

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036044**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента

2020.09.17

(21) Номер заявки

201290975

(22) Дата подачи заявки

2011.03.30(51) Int. Cl. **A61K 31/05** (2006.01)**(54) ПРИМЕНЕНИЕ ФИТОКАННАБИНОИДА КАННАБИДИВАРИНА (CBDV) ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЭПИЛЕПСИИ**(31) **1005364.3; 1100042.9**(32) **2010.03.30; 2011.01.04**(33) **GB**(43) **2013.04.30**(86) **PCT/GB2011/050649**(87) **WO 2011/121351 2011.10.06**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

**ДжиДабЛю ФАРМА ЛИМИТЕД (GB);
ОЦУКА ФАРМАСЬЮТИКАЛ КО.,
ЛИМИТЕД (JP)**

(72) Изобретатель:

**Уэлли Бенджамин, Уилльямс Клэр,
Стефенс Гэри (GB), Фугамура Такаси
(JP), Хилл Томас (GB)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)(56) **WO-A1-2004016246****WO-A2-02064109****VP BHATT 1 * & DP VASHISHTHA 2:**

"Indigenous plants in traditional healthcare system in Kedarnath valley of western Himalaya", INDIAN JOURNAL OF TRADITIONAL KNOWLEDGE, RESOURCES, NEW DELHI, NEW DELHI - INDIA, vol. 7, no. 2, 1 April 2008 (2008-04-01), pages 300-310, XP018023991, ISSN: 0972-5938, abstract, page 302, table 1, section 1

WO-A1-2007083098

LONG LEONORA E ET AL.: "The pharmacological actions of cannabidiol", DRUGS OF THE FUTURE, PROUS SCIENCE, ES, vol. 30, no. 7, 1 July 2005 (2005-07-01), pages

747-753, XP002489015, ISSN: 0377-8282, DOI: DOI:10.1358/DOF.2005.030.07.915908, page 749, right-hand column, last paragraph - page 750, left-hand column, paragraph 2

WO-A1-03099302**CZAPINSKI P ET AL.:** "3-17-08 Randomized

36-month comparative study of valproic acid (VPA), phenytoin (PHT), phenobarbital (PB) and carbamazepine (CBZ) efficacy in patients with newly diagnosed epilepsy with partial complex seizures", JOURNAL OF NEUROLOGICAL SCIENCES, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHING CO, AMSTERDAM, NL, vol. 150, 1 September 1997 (1997-09-01), pages S162-S163, XP027386762, ISSN: 0022-510X [retrieved on 1997-09-01], the whole document

GABOR ET AL.: "Lorazepam versus phenobarbital: Candidates for drug of choice for treatment of status epilepticus", JOURNAL OF EPILEPSY, BUTTERWORTH-HEINEMANN, STONEHAM, MA, GB, vol. 3, no. 1, 1 January 1990 (1990-01-01), pages 3-6, XP024412168, ISSN: 0896-6974, DOI: DOI:10.1016/0896-6974(90)90070-F [retrieved on 1990-01-01] page 3, right-hand column, paragraph 4

WAHLE H ET AL.: "Development of tolerance to the anticonvulsant effect of valproate but not to ethosuximide in a rat model of absence epilepsy", EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY, ELSEVIER BV, NL, vol. 181, no. 1-2, 31 May 1990 (1990-05-31), pages 1-8, XP025566275, ISSN: 0014-2999, DOI: DOI:10.1016/0014-2999(90)90238-2 [retrieved on 1990-05-31], abstract

WO-A1-2009007697**WO-A2-2006054057**

(57) Настоящее изобретение относится к применению фитоканнабиноида каннабидиварина (CBDV) и комбинаций фитоканнабиноида CBDV с каннабидиолом (CBD) или со стандартными антиэпилептическими лекарственными средствами (SAED) для лечения эпилепсии.

