノイドと同時に使用される、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の使用のための治療に有効な量の C B D A。

【請求項 9】

前記 C B D A がカンナビジオール（CBD）と一緒に使用される、請求項 8 に記載の使用のための治療に有効な量の C B D A。

【請求項 10】

C B D A : C B D の比が 9 : 1 ~ 1 : 9 (C B D A : C B D) の範囲である、請求項 9 に記載の使用のための治療に有効な量の C B D A。

【請求項 11】

前記 C B D A が 1 つまたは複数の他の抗癲癇薬（A E D）と同時に使用される、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の使用のための治療に有効な量の C B D A。

【請求項 12】

前記 C B D A が 400 mg 未満の用量で使用される、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の使用のための治療に有効な量の C B D A。

【請求項 13】

前記 C B D A が 1 mg ~ 100 mg の用量で使用される、請求項 12 に記載の使用のための治療に有効な量の C B D A。

【請求項 14】

治療に有効な量のカンナビジオール酸（C B D A）を対象に投与することを含む、癲癇を治療する方法。

【請求項 15】

治療に有効な量のカンナビジオール酸（C B D A）と、1 つまたは複数の薬学的に許容できる賦形剤とを含む、癲癇の治療における使用のための組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

10

20

30

40

50

本発明は、癲癇の治療における治療に有効な量のカンナビジオール酸（C B D A）の使用に関する。一実施形態では、C B D Aは、全般性発作、好ましくは強直間代性発作の治療に使用される。

【0002】

好ましくは、使用されるC B D Aは、C B D A含量が60%を超える生薬原薬の形態であり、最も好ましくは、それは、C B D Aが全抽出物の95%（w/w）を超え、96%（w/w）および97%（w/w）を超え、最も好ましくは98%（w/w）までを超えて存在し、かつ抽出物の他の成分が特徴付けられるような高度に精製された大麻の抽出物である。具体的には、カンナビノイドであるテトラヒドロカンナビノール（T H C）またはテトラヒドロカンナビノール酸（T H C A）が実質的に除去されている。あるいは、C B D Aは合成的に生成され得る。

10

【0003】

使用において、C B D Aは、1つまたは複数の他の抗癲癇薬（A E D）と同時に使用され得る。あるいは、C B D Aは、1つまたは複数のA E Dと別個に、その後、または同時に投与するように処方することができ、またはその組合せを単一剤形で提供することができる。C B D Aが別個に、その後、または同時に投与するように処方される場合、それは、指示された方法でその1つまたは複数の成分を投与するためにキットとして、または使用説明書と一緒に提供することができる。それはまた、単独の薬物療法として、すなわち単剤療法として使用することもできる。

20

【背景技術】

【0004】

癲癇は、世界的に人口の約1%で起こっており（Thurman et al., 2011）、そのうちの70%は、利用可能な既存の抗癲癇薬（A E D）により症状を十分に制御することができる。しかしながら、この患者群の30%（Eadie et al., 2012）は、利用可能なA E Dを使用して発作からの解放を得ることができず、したがって難治性癲癇、すなわち「治療抵抗性癲癇」（T R E）に罹患していると称される。

【0005】

難治性、すなわち治療抵抗性癲癇は、国際抗癲癇連盟（International League Against Epilepsy）（I L A E）により、「持続的な発作からの解放を達成するための2つの容認されたかつ適切に選択および使用されたA E D計画（単剤療法としてであろうと、または併用であろうと）の適正な試行の失敗」として2009年に定義された（Kwan et al., 2009）。

30

【0006】

生涯の最初の数年間に癲癇を発症する個体は、治療が困難であることが多く、したがって多くの場合、治療抵抗性と呼ばれる。幼児期に頻繁に発作を経験する子供は、多くの場合、認知的遅れ、行動的遅れ、および運動遅延を引き起こす可能性のある神経障害が残る。

【0007】

幼児期の癲癇は、100,000人当たり約700人の患者数である、子供および若年成人における比較的一般的な神経障害である。これは人口当たりの癲癇の成人数の2倍である。

40

【0008】

子供および若年成人が発作を示す場合、その原因を調べるために通常は検査が行われる。小児期の癲癇は、多くの異なる症候群および遺伝子の突然変異によって引き起こされる可能性があり、したがって、これらの子供の診断はある程度の時間を要する。

【0009】

癲癇の主な症状は、発作の繰返しである。患者が患っている癲癇のタイプまたは癲癇性症候群を判定するために、その患者が経験している発作型の検査が行われる。臨床的観察および脳波検査（E E G）が行われ、発作型が下記に述べかつ図1に示すI L A E分類に従って分類される。

50

【 0 0 1 0 】

I L A Eによって提案された発作型の国際分類は1981年に採用され、改定提案が2010年にI L A Eによって公表されたが、1981年分類は依然として破棄されていない。図1は、改定された用語法の2010年提案から改変され、「部分性」という用語法を「焦点性」に置き換える提案の変更を含む。加えて、用語「単純部分発作」は、用語「意識/反応が損なわれない焦点発作」によって置き換えられ、および用語「複雑部分発作」は、用語「意識/反応が損なわれる焦点発作」によって置き換えられた。

【 0 0 1 1 】

図1から、発作が両側に分布したネットワーク内で生じ、急速にネットワーク全域に展開する全般発作は、6つのサブタイプ：強直間代発作（大発作）、欠神発作（小発作）、間代発作、強直発作、無緊張発作、およびミオクローヌス発作に分け得ることが分かる。

10

【 0 0 1 2 】

発作が片側の脳半球のみに限定されたネットワーク内で生じる焦点（部分）発作もサブカテゴリーに分けられる。この場合、発作は、前兆、運動、自律神経、および意識/反応を含む発作の1つまたは複数の特徴に従って特徴付けられる。発作が限局性発作として始まり、急速に進展して両側のネットワーク内に分布するようになる場合、この発作は両側性痙攣性発作として知られる。これは、二次性全般発作（焦点発作から進展し、もはや限局性に留まらない全般発作）に置き換えることが提案された用語法である。

【 0 0 1 3 】

対象の意識/反応が変容する焦点発作は、機能障害を伴う焦点発作と呼ばれ、および対象の意識または反応が損なわれない焦点発作は、機能障害のない焦点発作と呼ばれる。

20

【 0 0 1 4 】

焦点発作は、レノックス・ガストー症候群、結節性硬化症、ドラベ症候群、C D K L 5、神経セロイドリポフスチン症（N C L）、発熱性感染症関連癲癇症候群（F I R E S）、アICALディ症候群、および脳異常を含む癲癇症候群において起こる場合がある。

【 0 0 1 5 】

癲癇症候群はしばしば多くの異なる型の発作の症状を示すが、標準的なA E Dの多くは、所与の発作型/亜型を治療することを標的にしているか、またはそれに対してのみ有効であるため、患者が患っている発作の型を特定することが重要である。

【 0 0 1 6 】

それらの作用の機序によって規定される一般的なA E Dを下記の表に示す。

30

【 0 0 1 7 】

【表 1】

表1.狭域AEDの例

| 狭域 AED | 機序 | 適応 |
|-----------|-----------------|--|
| フェニトイン | ナトリウムチャンネル | 複雑部分 強直・間代 |
| フェノバルビタール | GABA/ナトリウムチャンネル | 部分発作 強直・間代 |
| カルバマゼピン | ナトリウムチャンネル | 部分発作 強直・間代 混合発作 |
| オクスカルバゼピン | ナトリウムチャンネル | 部分発作 強直・間代 混合発作 |
| ガバペンチン | カルシウムチャンネル | 部分発作 混合発作 |
| プレガバリン | カルシウムチャンネル | 二次性全般化の有無に かかわらず部分発作の 補助療法 |
| ラコサミド | ナトリウムチャンネル | 部分発作の 補助療法 |
| ピガバトリン | GABA | 二次性全般性強直・ 間代発作 部分発作 ウェスト症候群が原因の 點頭癇癇 |

10

20

30

40

【表2】

表2.広域AEDの例

| 広域AED | 機序 | 適応 |
|---------|-----------------|---|
| バルプロ酸 | GABA/ナトリウムチャンネル | 強直・間代発作、 欠神発作、および ミオクローヌス発作に対する 第一選択治療 部分発作および 點頭痙攣に対する 第二選択治療 癲癇重積状態における 静脈内使用 |
| ラモトリギン | ナトリウムチャンネル | 部分発作 強直・間代 レノックス・ガストー症候群に 関連した発作 |
| エトスクシミド | カルシウムチャンネル | 欠神発作 |
| トピラマート | GABA/ナトリウムチャンネル | レノックス・ガストー症候群に 関連した発作 |

10

20

30

【0019】

【表 3】

| | | | |
|---------|---------------------------|---|----|
| ゾニサミド | GABA/カルシウム/ナトリウム チャンネル | 部分的に発症する発作を 有する成人における 補助療法 點頭痙攣 混合発作 レノックス・ガストー症候群 ミオクロニー 全般性強直・間代発作 | 10 |
| レベチラセタム | カルシウムチャンネル | 部分発作 部分、ミオクロニー、 および強直・間代発作に 対する補助療法 | 20 |
| クロナゼパム | GABA | 定型および非定型欠神 小児ミオクロニー ミオクローヌス発作 無動発作 | 20 |
| ルフィナミド | ナトリウムチャンネル | レノックス・ガストー症候群に 関連した部分発作の 補助治療 | 30 |