036044 B1**036044 B1**

Настоящее изобретение относится к применению фитоканнабиноида каннабидиварина (CBDV) и к комбинациям фитоканнабиноида CBDV с каннабидиолом (CBD) для лечения эпилепсии. Изобретение относится также к применению фитоканнабиноида CBDV в комбинации со стандартными антиэпилептическими лекарственными средствами (SAED).

Предпочтительно CBDV применяют в комбинации с SAED, имеющим механизм действия, использующий натриевые или кальциевые каналы, более предпочтительно, с тем, который модифицирует низкопороговые или транзиторные нейрональные кальциевые каналы, например с этозуксимидом; или

уменьшает разряды высокочастотных импульсов нейронов и натрий-зависимые потенциалы действия и может дополнительно усиливать эффекты ГАМК, например, с вальпроатом.

Альтернативно CBDV используют в комбинации с SAED, имеющим механизм действия, который усиливает ГАМК-эргическое ингибирование, например, с фенобарбиталом.

Уровень техники

Эпилепсия представляет собой хроническое неврологическое расстройство, представляющее широкий спектр заболеваний, которым страдает приблизительно 50 млн человек во всем мире (Sander, 2003). Достижения в области изучения внутренней "эндоканнабиноидной" системы организма навели на мысль о том, что лекарственные средства на основе конопли могут обладать потенциалом для лечения указанного расстройства повышенной возбудимости центральной нервной системы (Mackie, 2006, Wingerchuk, 2004, Alger, 2006).

Для конопли описаны как проконвульсантные (Brust et al., 1992), так и противосудорожные эффекты. Следовательно, остается определить, представляют ли каннабиноиды достаточно данных, чтобы считать их недвусмысленными терапевтическими противосудорожными средствами, или наоборот, считать их потенциальным фактором риска для потребителей конопли в рекреационных или медицинских целях (Ferdinand et al., 2005).

В 1975 г. Consroe et al. описали случай молодого человека, у которого стандартное лечение (фенобарбитал и фенитоин) не контролировало припадки. Когда он начал неофициально курить коноплю, припадки прекратились. Однако когда он стал использовать одну только коноплю, припадки возобновились. Авторы сделали вывод о том, что "марихуана может обладать противосудорожным действием при эпилепсии у человека".

В исследовании Ng (1990) участвовала более обширная популяция из 308 пациентов, страдающих эпилепсией, которых госпитализировали после их первого припадка. Их сравнивали с контрольной популяцией из 294 пациентов, у которых не было припадков, и было установлено, что использование конопли, как представляется, уменьшает вероятность возникновения припадка. Однако данное исследование подверглось критике институтом медицинских сообщений (Institute of Medicine report) (1999 г.), который заявил, что оно "слабое", поскольку "исследование не включает в себя параметры состояния здоровья до госпитализации, а на различия в состоянии их здоровья мог повлиять скорее прием ими лекарственных средств", чем наоборот.

Два контролируемых исследования изучали противоэпилептический потенциал каннабидиола. В каждом из них каннабидиол давали в пероральной форме пациентам, страдавшим большими или локальными эпилептическими припадками.

Cunha et al. (1980) сообщили об исследовании с участием 16 пациентов, страдавших большими эпилептическими припадками, на которых не действовало обычное медикаментозное лечение. Они получали свое регулярное медикаментозное лечение, а также или 200-300 мг каннабидиола или плацебо. Из пациентов, которые получали CBD, у 3 наблюдалось полное улучшение, у 2 - частичное, у 2 незначительное, в то время как у 1 изменений не наблюдалось. Единственным нежелательным эффектом была легкая седация. Среди пациентов, получавших плацебо, у 1 наблюдалось улучшение, а у 7 изменений не наблюдалось.

Ames (1986) сообщил о менее успешном исследовании, в котором 12 пациентам с эпилепсией давали 200-300 мг каннабидиола в день, помимо стандартных противоэпилептических лекарственных средств. Значительного улучшения в отношении частоты припадков не наблюдалось.

Trembly et al. в 1990 г. осуществили открытое испытание с единственным пациентом, которому давали 900-1200 мг каннабидиола в день в течение 10 месяцев. У данного единственного пациента частота припадков значительно уменьшилась.

Помимо описаний, предполагающих, что CBD может иметь благоприятные свойства, существует сообщение (Davis and Ramsey) о введении тетрагидроканнабинола (THC) 5 помещенным в специальной лечебное учреждение детям, на которых не действовало стандартное лечение (фенобарбитал и фенитоин). У одного из них припадки полностью прекратились, у одного припадки прекратились почти полностью, а у остальных трех детей состояние не стало хуже, чем раньше.

В WO 2006/054057 предполагают, что каннабиноид тетрагидроканнабидиварин (THCV) может обладать свойствами противоэпилептического агента, что до некоторой степени подтверждают Thomas et al., 2005.

Заявка WO 2007/138322 показывает, что CBD представляет собой обратный агонист рецепторов CB1 и CB2, и предполагает, что указанное соединение и структурно родственные ему соединения, вклю-

чая CBDV, могут оказывать благоприятное терапевтическое действие при лечении широкого ряда состояний, в которых участвуют указанные рецепторы. Более конкретно указанные данные показывают, что каннабиноид CBD уменьшает массу тела крыс.

Однако другая работа, посвященная каннабиноидам, показала, что, несмотря на структурное сходство THCV с THC, указанные два соединения ведут себя по-разному с рецептором CB1, и, таким образом, из этого не следует, что пропиловые аналоги каннабиноидов будут вести себя аналогично их пентиловым эквивалентам.

Помимо этого в исследовании от 2007 г. Deshpande et al. установили, что антагонист CB1 римонабант является проконвульсантом; Указанное исследование продемонстрировало, что антагонизм по отношению к рецептору CB1 вызывает эпилептическую активность. Заключение указанного исследования таково: каннабиноиды, которые действуют как антагонисты рецептора CB1, могут быть непригодными в качестве противосудорожных лекарственных средств; на самом деле они могут обострять указанное состояние.

WO 2009/007697 описывает фармацевтическую композицию с THCV и CBD. Предполагается, что указанная композиция будет полезной при многих различных типах заболеваний, включая эпилепсию.

Заявка WO 2007/083098 описывает применение растительных экстрактов конопли, обладающих нейропротекторными свойствами. Каннабиноидные экстракты, содержащие THC и CBD, как было показано, являлись более эффективными, чем их чистые аналоги, в данной области медицины.

Заявка WO 02/064109 описывает фармацевтическую композицию, в которой использовались каннабиноиды THC и CBD. Заявка продолжает утверждать, что пропиловые аналоги указанных каннабиноидов также могут использоваться в композиции. С тех пор как была написана данная заявка, было показано, что THCV ведет себя иначе, чем THC, и, следовательно, предположение о том, что пропиловые аналоги каннабиноидов могут вести себя так же, как их пентиловые аналоги, в настоящее время не подтверждается.

Заявка GB 0911580.9 описывает применение THCV для лечения генерализованных припадков, а также описывает применение CBD в комбинации с THCV.

Однако существует более сорока распознаваемых типов эпилептического синдрома, частично благодаря склонности к припадкам, различающейся у разных пациентов (McCormick and Contreras, 2001, Lutz, 2004), и задачей является поиск лекарственных средств, эффективных при указанных различающихся между собой типах.

Нейронная активность является необходимым условием для должного функционирования головного мозга. Однако нарушение равновесия между возбуждением и торможением нейронной активности может индуцировать эпилептические припадки. Указанные эпилептические припадки можно классифицировать на две основные категории:

- a) парциальные и
- b) генерализованные припадки.

Парциальные припадки происходят из конкретных участков головного мозга и остаются локализованными, чаще всего из височных долей (содержащих гиппокамп), в то время как генерализованные припадки появляются во всем переднем мозге как вторичная генерализация парциального припадка (McCormick and Contreras, 2001, Lutz, 2004). Указанная концепция классификации парциальных и генерализованных припадков не получила общего признания на практике до тех пор, пока международная лига по борьбе с эпилепсией не опубликовала в 1969 г. схему классификации эпилептических припадков (Merlis, 1970, Gastaut, 1970, Dreifuss et al., 1981).