【 0 0 2 0 】

【表4】

表3.小児期癲癇において特に使用されるAEDの例

| AED | 機序 | 適応 |
|----------|------|---|
| クロバザム | GABA | 複雑部分発作における 補助療法 癲癇重積状態 ミオクロニー ミオクロニー欠神 単純部分 複雑部分 欠神発作 レノックス・ガストー症候群 |
| スチリペントール | GABA | 幼児における重症ミオクロニー 癲癇(ドラベ症候群) |

10

20

【0021】

過去40年にわたり、発作の治療のための非精神活性カンナビノイドであるカンナビジオール(CBD)の使用について動物での複数の研究が存在している。例えば、Consroeら(1982)は、CBDが、痙攣誘発薬または電流を投与した後のマウスの発作を予防し得ることを特定した。

【0022】

癲癇の成人での研究はまた、CBDに関して過去40年行われてきた。Cunhaらは、全般性癲癇を有する8人の成人患者へのCBDの投与が、それら患者のうちの4人で発作の顕著な減少をもたらしたと報告した(Cunha et al., 1980)。

30

【0023】

1978年の研究は、4人の成人の患者に200mg/日の純粋なCBDを与えた。それらの4人の患者のうちの2人が発作から解放されるようになったのに対し、残りでは発作頻度が変わらなかった(Mechoulam and Carlini, 1978)。

【0024】

上記の研究とは対照的に、オープンラベル研究は、200mg/日の純粋なCBDが12人の成人入院患者の発作の制御に効果がなかったと報告した(Ames and Criddle, 1986)。

40

【0025】

癲癇を有する患者でのCBDの有効性を考察する年代順で最後の研究が、CBDが発作を制御できないことを示唆しているという事実に基づき、CBDが抗痙攣薬として役立つ可能性があるという期待はさほどない。

【0026】

過去40年の研究において、癲癇の治療用に認可された30種類を超える薬物が存在するが、それらのいずれもカンナビノイドではない。実際、場合によりこれらの化合物の予定された性質のために、かつ/または既知の向精神薬であるTHCがプロ痙攣誘発薬とみなされてきたために、カンナビノイドに対する偏見が存在しているように思われる(Consroe et al., 1977)。

50

【0027】

最近公開された研究論文は、カンナビジオール濃度の高い大麻が癲癇の治療に有効である可能性があることを示唆した。Porter and Jacobson (2013) は、あるFacebookグループを介して行われた、治療抵抗性癲癇を有する子供に対するCBDを多く含む大麻の使用について調査した両親調査を報告している。調査された19組の親のうちの16組は、その子供の癲癇が改善されたことを報告したことが分かった。この報告書で調査された子供は、すべて高濃度でCBDを含有すると称される大麻抽出物を摂取していたが、これらの事例の多くについて、存在するCBDの量、ならびにTHCおよびテルペンなどの非カンナビノイド成分を含む他の成分の量は分からなかった。実際には、そのCBDレベルは0.5~28.6mg/kg/日の範囲(テストされたこれらの抽出物において)であったが、0.8mg/kg/日程度のTHCレベルが報告された。

10

【0028】

TREを有する子供に、痙攣誘発剤と呼ばれるTHCを含む大麻抽出物(Consrone et al., 1977)を、0.8mg/kg/日の潜在的な精神活性用量で与えたことは望ましくない。

【0029】

THCAだけでなくCBDAを他のカンナビノイドおよび非カンナビノイド成分と共に含有することになる大麻の煎じ汁が癲癇に使用されてきたが、それら治療は単離されたまたは高度に精製されたCBDAに焦点を当てていない。むしろ最近の関心対象は、癲癇の治療におけるCBDAの脱炭酸形態、すなわちCBDの使用にある。

20

【0030】

しかしながら、CBDAは、国際公開第2003/063847号パンフレットに示されているように悪心の治療に有効であることが分かっており、また国際公開第2002/064109号パンフレットに示されているようにTNF阻害剤として免疫調節状態および抗炎症状態の治療用に提案されている。

【0031】

特許出願英国特許第2,495,118号明細書は、癲癇の治療用にCBDVおよびCBDを含む組成物を使用することについて記述している。更に、特許出願国際公開第2011/121351号パンフレットは、癲癇の治療におけるCBDVの使用について記述している。これらの両方の文献は、少量の非脱炭酸CBDをCBDAとして含むCBDVの生薬原薬の使用について記述している。CBDAはきわめて少量で存在し、したがって治療に有効な量では存在しない。

30

【0032】

特許出願米国特許出願公開第2015/126595号明細書は、CBDAを含むカンナビノイドを含む経皮用組成物の使用について記述している。

【0033】

特許出願カナダ特許第2,859,934号明細書およびカナダ特許第2,737,447号明細書の両方が、化合物CBDAを含む医療用の大麻化学変種について記述している。すべての大麻植物がカンナビノイドをそれらの酸の形態で産出し、それらは、次いで簡単に脱炭酸されて、従来から認知されている活性形態のCBDを生成することが容易に理解される。

40

【0034】

CBDは、現在、抗癲癇薬として有望な候補であると思われるが、必要と考えられる用量が比較的大量であることおよびCBDのバイオアベイラビリティが比較的劣ることを含む多くの潜在的限界が存在する。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0035】

【特許文献1】国際公開第2003/063847号

50

【特許文献2】国際公開第2002/064109号

【特許文献3】英国特許第2,495,118号

【特許文献4】国際公開第2011/121351号

【特許文献5】米国特許出願公開第2015/126595号

【特許文献6】カナダ特許第2,859,934号

【特許文献7】カナダ特許第2,737,447号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0036】

したがって、特定の発作亜型に対して活性および/または特異性を示すことができ、かつより低濃度で投与することができる他の化合物を見出すことが望ましい。これは、より少量の投与形態の利点を有し、また改良されたバイオアベイラビリティに伴ってより低用量を必要とし、かつ作用の発現がより速い。

10

【課題を解決するための手段】

【0037】

本発明の第一の態様によれば、癲癇の治療における使用のための治療に有効な量のカンナビジオール酸(CBDA)が提供される。

【0038】

一実施形態では、その癲癇は、全般性癲癇である。より好ましくは、その癲癇は、強直間代性発作によって特徴付けられる。

20

【0039】

治療に有効な量は、好ましくは少なくとも0.1mg、好ましくは少なくとも0.5mg、より好ましくは少なくとも1mg、より好ましくは更に少なくとも20mg以上である。

【0040】

使用されるCBDAは、CBDA含量が60%を超える生薬原薬の形態であり得、最も好ましくは、それは、CBDAが全抽出物の95%(w/w)を超え、96%(w/w)および97%(w/w)を超え、最も好ましくは98%(w/w)までを超えて存在し、かつ抽出物の他の成分が特徴付けられるような高度に精製された大麻の抽出物である。具体的には、カンナビノイドであるテトラヒドロカンナビノール(THC)またはテトラヒドロカンナビノール酸(THCA)が実質的に除去されている。好ましくは、この高度に精製された抽出物は、1%(w/w)未満のテトラヒドロカンナビノール(THC)またはテトラヒドロカンナビノール酸(THCA)を含む。

30

【0041】

あるいは、CBDAは、合成的に生成され得る。

【0042】

CBDAはまた、1つまたは複数の他のカンナビノイドと同時に使用され得る。好ましくは、CBDAは、CBDと共に使用される。

【0043】

CBDAをCBDと併用する場合、9:1~1:9(CBDA: CBD)の比が好ましい。比の範囲には、8:2~2:8(CBDA: CBD)、7:3~3:7(CBDA: CBD)、6:4~4:6(CBDA: CBD)、および1:1(CBDA: CBD)ならびにこれらの間の任意の範囲が含まれる。

40

【0044】

本発明の更なる実施形態ではCBDAは、1つまたは複数の他の抗癲癇薬(AED)と同時に使用される。

【0045】

CBDAは、1000mg未満の1日量で使用され得る。好ましくは、CBDAの1日量は、800mg未満、好ましくは600mg未満、より好ましくは400mg未満である。

50

【0046】

1日量は、200mg未満、100mg未満、またわずか10mgまたは1mgでもあり得る。

【0047】

カンナビノイドであるCBDAは、その中性形態であるCBDよりもバイオアベイラブルであるため、同じ徴候の治療の場合にCBDと比べてはるかに低い用量のCBDAを必要とするはずであると思われる。例えば、癲癇治療のためにヒトに20mg/kgの用量のCBDを与えるのが有効であるのに対し、CBDAの必要とされる用量は対数倍だけ減少させることができる。

【0048】

このようなより低い用量が治療において利点を有することは明らかである。

【0049】

更に、CBDAのこのより大きいバイオアベイラビリティは、CBDAがCBDよりも迅速に作用し得ることを意味する。換言すれば、このカンナビノイドであるCBDAは、CBDよりも低い T_{max} を有することができる。この性質は、CBDAをCBDと組み合わせることで含む有用な合剤をもたらすことができる。そのCBDAは、迅速な発現効果を与えるのに役立つことができ、一方、そのCBDは持続効果を与えるのに役立つことができる。

【0050】

CBDA対CBDの比で示される量（ここで、CBDAが支配的なカンナビノイドである）が想定され、それらには95:5~55:45（CBDA: CBD）の範囲が含まれる。

【0051】

あるいは、CBDAおよびCBDは、実質的に等しい量、すなわち55:45~45:55（CBDA: CBD）で存在することもできる。しかし、更なる実施形態では、CBDが支配的なカンナビノイドであり得、その範囲は45:55~20:80（CBDA: CBD）であり得る。

【0052】

更に、より高速で作用するCBDAが、急性発作または癲癇重積状態などの緊急の救急治療を必要とする癲癇の治療用の有用な候補である場合もある。好ましくは、そのCBDAは、非経口経路により、例えば静脈または筋肉中への注射によって投与される。

【0053】

本発明の第二の態様によれば、治療に有効な量のカンナビジオール酸（CBDA）を対象に投与することを含む、癲癇を治療する方法が提供される。

【0054】

好ましくは、その対象はヒトである。

【0055】

本発明の第三の態様によれば、治療に有効な量のカンナビジオール酸（CBDA）と、1つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む、癲癇の治療における使用のための組成物が提供される。

【0056】

この組成物は、経口服液剤、固体、半固体、ゲル、注射剤、スプレー、エアゾール剤、吸入剤（inhaler）、噴霧剤（vaporiser）、浣腸、または坐剤のうちの1つまたは複数として投与されることが想定される。このような薬剤は、経口、頬側、舌下、非経口、呼吸器、鼻、および遠位直腸の経路により投与することができる。

【0057】

定義

本発明を説明するために使用される用語の幾つかの定義を下記に詳述する。

【0058】

本出願において述べるカンナビノイドを、それらの標準的な省略形と共に下記に列挙す

10

20

30

40

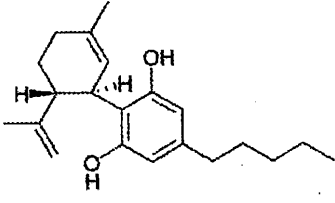
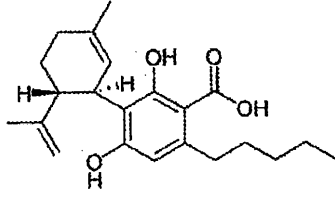
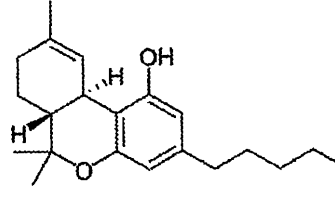
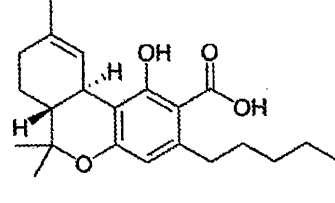
50

る。

【 0 0 5 9 】

【 表 5 】

表4.カンナビノイドおよびそれらの省略形

| | | | |
|------|----------------|--|----|
| CBD | カンナビジオール |  | 10 |
| CBDA | カンナビジオール酸 |  | 20 |
| THC | テトラヒドロカンナビノール |  | 30 |
| THCA | テトラヒドロカンナビノール酸 |  | |

【 0 0 6 0 】

上記の表は網羅的ではなく、本出願において参照のために特定されるカンナビノイドを単に詳述するに過ぎない。これまでに60種類を超える様々なカンナビノイドが同定されており、それらのカンナビノイドは、異なるグループ、すなわち植物性カンナビノイド、内在性カンナビノイド、および合成カンナビノイド（新規なカンナビノイド、または合成的に作られる植物性カンナビノイドもしくは内在性カンナビノイドであり得る）に分けることができる。

【 0 0 6 1 】

特許出願番号国際公開第2004/026857号パンフレットは、高度に精製されたCBDAの分析について記述している。このCBDAは、純度98%超になるように精製され、0.1%未満のCBD、0.3%のTHCA、および0.1%未満のTHCを含むと記載されている。

【 0 0 6 2 】

「植物性カンナビノイド」は、天然由来のカンナビノイドであり、大麻植物中に見出すことができる。植物性カンナビノイドは、植物から単離して高度に精製された抽出物を取り出すか、または合成的に複製することができる。

【 0 0 6 3 】

「高度に精製されたカンナビノイド抽出物」は、大麻植物から抽出され、かつその高度

50

に精製されたカンナビノイドが純度 98% (w/w) 以上になるようにカンナビノイドと一緒に共抽出される他のカンナビノイドおよび非カンナビノイド成分が実質的に除去される程度まで精製されたカンナビノイドと定義される。

【0064】

「合成カンナビノイド」は、カンナビノイドの構造またはカンナビノイドに類似した構造を有し、かつ植物によるのではなく化学的手段を使用して製造される化合物である。

【0065】

本発明の実施形態は、添付図面を参照して以下に更に記述される。

【図面の簡単な説明】

【0066】

【図1】発作および癲癇を体系化するための用語の改訂についての I L A E の提案 (2 0 1 0) を示す。

【図2 A - D】 P T Z に誘発される全般性発作に与えるカンナビノイドの影響を示す。

【図3】キイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) の細胞増殖に与える C B D A の影響を示す。

【図4】キイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) の細胞増殖に与える C B D の影響を示す。

【図5】キイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) の増殖に与える C B D A および C B D の影響の二次プロットを示す。

【図6】実施例3の C B D A 抽出物の H P L C トレースを示す。

【発明を実施するための形態】

【0067】

図の凡例

図2：パネル A ~ D は、発作強度 (A)、死亡率 (B)、強直間代性発作を示す動物の割合 (C)、および発作発症までの潜伏時間 (D) に与える C B D A (1 0 ~ 1 0 0 m g / k g)、C B D (1 0 0 m g / k g)、および C B D + C B D A (9 : 1 の比) の影響を例示する。パネル A において、発作強度の中央値は濃灰色の横線で表され、25% 値および 75% 値はブラックボックスで表され、またホイスクーは最小値と最大値とを表す。パネル D において発症の潜伏時間は、I Q R を伴う中央値として表される。統計的検定は、事後のマン・ホイットニーの U 検定を伴うクラスカル・ワリス検定 (パネル A および D)、または事後のフィッシャーの正確確率検定を伴う二乗検定 (パネル B および C) のいずれかを使用して行った。P 0 . 1 (#) ; P 0 . 0 5 (*) ; P 0 . 0 1 (* *) ; P 0 . 0 0 1 (* * *) ; n = 1 5 / グループ。

【0068】

図3：増殖が、0 . 0 2 μ M ~ 2 0 μ M の範囲の濃度の C B D A の存在下で 7 日間にわたって測定された。1 6 8 時間における細胞密度の二次プロットを使用して 0 . 3 0 μ M の I C 5 0 を計算した。

【0069】

図4：増殖が、0 . 2 5 μ M ~ 2 0 μ M の範囲の濃度の C B D (G W P h a r m a c e u t i c a l s から得た) の存在下で 7 日間にわたって測定された。1 4 4 時間における細胞密度の二次プロットを使用して 1 . 6 3 μ M の I C 5 0 を計算した。

【0070】

図5：カンナビノイドは、C B D A > C B D の効力順を有する。

【0071】

図6：H P L C トレースにおいて示された C B D A 生薬原薬は、6 2 . 4 % w / w の C B D A 含量を含み、測定された他のカンナビノイドには、6 . 9 % (w / w) の C B D、0 . 7 % (w / w) の T H C、および 0 . 5 % (w / w) のカンナビクロメン (C B C) が含まれた。

【実施例】

【0072】

10

20

30

40

50

実施例 1：全般性発作の急性ペンチレンテトラゾール (PTZ) モデルでの CBDA の *in vivo* 評価

材料および方法

動物

成体雄ウイスター京都ラットが発作の急性 PTZ モデルにおいて使用された (> P 24、70 ~ 110 g)。これらの動物は、1 ケージにつき 5 匹が湿度 50% で 12 : 12 時間の昼夜サイクル (0800 で点灯) の温熱調節室 (21) 中に収容され、標準的な実験動物用飼料 (PCD Mod C、Special Diet Services, Wiltam, UK) および水を自由摂取させた。すべての手順は、9 時 30 分 ~ 18 時 30 分 (white light hours) 中に行われた。

【0073】

医薬製剤

PTZ (Sigma-Aldrich, Poole, UK) 原液は、この実験手順の場合、0.9% w/v NaCl 中で作製された。CBD (バッチ番号、CBD-CG-1001; GW Pharmaceuticals, Salisbury, UK) および CBDA (バッチ番号、CBDA040912; GW Pharmaceuticals) 原料は、エタノール、クレモフォル、および生理的食塩水の 2 : 1 : 17 のビヒクル中で作製された。

【0074】

CBDA が、温度および/または製剤中の賦形剤のため、脱炭酸されて CBD になったかどうかを調べるために製剤の分析が行われた。分析は、CBDA が製剤化中に CBD に転化しなかったことを明らかにした。したがって、CBDA は製剤化中に変性せず、2 : 1 : 17 の比率をこの植物カンナビノイドの後の研究において使用することができる。

【0075】

全般性発作の PTZ 誘発モデル

PTZ は、GABA_A 受容体の t-ブチル-ピシクル-ホスホロチオナート部位と結合することにより GABA 阻害に拮抗する。更に、この化学的に誘発されるモデルは、欠発作に対して効果を示すことができる。PTZ (90 mg/kg) が、成体雄ウイスターラット (n = 15 / グループ) で発作を誘発させるために使用され、ラテン方格法を用いて実験用量をランダム化した。それらの動物を 6 L パースペックス槽中に置き、それらの環境に 10 分間慣れさせてから、ビヒクルに溶かしたカンナビノイド用量 (表 5 参照) または陰性対照の役割を果たすビヒクルのみのポリウムを合わせた用量のうちの 1 つを受けさせた。テスト化合物またはビヒクルを投与して 60 分後、動物に PTZ (90 mg/kg、i.p.) を注射して発作を誘発し、動物の行動を 30 分間記録した。

【0076】

【表 6】

表 5.カンナビノイドの用量

| | 用量 (mg/kg) | |
|----------|------------|-----|
| | CBDA | CBD |
| ビヒクル | - | - |
| CBDA | 10 | - |
| CBDA | 50 | - |
| CBDA | 100 | - |
| CBD | - | 100 |
| CBDA/CBD | 10 | 90 |