Международная лига по борьбе с эпилепсией дополнительно классифицировала парциальные припадки, разделяя их на простые и комплексные, в зависимости от наличия или нарушения бессознательного состояния (Dreifuss et al., 1981).

Лига также разделила категории "генерализованные припадки" на многочисленные клинические типы припадков, некоторые примеры которых перечислены ниже.

Абсансные припадки наблюдаются часто, имеют неожиданное начало и прекращение имевшейся на данный момент активности.

Помимо этого, речь замедляется или затрудняется, а продолжительность припадков составляет всего несколько секунд (Dreifuss et al., 1981).

Тонико-клонические припадки, часто называемые большими судорожными припадками, "гранд маль", наиболее часто встречаются при генерализованных припадках (Dreifuss et al., 1981). Указанные тип генерализованного припадков имеет две стадии: тонические сокращения мышц, за которыми следует клоническая стадия судорожных движений. Пациент остается без сознания в течение всего припадков и в течение непостоянного периода времени после него.

Атонические припадки, известные как "дроп-атаки", являются результатом внезапной потери мышечного тонуса конкретной мышцы, группы мышц или всех мышц тела (Dreifuss et al., 1981).

Появление эпилептических припадков может угрожать жизни; страдающие ими люди также имеют длительные осложнения (Lutz, 2004). Указанные осложнения могут принимать множество форм:

психические проблемы (например, предотвращение нормального развития глутаматергических си-

напсов в детстве);

когнитивные расстройства (например, уменьшение способности нейрональных цепей в гиппокампе к обучению и запоминанию);

морфологические изменения (например, селективная утрата нейронов в областях CA1 и CA3 гиппокампа у пациентов, имеющих мезиальную височную эпилепсию как результат эксайтотоксичности) (Swann, 2004, Avoli et al., 2005).

Заслуживает также внимание и то, что эпилепсия сильно влияет на образ жизни больного, потенциально живущего в страхе перед последующим повреждением (например, травмой головы) в результате припадка гранд маль, или неспособностью выполнять ежедневную работу, или неспособностью водить автомобиль, если только у него имеет место продолжительный период без припадков (Fisher et al., 2000).

Несмотря на историческую работу по CBD при эпилепсии в 1980-1990 гг., исследования, касающиеся противосудорожных средств, фокусировались на многих других кандидатах, многие из которых в настоящее время разрешены к применению для лечения эпилепсии. Указанные лекарственные средства включают ацетозоламид, карбамазепин, клобазам, клоназепам, этозуксимид, эсликарбазепина ацетат, габапентин, лакозамид, ламотрихин, леветирацетам, окскарбазепин, фенобарбитал, фенитоин, прегабалин, примидон, руфинамид, вальпроат натрия, тиагабин, топирамат, вальпроат, вигабатрин и зонисамид.

Механизм действия некоторых из перечисленных лекарственных средств известен, а других - нет. Некоторые механизмы действия представлены ниже в табл. 1 (адаптировано из Schachter SC. Treatment of seizures. Источник Schachter SC, Schomer DL, eds. The comprehensive evaluation and treatment of epilepsy. San Diego, CA: Academic Press; 1997, стр. 61-74).

Таблица 1

Антиэпилептическое лекарственное средство	Механизм действия	Участие натриевых или кальциевых или ГАМК-каналов
Барбитураты: примидон (мизолин), фенобарбитал	Усиливает ГАМК-эргическое ингибирование	ГАМК
Карбамазепин (тегретол, тегретол-XR, карбатрол)	Ингибирует вольтаж-зависимые натриевые каналы	Натриевые
Этозуксимид (заронтин)	Модифицирует низкопороговые или транзиторные нейрональные кальциевые каналы	Кальциевые
Фелбамат (фелбатол)	Не известен	
Габапентин (нейронтин)	Не известен	
Ламотриджин (ламиктал)	Ингибирует вольтаж-зависимые натриевые каналы, в результате чего уменьшается высвобождение возбуждающих нейротрансмиттеров глутамата и аспартата	Натриевые