【0077】

P T Z に誘発された発作のビデオにより、全般性発作に適切な標準的な重症度評価尺度を用いてオフラインで評点を付けた（表 6）。

【 0 0 7 8 】

ヒト等価用量（H E D）は、下記の式を使用して推定することができる。

【 数 1 】

$$HED = \frac{\text{動物用量 (mg/kg)} \times \text{動物 } K_m}{\text{ヒト } K_m}$$

10

【 0 0 7 9 】

ラットの K_m は 6 であり、ヒトの K_m は 37 である。

【 0 0 8 0 】

イヌ（実施例 3）の K_m は 20 である。

【 0 0 8 1 】

したがって、ラットにおける 10 mg / kg 用量は、約 1.6 mg / kg のヒト用量に等しいことになる。ラットにおける 50 mg / kg 用量は、約 8.1 mg / kg のヒト用量に等しいことになる。ラットにおける 100 mg / kg 用量は、約 16.2 mg / kg のヒト用量に等しいことになる。

【 0 0 8 2 】

20

【 表 7 】

表 6. 発作強度の採点尺度

| 発作得点 | 行動の表現 | 立ち直り反射 |
|------|--------------------------|--------|
| 0 | 行動に変化なし | 保存される |
| 0.5 | 異常行動(スニッフイング、過剰な手洗い、見当識) | 保存される |
| 1 | 孤発ミオクローニー攣縮 | 保存される |
| 2 | 非定型間代性発作 | 保存される |
| 3 | 完全に発症した両側性前肢クローヌス | 保存される |
| 3.5 | 強直要素および身もだえを伴う前肢クローヌス | 保存される |
| 4 | 鎮静した強直期を伴う強直間代性発作 | 失われる |
| 5 | 完全に発症した強直間代性発作 | 失われる |

30

【 0 0 8 3 】

データ分析

40

特注の観測システムから得られる発作行動のビデオにより、Observer Video - Proソフトウェア（Noldus, Wageningen, The Netherlands）を使用して、PTZモデルに適切な発作尺度（表 6）に従ってオフラインで評点を付けた。発作のPTZモデルについて、観測者内および観測者間の行動得点の一致をObserver Video - Proソフトウェアの信頼性解析機能、すなわち1秒の公差窓；コーエンの係数 0.95を使用して評価した。

【 0 0 8 4 】

発作行動および発症の特異的マーカーを評価し、ビヒクル対照グループと薬物グループとの間で比較した。発作発症までの潜伏時間および強直間代性発作を発症した動物の割合を記録した（表 6 参照）。加えて、全般性発作の急性PTZモデルについて各グループの

50

最大発作強度および死亡率を求めた。

【0085】

統計解析

発作発症までの潜伏時間および最大発作強度に与える薬物の影響を、事後のマン・ホイットニーのU検定を伴うクラスカル・ワリス検定を使用して評価した。強直間代性発作を発症した動物の割合および死亡率に与える薬物の影響を、事後のフィッシャーの正確確率検定を伴う二乗検定を使用して評価した。すべての場合、 $P = 0.05$ を有意とみなした。

【0086】

結果

この実施例の目的は、全般性発作のPTZに誘発される急性モデルにおけるCBD Aの抗痙攣薬としての可能性を比較のCBD用量と対比して検討することであった。加えて、CBDとCBD Aとの間の相互作用の可能性を調べるために9:1の比率のCBDとCBD Aとが含まれた。

【0087】

カンナビノイドによる治療は、全般性発作の急性PTZ誘発モデルにおける発作強度を有意に低減させた(図2のパネルA; $H = 14.31$ 、 $P = 0.05$)。ここで、 100 mg/kg のCBD A ($P = 0.05$)およびCBD/CBD A比 ($P = 0.05$)は、ビヒクル対照と比べて有意な抗痙攣効果を示した。

【0088】

100 mg/kg のCBDの投与後、死亡率は有意に低減($P = 0.01$)し、また 100 mg/kg のCBD A ($P = 0.0656$)およびCBD/CBD A比 ($P = 0.0656$)についても有意な低減傾向が認められた(図2のパネルB; $X^2(6) = 30.51$ 、 $P = 0.0001$)。

【0089】

カンナビノイドによる治療はまた、強直間代性発作の発生率を有意に低減させ(図2のパネルC; $X^2(6) = 17.178$ 、 $P = 0.01$)、 100 mg/kg のCBD Aの投与は、強直間代性発作の低減の傾向をもたらした($P = 0.1$)。

【0090】

最後に、解析は、カンナビノイドの投与が、PTZ誘発モデルにおける発作発症までの潜伏時間に有意に影響を及ぼし、 100 mg/kg のCBD ($P = 0.05$)およびCBD/CBD A (比率9:1; $P = 0.05$)が発症までの潜伏時間を有意に増大させることを明らかにした(図2のパネルD; $H = 37.37$ 、 $P = 0.0001$)。一方、CBD A (100 mg/kg)は、発作発症までの潜伏時間を増大させる傾向を示した($P = 0.0929$)。

【0091】

結論

以前の研究により予想されたように、CBDは、急性の全般性発作のこのモデルにおいて抗痙攣効果を発揮し、したがって植物カンナビノイドの抗痙攣効果を明らかにするこのモデルの変わることのない有効性を実証した。

【0092】

とりわけ、測定された4つのパラメータのうち3つにおいてCBD Aは有意な抗痙攣効果を生じ、また等価用量ではCBDよりも統計的に効果的であった。

【0093】

例えば、図2のパネルAは、発作強度に与えるCBD AおよびCBDの効果について述べている。動物が 100 mg/kg のCBD Aで経験した最大発作強度に対する評点の中央値は3(表6、立ち直り反射が保存された完全に発症した両側性前肢クローヌス)であり、また 100 mg/kg のCBDに対する中央値は5(表6、立ち直り反射が失われた完全に発症した強直間代性発作)であった。これは、CBD Aが、CBDよりも動物が重篤な型の発作に罹るのを防ぐことができたことを示す。

10

20

30

40

50

【0094】

パネルCは、加えて、100mg/kgのCBDAが、100mg/kgのCBDと比較してより多くの動物において強直間代性発作の発症を防ぐことができたことを実証する。実際には、100mg/kgのCBDAについてのこのデータは、このパラメータにおける唯一の統計的に有意なデータであった。これは、CBDAが癲癇、特に強直間代性発作の発症の予防または治療においてCBDよりも有効であることを示唆する。

【0095】

CBDAとCBDとの例示的な9:1の比での同時投与は、この組合せも抗痙攣薬として有効であることを実証した。植物はCBDAを自然に産生し、これを脱炭酸することができるため、それは部分的に脱炭酸した植物カンナビノイドまたはその抽出物を定められた比率で使用することを可能にする。そのような比率は多くの理由で有益であり得る。それらには様々な型の発作を標的にすることが含まれ、例えば、癲癇の動物モデルでのそれらの様々な作用に基づき、部分発作に対してはCBD、また全般性発作に対してはCBDAが有利であり得る。また、これらの2つの化合物の親油性またはバイオアベイラビリティの違いは、組合せを様々な放出プロフィールに関して開発することを可能にすることができ、例えばCBDAはCBDよりも迅速に作用し、かつCBDよりも生物学的に利用可能である可能性がある(実施例3参照)。

10

【0096】

この実施例は、単離または高度に精製されたカンナビノイドCBDAが抗痙攣効果を有することを初めて実証し、したがって、その有効性の極限を決定するために発作および癲癇の他のモデルでの更なる検討が正当化される。

20

【0097】

CBDおよびCBDAが同様の機序によって作用するかどうか、また同様の効能を有するかどうかを考察するために、本出願人は、キイロタマホコリカビ(*Dictyostelium discoideum*)の新しいモデルに関して検討を行った。

【0098】

実施例2:キイロタマホコリカビ(*Dictyostelium discoideum*)モデルを使用したカンナビノイドの分子標的の特定およびそれらの癲癇における使用序文

キイロタマホコリカビ(*Dictyostelium discoideum*)は、生物医学モデル系としてアメリカ国立衛生研究所(National Institute of Health)によってリストアップされているアメーバである(Williams et al., 2006)。それは、核、ゴルジ、ミトコンドリア、および小胞体を備えた真核生物に特有の細胞構造を有し、その半数体ゲノムは、各タンパク質の記述、各タンパク質を欠く変異体の表現型、および関連する公開された物質を含む特徴が完全に明らかにされ、また注釈が付けられている(Dictybase.org)。キイロタマホコリカビ(*D. discoideum*)は、単細胞として液体培養で増殖させることも、または飢餓時に多細胞子実体の形成を伴う多細胞発達に進行させることもできる。

30

【0099】

キイロタマホコリカビ(*D. discoideum*)は、様々な薬物および化学薬品がそれらの効果を発揮する分子機序をより良く理解するために、より強力または安全な化合物を識別するために、またヒトタンパク質の細胞の役割の特徴を明らかにするために開発された。

40

【0100】

この一連の方法論は、分子薬理学および薬理遺伝学における様々な分野での価値のあるモデルとしてキイロタマホコリカビ(*D. discoideum*)を使用することを可能にした。これらの研究分野では、確立されているまたは新しい医薬品の主要な標的が不明確なことが多く、またそれら化合物が特徴を明らかにされないままのオフターゲットの副作用を有することも多い。それらは、高コストな後期段階での薬物漸減を引き起こし、また場合により患者の薬剤服用順守に影響を与えることがある。

50

【0101】

癲癇の研究において、キイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) は、バルプロ酸の分子効果を特定するために使用されており (Cunliffe et al. 2015; Chang et al. 2012)、*in vitro* および *in vivo* の哺乳動物モデルを翻訳してヒトの健康との関連性を実証してきた (Chang et al. 2012、2013、2014)。キイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) が、癲癇治療用の臨床的に適切な治療用化合物を識別するために使用され得ることは明らかである。

【0102】

この実施例は、発作制御と関連して2つのカンナビノイド (CBD および CBDA) の作用の分子機序を特定するためのキイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) の使用を実証する。

10

【0103】

材料および方法

増殖アッセイ

増殖アッセイに先立って野生型 ($A \times 2$) のキイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) 細胞を振盪培養 (HL5 培地中) で2日間増殖させた。細胞 ($495 \mu\text{l}$ の培地中の 9900 個) を 24 ウェルプレートの各ウェルに加え、DMSO に溶かした $5 \mu\text{l}$ のカンナビノイド (または DMSO 単独) を各ウェルに加えて各記載濃度 (1% の最終 DMSO 濃度) を達成し、細胞を 22°C で維持した。細胞の数を 72 時間目に、次いで 24 時間ごとに数えた。各濃度について4回の繰返しが使用された。

20

【0104】

発達アッセイ

発達アッセイに先立って野生型 ($A \times 2$) のキイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) 細胞を振盪培養 (HL5 培地中) で2日間増殖させた。細胞をリン酸塩緩衝液 (KK2; 20 mM リン酸カリウム緩衝液、 $\text{pH} 6.1$) 中で洗浄し、 1×10^7 個の細胞をニトロセルロースフィルター (Millipore, Cork) 上に広げた。4つに分割した吸収パッド (Millipore, Cork) を 2 ml の培養皿中に置き、 $20 \mu\text{M}$ のカンナビノイドを含有する 0.5 ml の KK2 を含ませた。 1 mM のバルプロ酸が陽性対照として使用され、一方、1% の DMSO を含有する KK2 が溶媒単独の対照として使用された。細胞を含有するニトロセルロースフィルターを4等分し、吸着パッド上に置き、湿度環境中で 22°C において 24 時間維持した。解剖顕微鏡およびカメラを使用して子実体の形態を記録した。

30

【0105】

生物情報学的分析

リストアップされたカンナビノイドの可能性のあるホモ・サピエンス (*H. sapiens*) タンパク質標的のアミノ酸配列は、ユニプロット (UniProt) (www.uniprot.org) から得た。キイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) ゲノムの相同性の検索は、dictybase.org で利用できるオンライン Basic Local Alignment Search (BLAST) アルゴリズムを使用して行った。TMHMM サーバー V. 2.0 膜貫通領域予測ソフトウェアを使用してキイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) のオルソログタンパク質内の可能性のある膜貫通領域を求めた。タンパク質機能にとって必要な高度に保存された残基を含有するタンパク質の領域は、ClustalW2 を使用する多重配列アライメントによって分析した。

40

【0106】

細菌プレートのスクリーニング

SM 寒天プレートが、CBDA または CBD をそれぞれ $12.3 \mu\text{M}$ および $16.7 \mu\text{M}$ の最終濃度まで加えて作製された。加熱殺菌 (75°C で 30 分間) したラオウルテラ・プランティコーラ (*R. planticola*) をプレート上に広げ、約 50 個の野生型

50

A × 2 細胞を加え、放置して 22 で増殖させた。プレートは定期的にコロニーが調べられた。

【0107】

変異 R E M I ライブラリーのスクリーニング

スクリーニングに先立って R E M I ライブラリー細胞を振盪培養 (H L 5 培地中) で 2 日間増殖させた。細胞 (2 m l の培地中に 25, 000 個) を 6 ウェルプレートの各ウェルに加え、放置して 20 分間附着させた。各ウェルからの培地を、4.88 μ M の C B D A または 9.47 μ M の C B D のいずれかを含有する培地と交換した。細胞は、3 週間かけて 3 回スクリーニングされ、培地を 2 日ごとに交換して 22 で維持された。可能性のある抵抗性変異株コロニーを単離し、細菌プレートに移した。同質遺伝子細胞系統を個々のコロニーから細菌プレート上に定着させた。

10

【0108】

個々の変異株の抵抗性の確認

ライブラリーのスクリーニングからの単離によるクローン細胞を液体培地 (H L 5 培地) 中で増殖させて集密 10 c m プレートを作った。細胞 (495 μ l の培地中に 10, 000 個) を 24 ウェルプレートの各ウェルに加え、DMSO に溶かした 5 μ l のカンナビノイドを各ウェルに加えて、4.88 μ M の C B D A または 9.47 μ M の C B D (1 % の最終 DMSO 濃度) のいずれかを達成し、細胞を 22 で維持した。細胞は、これらの 2 つのカンナビノイドに対するそれらの感受性を 1 週間にわたって監視された。

20

【0109】

結果

増殖アッセイ

まず、キイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) の増殖がカンナビノイド、すなわちカンナビジオール酸 (C B D A) およびカンナビジオール (C B D) に対して感受性であるかどうかを判定することが必要であった。これらの実験では、キイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) は、1 週間にわたる静止培養での増殖中にわたり一連の濃度範囲の各カンナビノイドにさらされた。2 つのカンナビノイドのすべてが、用量依存的にキイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) 細胞の増殖を阻害した (図 3 ~ 5) 。

30

【0110】

C B D A の増殖阻害定数 (I C 50) は 0.30 μ M であり (図 3)、0.08 μ M は細胞増殖を有意に阻害 ($P < 0.05$) し、また 20 μ M は増殖をブロックした。

【0111】

C B D の増殖阻害定数 (I C 50) は 1.63 μ M であり (図 4)、0.5 μ M は細胞増殖を有意に阻害 ($P < 0.05$) し、また 20 μ M は増殖をブロックした。

40

【0112】

2 つのすべてのカンナビノイドの I C 50 値の比較は、C B D A が最も強力であることを示唆し、C B D は 8.7 倍の効力の減少を示す。したがって、キイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) 細胞の増殖に及ぼすカンナビノイドの効力の順序は、C B D A > C B D である (図 5) 。

40

【0113】

発達アッセイ

C B D A および C B D がキイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) の発達に与える効果を調べた。これは、細胞増殖をブロックする濃度 (20 μ M) の C B D A または C B D の存在下において、栄養物が枯渇した環境中に細胞を置くことによって達成された。

【0114】

カンナビノイド不在下の 24 時間にわたるニトロセルロースフィルター上での細胞の発達は、茎によって底質より高い位置に保持された孢子頭部からなる子実体を生じさせた。この発達の形態は、広く使用されている抗癲癇薬のバルプロ酸 (1 m M) によってプロッ

50

クされることが知られており、その場合、細胞は集合することができたが、発達を遂げて子実体を形成することができなかった。

【0115】

これに対してC B D AまたはC B D (2 0 μ M) で処理されたキイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) 細胞は、集合し発達して成熟した子実体を形成することができた。

【0116】

生物情報学的分析

次いで、キイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) ゲノム内の可能性のあるオルソログを特定するためにホモ・サピエンス (*H . s a p i e n s*) におけるC B D A およびC B Dの既知の標的が探し求められた。最新の文献によれば、C B D A およびC B Dの21個の可能性のある哺乳動物の標的が公表されている。それぞれの可能性のある標的に対応するヒトのタンパク質配列を使用し、B L A S T分析と組み合わせて、キイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) ゲノムをオルソログの標的について検索した。このアプローチを使用して10個の可能性のあるキイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) のオルソログが特定された。タンパク質の配列およびサイズの類似性、ならびに触媒部位およびモチーフの保存に基づき、3つのタンパク質が更なる検討のために特定された。

10

【0117】

1：受動拡散型ヌクレオシド輸送体1 (E N T 1)。このタンパク質は、C B Dの可能性のある標的であり、アデノシン輸送で役割を果たす。キイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) は、3つの可能性のあるE N T 1オルソログを有し、3つのすべてがホモ・サピエンス (*H . s a p i e n s*) のタンパク質中に見いだされる推定上の複数回膜貫通構造を有する。この3つのキイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) のオルソログは、サイズが522、482、および430個のアミノ酸であり、456個のアミノ酸のホモ・サピエンス (*H . s a p i e n s*) のE N T 1タンパク質に類似しており、最初の膜貫通領域内に位置する高度に保存されたモチーフを含有する。このモチーフは、多くの他の種由来のこのタンパク質内に見いだされる。

20

【0118】

2：モノアシルグリセリドリパーゼ (M A G L a)。このタンパク質は、エンドカンナビノイド系に関与している。キイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) は、1つの可能性のあるM A G L aオルソログを有する。このオルソログは、303個のアミノ酸のホモ・サピエンス (*H . s a p i e n s*) のM A G L aタンパク質に類似したサイズの409個のアミノ酸である。このキイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) とホモ・サピエンス (*H . s a p i e n s*) との両方のタンパク質は、多くの他の種に広く保存されている酵素機能において重要な保存された触媒セリン、アスパラギン酸、およびヒスチジン残基を有する。

30

【0119】

3：ジアシルグリセロールリパーゼ (D A G L a)。このタンパク質は、エンドカンナビノイド系に関与している。キイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) は、3つの可能性のあるオルソログを有する。この3つのキイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) オルソログは、サイズが938、856、および826個のアミノ酸であり、1042個のアミノ酸のホモ・サピエンス (*H . s a p i e n s*) のD A G L aタンパク質よりもわずかに小さい。3つのキイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) オルソログのすべてが、触媒機能において重要な同じ保存されたセリンおよびアスパラギン酸の残基を有し、これらは多くの他の種に広く保存されている。

40

【0120】

細菌プレートのスクリーニング

ラオウルテラ・プランティコーラ (*R . p l a n t i c o l a*) 細菌プレート上でのキイロタマホコリカビ (*D . d i s c o i d e u m*) の増殖が、抵抗性R E M I変異ライブ

50

ライリー細胞を単離することができる実行可能な方法であるかどうかを判定した。野生型 A × 2 細胞を加熱殺菌したラオウルテラ・プランティコーラ (*R. planticola*) の SM 寒天プレート上で増殖させた。各 SM 寒天プレートは、それぞれ 12.3 μM および 16.7 μM の最終濃度の CBD A または CBD を含有した。4 日間のインキュベーション後、プレートを細胞生存 (コロニー増殖) に関して評価した。対照 (溶媒単独) と比較して、いずれのカンナビノイドについてもコロニー数の違いは見いだされなかった。

【0121】

変異 REMI ライブラリーのスクリーニング

次いで、液体培養での増殖中にカンナビノイドに対して抵抗性を示したライブラリー内で変異株が同定された。このライブラリー細胞を 4.88 μM の CBD A または 9.47 μM の CBD の存在下で 3 週間かけて増殖させた。2 週間後、部分的抵抗性細胞のコロニーが、ライブラリーから得たプレート中に目で見えた。それら部分抵抗性細胞を細菌プレートに移し、継代して各変異株が同質遺伝子型であることを確かめた。

10

【0122】

個々の変異株の抵抗性の確認

各細胞系統の抵抗性を確かめた。すべての細胞系統をそれぞれ 4.88 μM および 9.47 μM の最終濃度の CBD A または CBD のいずれかで処理し、1 週間後に評価した。同質遺伝子細胞系統は、様々なカンナビノイドに対して抵抗性の若干の重なりを示した。変異細胞は、各カンナビノイドに対して全く抵抗を示さない、弱い抵抗を示すまたは部分的抵抗を示すものとして分類される 3 つの基本的表現型を有することが示された。変異細胞はまた、1 つのカンナビノイドに対して抵抗性を有するか、複数のカンナビノイドに対して抵抗性を有するいずれかであることが分かった。

20

【0123】

結論

癲癇の新規の治療療法としてのカンナビノイドの開発は、健康改善の真の可能性をもたらす研究の魅力的な新しい分野を提供する。これら化合物がどのように発作をブロックするのかと、潜在的な副作用との両方を理解するために、これらの化合物の作用機序および相対的効能の包括的な理解が治療法の開発にとって不可欠である。これらの機序を特定するための従来のアプローチは、非常に複雑でありかつ緩慢である。代替のアプローチとしてキイロタマホコリカビ (*D. discoidium*) が、広く使用されている治療法であるバルプロ酸の機序を特定するために使用され、それは哺乳動物の *in vivo* モデルにおいて証明された。

30

【0124】

この今回の検討では、CBD A および CBD の 2 つのカンナビノイドがキイロタマホコリカビ (*D. discoidium*) の増殖をブロックすることを実証した。増殖に影響を与える濃度は低い μM 範囲であり、それは発作の動物モデルにおいて抗痙攣性であることが示されている濃度と等しい。これは、これらの 2 つのカンナビノイドのすべてにとっての標的がキイロタマホコリカビ (*D. discoidium*) ゲノム中に存在することを示唆する。これはまた、キイロタマホコリカビ (*D. discoidium*) の標的が、哺乳動物モデルで示されたカンナビノイドに対して類似した感受性を有することを示唆する。

40

【0125】

次いで、この増殖阻害効果は、これらのカンナビノイドの標的を特定するために先入観のないスクリーニングとして採用することができる。挿入変異株のライブラリーを使用して変異株のプールを各カンナビノイドの存在下で 21 日間かけて増殖させることができる。カンナビノイドの標的をコードする遺伝子中への挿入物のある変異株は、この増殖阻害に対して抵抗を示し、したがってスクリーニング中に感受性細胞に打ち勝つ可能性が高い。カンナビノイド抵抗性コロニー中の挿入により不活化された遺伝子の同定は、先入観のないアプローチにおいてこれらのカンナビノイドの分子標的 (および機序) を特定することになる。キイロタマホコリカビ (*D. discoidium*) でのこのスクリーニング

50

アプローチは、一連の化合物の標的および機序を特定するために使用されている。

【0126】

キイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) はまた、子実体の形成が細胞の集合および分化を伴う発達モデルとして広く使用される。薬理学的研究は、薬物の機序を特定するのにこの発達過程を使用してきた。ここで検討されたカンナビノイドに関して、2つの化合物のすべてが、増殖をブロックすることが分かっている濃度でキイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) の発達に影響を与えなかった。これは、第一に、キイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) 増殖のブロックが、細胞が発達し得るうえで有害ではないこと、したがってカンナビノイドの標的が細胞の増殖または分裂 (細胞質分裂) のブロックに関与している可能性があることを示唆している。これはまた、キイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) の発達がこれらの化合物の更なる検討のために使用できないことを示唆している。キイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) はまた、カンナビノイドの標的を特定する先入観のないアプローチと組み合わせて、既知の哺乳動物の標的を調べるための有用なモデルを提供する。

10

【0127】

合計25の変異細胞系統が増殖阻害に対して抵抗性を示すことが分かった。様々なカンナビノイドに対する一連の抵抗性表現型は、関係している複数の遺伝子が存在することを示唆する。

【0128】

実施例3：イヌにおける毒物学的検討に基づくCBDおよびCBDAのPKデータの比較
この検討の目的は、イヌに対する毎日の経口投与 (チューブによる投与) 後のCBD (実質的に純粋な化合物の形態 - 純度95%を超える) およびCBDA (生薬原薬の形態 - CBDAが全抽出物の60% w/wを超え、かつ全カンナビノイド含量の85% w/wを超える) の毒性を判定することであった。

20

【0129】

この検討は、任意の関係のある医薬品規制調和国際会議 (International Conference on Harmonisation) (ICH) の指針と共に欧州指令 (European Directive) 2001/83/ECおよびすべての後続の修正条項の周知の要求基準を満たすように設計された。

【0130】

動物に対してCBDまたはCBDAのいずれかの100mg/kgを投薬した後、1日目に0.5、1、2、4、6、および24時間の時点で毒物動態学用の血液試料 (公称0.5mL) をすべての動物から採取した。

30

【0131】

試料は、頸動脈から採取してヘパリンリチウム中に入れた。試料を手で静かに混合し、次いで自動ミキサー上で連続して少なくとも2分間混合し、遠心分離までクライオラック中に置いた。遠心分離は、できるだけ速やかに約4で行った。得られた血漿を微光条件下で分離し、一意的にラベル付けした透明なガラスバイアルに移し、遮光ボックス中に置き、直ちに -50°C で冷凍した。

【0132】

測定した毒物動態学的パラメータには、 C_{max} (ng/mL)、 T_{max} (h)、および AUC_{0-t} ($h \cdot ng/mL$) が含まれ、結果は、CBDAについて表7、CBD (雄) について表8、CBD (雌) について表9中に例示し、比較の C_{max} および AUC_{0-t} は、雄について表10、雌について表11に示す。

40

【0133】

結果

【0134】

【表 8】

表7

CBDAの平均的毒物動態学的パラメータは下記で示される:

| パラメータ | 時期 | n=3 | | | | | |
|----------------------------------|------|----------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | CBDA BDSの用量 (mg CBDA/kg/日) | | | | | |
| | | 50 | | 100 | | 300 | |
| | | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| AUC _{0-t} (時間×ng/mL) | 1日目 | 55600 | 149000 | 89500 | 179000 | 269000 | 172000 |
| | 28日目 | 71600 | 64100 | 116000 | 159000 | 94700 | 156000 |
| C _{max} (ng/mL) | 1日目 | 19100 | 21100 | 24900 | 38600 | 35000 | 27100 |
| | 28日目 | 15700 | 15000 | 23400 | 32500 | 17700 | 35900 |
| T _{max} (h) | 1日目 | 1 | 3 | 1.3 | 1.7 | 2.7 | 1.7 |
| | 28日目 | 1.7 | 2 | 1.5 | 1.7 | 9 | 1.3 |

a - 結果は別段の指定がない限り平均値として報告される

【 0 1 3 5 】

【表 9】

表 8

| 対象 | C _{max} (ng/mL) | t _{max} (時間) | t _{1/2} (時間) | AUC _{0-t} (時間× ng/mL) | AUC _{0-inf} (時間× ng/mL) | AUC _{ex} (%) | CL/F (mL/分/kg) | V _d /F (L/kg) |
|-------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------------------|--|--------------------------|-------------------|-----------------------------|
| 15 | 4570 | 6.0 | 7.7 | 51800 | 60500 | 14.3 | 27.5 | 18.4 |
| 16 | 3620 | 4.0 | 5.4 | 33000 | 35400 | 6.8 | 47.1 | 21.9 |
| 17 | 1400 | 6.0 | 8.5 | 17200 | 20300 | 15.1 | 82.1 | 60.5 |
| 18 | 2430 | 4.0 | 5.7 | 28700 | 31100 | 7.9 | 53.6 | 26.2 |
| 19 | 3090 | 8.0 | データ なし | 26400 | データなし | データ なし | データなし | データなし |
| 20 | 3960 | 6.0 | 8.6 | 47300 | 55300 | 14.5 | 30.1 | 22.3 |
| N | 6 | 6 | 5 | 6 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 平均値 | 3180 | データ なし | 7.2 | 34100 | 40500 | 11.7 | 48.1 | 29.9 |
| SD | 1140 | データ なし | 1.5 | 13100 | 16900 | 4.0 | 22.0 | 17.3 |
| 最小値 | 1400 | 4.0 | 5.4 | 17200 | 20300 | 6.8 | 27.5 | 18.4 |
| 中央値 | 3360 | 6.0 | 7.7 | 30800 | 35400 | 14.3 | 47.1 | 22.3 |
| 最大値 | 4570 | 8.0 | 8.6 | 51800 | 60500 | 15.1 | 82.1 | 60.5 |
| 幾何平均 | 2970 | データ なし | 7.0 | 31900 | 37600 | 11.1 | 44.4 | 27.0 |
| CV%幾何 平均 | 44.8 | データ なし | 23 | 42.2 | 46.9 | 39.6 | 46.9 | 49.5 |

【 0 1 3 6 】

【表 10】

表 9

| 対象 | C _{max} | t _{max} | t _{1/2} | AUC _{0-t} | AUC _{0-inf} | AUC _{ex} | CL/F | V _d /F |
|---------|------------------|------------------|------------------|--------------------|----------------------|-------------------|-----------|-------------------|
| | (ng/mL) | (時間) | (時間) | (時間× ng/mL) | (時間× ng/mL) | (%) | (mL/分/kg) | (L/kg) |
| 115 | 655 | 2.0 | 8.4 | 3000 | 3280 | 8.7 | 508 | 367 |
| 116 | 2520 | 2.0 | 6.6 | 20000 | 22400 | 10.6 | 74.5 | 42.9 |
| 117 | 1900 | 8.0 | データなし | 22600 | データなし | データなし | データなし | データなし |
| 118 | 411 | 1.0 | 4.5 | 2540 | 2640 | 3.7 | 632 | 247 |
| 119 | 3270 | 8.0 | データなし | 32400 | データなし | データなし | データなし | データなし |
| 120 | 3780 | 6.0 | 4.7 | 31300 | 32800 | 4.5 | 50.8 | 20.8 |
| N | 6 | 6 | 4 | 6 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 平均値 | 2090 | データなし | 6.1 | 18600 | 15300 | 6.9 | 316 | 169 |
| SD | 1370 | データなし | 1.8 | 13200 | 14800 | 3.3 | 297 | 167 |
| 最小値 | 411 | 1.0 | 4.5 | 2540 | 2640 | 3.7 | 50.8 | 20.8 |
| 中央値 | 2210 | 4.0 | 5.7 | 21300 | 12800 | 6.6 | 291 | 145 |
| 最大値 | 3780 | 8.0 | 8.4 | 32400 | 32800 | 10.6 | 632 | 367 |
| 幾何平均 | 1590 | データなし | 5.9 | 12300 | 8930 | 6.3 | 187 | 94.8 |
| CV%幾何平均 | 113 | データなし | 30 | 172 | 208 | 54.2 | 208 | 238 |

10

20

【0137】

【表 11】

表 10

| | CBDA (100mg/kg) | CBD (100mg/kg) |
|--------------------|-----------------|----------------|
| C _{max} | 24,900 | 3180 |
| AUC _{0-t} | 80,500 | 34,100 |

30

【0138】

【表 12】

表 11

| | CBDA (100mg/kg) | CBD レベル (100mg/kg) |
|--------------------|-----------------|-----------------------|
| C _{max} | 38,600 | 2090ng/mL |
| AUC _{0-t} | 179,000 | 18,600 ng/mL×時間 |

40

【0139】

結論

CBDと同量のCBDAは、CBDよりもきわめて有意に高い(1桁分だけ)C_{max}値およびAUC_{0-t}値をもたらし、これはCBDAがCBDより迅速に作用し、かつCBDよりもバイオアベイラブルであることを示唆していることが比較の表10および11から明らかであろう。これは、それが患者を治療することになる場合に重要な意義/利点

50

を有する。

【0140】

全体的な結論

要約すると実施例1、2、および3で提示されたデータは下記を実証する。

【0141】

CBD Aは、癲癇の哺乳動物モデルにおいて抗痙攣効果を有し、かつ全般性発作、より具体的には強直間代性発作の治療に有効である。実際、この化合物は、テストされたパラメータの多くにおいてCBDよりも有効であるように見える。

【0142】

CBD Aは、キイロタマホコリカビ (*D. discoideum*) の増殖に関してCBDと比べて有意により強力であり、またCBD Aは、CBDよりも迅速に作用しかつCBDよりもバイオアベイラブルである。

10

【0143】

これらの発見は、CBD AがCBDに代わる抗痙攣薬を提供することを実証するため、これは非常に重要である。CBD AがCBDよりも強力かつバイオアベイラブルであるという発見は、この有効成分のより少量の1日用量を癲癇の治療に使用し得ることを意味する。この点に関して、実施例3のPKおよびAUC_{0-t}のデータに基づいて400mg未満の用量、また場合により1mg~100mgもの少ない用量を使用してヒト対象を治療することができることが実施例3から明白である。この点に関して、一般的な成人患者は体重60kgであり、したがって、そのような患者の1日用量は0.016mg/kg

20

~1.6mg/kgであり得る。

【0144】

参考文献

Ames FR and Cridland S (1986). "Anticonvulsant effects of cannabidiol." *S Afr Med J* 69:14.

Chang, P., et al. "The antiepileptic drug valproic acid and other medium-chain fatty acids acutely reduce phosphoinositide levels independently of inositol in *Dictyostelium*." *Dis. Model. Mech.* 5.1 (2012): 115-24.

30

Chang, P., et al. "Seizure control by ketogenic diet-associated medium chain fatty acids." *Neuropharmacology* 69 (2013): 105-14.

Chang, P., M.C. Walker, and R.S. Williams. "Seizure-induced reduction in PIP3 levels contributes to seizure activity and is rescued by valproic acid." *Neurobiol. Dis.* 62 (2014): 296-306.

40

Consroe P, Martin P, Eisenstein D. (1977). "Anticonvulsant drug antagonism of delta-9-tetrahydrocannabinol induced seizures in rabbits." *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 16:1-13

Consroe P, Benedicto MA, Leite JR, Carlini EA, Mechoulam R. (1982). "Effects of cannabidiol on behavioural seizures caused by convulsant drugs or current in mice." *Eur*

50

- J Pharmacol. 83:293-8
- Cunha JM, Carlini EA, Pereira AE, Ramos OL, Pimental C, Gagliardi R et al. (1980). "Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patient." Pharmacology. 21:175-85
- Cunliffe, Baines, Giachello, Lin, Morgan, Reuber, Russell, Walker and Williams Epilepsy "Research Methods Update: Understanding the causes of epileptic seizures and identifying new treatments using non-mammalian model organisms". Seizure: European Journal of Epilepsy. 24C(2015):44-51. 10
- Eadie, MJ (December 2012). "Shortcomings in the current treatment of epilepsy." Expert Review of Neurotherapeutics 12(12):1419-27.
- Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Hauser WA, Matheron G, Moshe SL, Perucca E, Wiebe S, French J. (2009) "Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies." Epilepsia. 20
- Mechoulam R and Carlini EA (1978). "Toward drugs derived from cannabis." Die naturwissenschaften 65:174-9.
- Porter BE, Jacobson C (December 2013). "Report of a parent survey of cannabidiol-enriched cannabis use in paediatric treatment resistant epilepsy" Epilepsy Behaviour. 29(3)574-7 30
- Thurman, DJ; Beghi, E; Begley, CE; Berg, AT; Buchhalter, JR; Ding, D; Hesdorffer, DC; Hauser, WA; Kazis, L; Kobau, R; Kroner, B; Labiner, D; Liow, K; Logroscino, G; Medina, MT; Newton, CR; Parko, K; Paschal, A; Preux, PM; Sander, JW; Selassie, A; Theodore, W; Tomson, T; Wiebe, S; ILAE Commission on, Epidemiology (September 2011). "Standards for epidemiologic studies and surveillance of epilepsy." Epilepsia. 52 Suppl 7:2-26 40
- Williams, R.S., et al. "Towards a molecular understanding of human diseases using *Dictyostelium discoideum*." Trends Mol. Med. 12.9(2006):415-24.

【 図 1 】

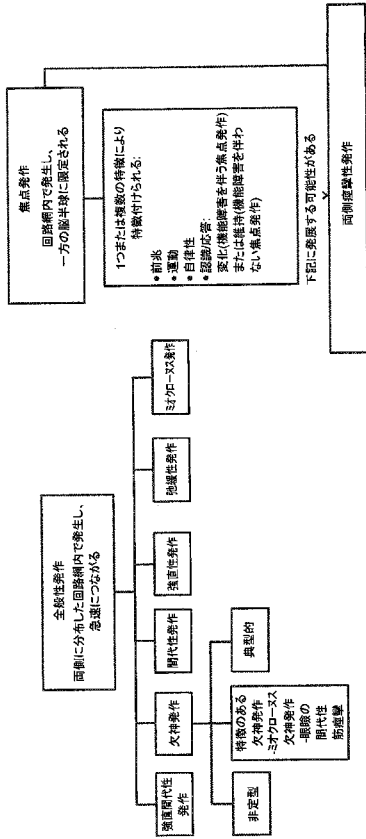


図 1

【 図 2 】

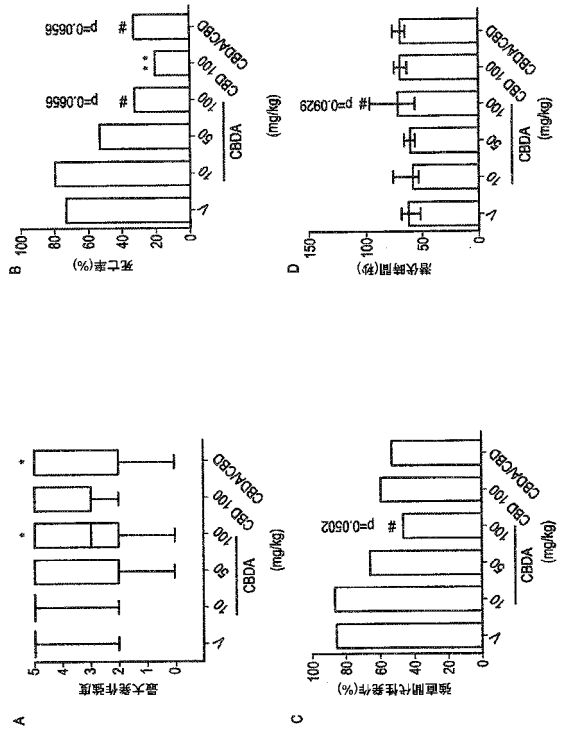


図 2

【 図 3 】

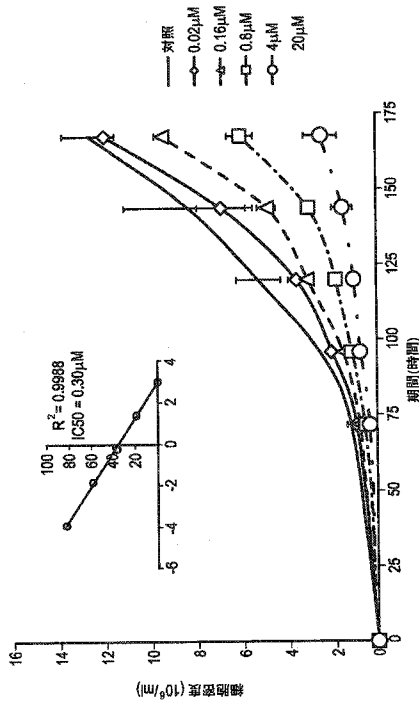


図 3

【 図 4 】

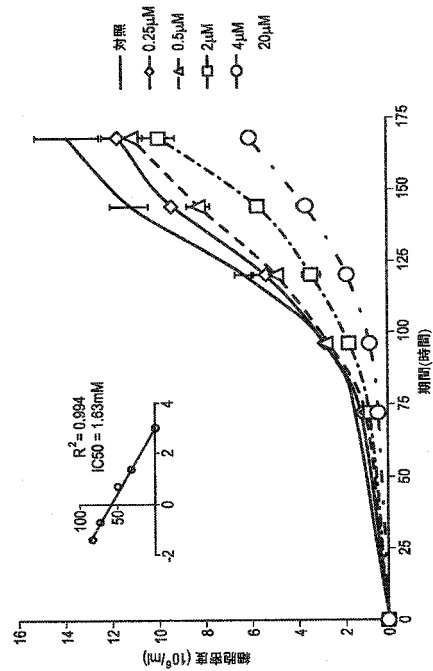


図 4

【 図 5 】

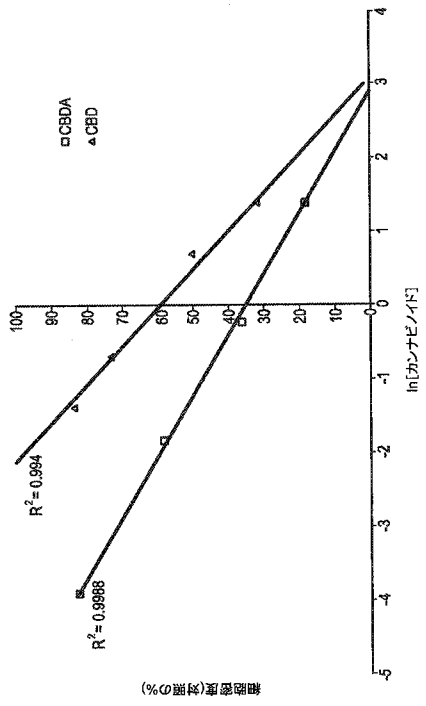


図 5

【 図 6 】

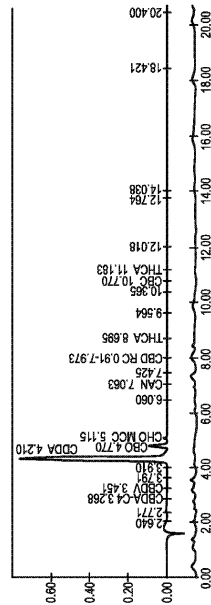


Fig. 6

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2016/052340

| | | |
|---|---|--|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K31/05 A61K45/06 A61K36/185 ADD. | | |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC | | |
| B. FIELDS SEARCHED | | |
| Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P | | |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched | | |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| Y | Gooley Rabinski: "CBD-A: Cannabidiol Acid Cannabinoid Profile Whaxy", 2 July 2015 (2015-07-02), XP055304877, Retrieved from the Internet: URL:https://www.whaxy.com/learn/can-the-CB D-A-cannabinoid-help-you [retrieved on 2016-09-22] the whole document ----- -/-- | 1-15 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. | | <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex. |
| * Special categories of cited documents : | | |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance | | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention |
| "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date | | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means | | "&" document member of the same patent family |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | | |
| Date of the actual completion of the international search 22 September 2016 | | Date of mailing of the international search report 25/10/2016 |
| Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016 | | Authorized officer Ansaldo, M |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2016/052340

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|---|-----------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| Y | <p>Fred Gardner: "Comes Now Epidiolex(TM) (FDA approves IND studies of CBD)", 22 October 2013 (2013-10-22), 19 January 2016 (2016-01-19), XP055242879, Retrieved from the Internet: URL: http://www.gwpharm.com/uploads/oshaughnessysarticle-comesnowepidiolex.pdf [retrieved on 2016] the whole document</p> <p>-----</p> | 1-15 |
| Y | <p>WO 2012/093255 A1 (GW PHARMA LTD [GB]; OTSUKA PHARMA CO LTD [JP]; WHALLEY BENJAMIN [GB];) 12 July 2012 (2012-07-12) abstract; claim 1</p> <p>-----</p> | 1-15 |
| Y | <p>PORTER BRENDA E ET AL: "Report of a parent survey of cannabidiol-enriched cannabis use in pediatric treatment-resistant epilepsy", EPILEPSY AND BEHAVIOR, vol. 29, no. 3, 1 December 2013 (2013-12-01), pages 574-577, XP028775189, ISSN: 1525-5050, DOI: 10.1016/J.YEBEH.2013.08.037 abstract</p> <p>-----</p> | 1-15 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2016/052340

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|------------------|
| WO 2012093255 A1 | 12-07-2012 | AR 084559 A1 | 22-05-2013 |
| | | CA 2822907 A1 | 12-07-2012 |
| | | CN 103391775 A | 13-11-2013 |
| | | CO 6731122 A2 | 15-08-2013 |
| | | EP 2661263 A1 | 13-11-2013 |
| | | GB 2487712 A | 08-08-2012 |
| | | JP 2014501271 A | 20-01-2014 |
| | | KR 20130132972 A | 05-12-2013 |
| | | NZ 613307 A | 27-11-2015 |
| | | RU 2013136378 A | 10-02-2015 |
| | | SG 191835 A1 | 30-08-2013 |
| | | TW 201306826 A | 16-02-2013 |
| | | US 2013296398 A1 | 07-11-2013 |
| | | WO 2012093255 A1 | 12-07-2012 |
| | | ZA 201305508 B | 30-04-2014 |

フロントページの続き

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

(72) 発明者 コリン・ストット

イギリス・ケンブリッジシャー・C B 2 4・9 B Z・ケンブリッジ・ヒストン・チバース・ウェイ・ヴィジョン・パーク・ソヴリン・ハウス・(番地なし)・ジードブリュー・ファーマ・リミテッド

(72) 発明者 ニコラス・ジョーンズ

イギリス・ケンブリッジシャー・C B 2 4・9 B Z・ケンブリッジ・ヒストン・チバース・ウェイ・ヴィジョン・パーク・ソヴリン・ハウス・(番地なし)・ジードブリュー・ファーマ・リミテッド

(72) 発明者 ロビン・ウィリアムズ

イギリス・サリー・T W 2 0・0 E X・エガム・ロイヤル・ホロウェイ・ユニヴァーシティ・オブ・ロンドン・スクール・オブ・バイオロジカル・サイエンス・センター・フォー・バイオメディカル・サイエンス

(72) 発明者 ベンジャミン・ウィアレイ

イギリス・バークシャー・R G 6・6 A P・レディング・レディング・ユニヴァーシティ・オブ・レディング・ホワイトナイツ・ホブキンズ・ライフ・サイエンス・ビルディング・スクール・オブ・ファーマシー

F ターム(参考) 4C086 AA01 AA02 BA08 DA18 GA16 GA17 MA01 MA02 MA04 MA12
 MA13 MA27 MA28 MA31 MA34 MA52 MA55 MA57 MA59 MA60
 MA66 NA05 NA12 NA14 ZA06 ZC41 ZC54 ZC75
 4C206 AA01 AA02 CA19 DA19 KA01 MA01 MA02 MA04 MA32 MA33
 MA47 MA48 MA51 MA54 MA72 MA75 MA77 MA79 MA80 MA86
 NA05 NA12 NA14 ZA06 ZC41 ZC54 ZC75