Фенитоин (дилантин, фенитек)	Блокирует натрий-зависимые потенциалы действия; уменьшает захват кальция нейронами	Натриевые/кальциевые
Вальпроат (депакот, депакот ER, депакин, вальпроевая кислота)	Уменьшает разряды высокочастотных импульсов нейронов и натрий-зависимые потенциалы действия; усиливает эффекты ГАМК	Натриевые/ГАМК

Однако, несмотря на внедрение около двадцати различных соединений для лечения эпилепсии, в течение последних двадцати лет существует потребность в альтернативных лекарственных средствах по нескольким причинам:

- i) 1-2% мирового населения страдает эпилепсией (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/ppmc/articles/PMC1808496/>);
- ii) из них 30% не поддается лечению существующими лекарственными средствами;
- iii) также у существующих лекарственных средств имеют место значительные моторные побочные эффекты (<http://en.wikipedia.org/wiki/Epilepsy>).

Например, вальпроат и этозуксимид имеют выраженные моторные и другие побочные эффекты (включая седацию), когда их дают крысам в дозах, превышающих 200 мг/кг, а также фенобарбитал в дозах, превышающих 250 мг/кг, у крыс со смоделированной эпилепсией.

Тремя хорошо разработанными и широко используемыми моделями эпилепсии *in vivo* являются: индуцированная пентилентетразолом (PTZ) модель генерализованных припадков (Obay et al., 2007, Rauca et al., 2004);

индуцированная пилокарпином модель припадков височной доли (т.е. гиппокампа) (Pereira et al., 2007); индуцированная пенициллином модель парциальных припадков (Bostanci and Bagirici, 2006).

Это обеспечивает ряд моделей припадков и эпилепсии, существенный для терапевтических исследований у людей.

Целью настоящего изобретения является идентификация новых противосудорожных лекарственных средств для применения для лечения эпилепсии.

Предпочтительно новое противосудорожное лекарственное средство будет эффективным в областях, которые в настоящее время неадекватно обеспечиваются существующими лекарственными средствами, стандартными антиэпилептическими лекарственными средствами (SAED).

Предпочтительно новое противосудорожное лекарственное средство будет иметь более благоприятный профиль побочных эффектов, чем у существующих SAED, особенно, в том, что касается моторных побочных эффектов.

Кроме того, было бы желательно, чтобы соединения действовали параллельно со стандартными лекарственными средствами для лечения эпилепсии, адресуясь к неудовлетворенным потребностям и/или позволяя использовать более низкие дозы, противостоя таким образом некоторым неблагоприятным эффектам указанных существующих SAED.

Определения

"Фитоканнабиноиды" представляют собой каннабиноиды, которые имеют природное происхождение и могут быть найдены в растении конопля. Фитоканнабиноиды могут представлять собой изолированные каннабиноиды или присутствовать в виде ботанической лекарственной субстанции.

"Изолированный каннабиноид" определяется как фитоканнабиноид, который был экстрагирован из растения конопля и очищен до такой степени, при которой все дополнительные компоненты, такие как второстепенные и незначительные каннабиноиды и неканнабиноидная фракция, удалены.

"Ботаническая лекарственная субстанция" или "BDS" определяется в Guidance for Industry Botanical Drug Products Draft Guidance, август 2000 г., Департаментом здравоохранения США и администрацией по оценке и исследованиям лекарственных средств как "лекарственное средство, полученное из одного или более растений, водорослей или микроскопических грибов. Оно изготавливается из ботанических необработанных материалов с использованием одного или более следующих процессов: распыления, вываривания, отжима, экстрагирования водой, экстрагирования этанолом или других подобных процессов". Ботаническая лекарственная субстанция не включает в себя вещество высокой очистки или химически модифицированное вещество, полученное из натуральных источников. Таким образом, в случае конопля

BDS, полученное из растений конопли, не включают в себя каннабиноиды высокой очистки фармакопейного класса.

В настоящем изобретении считается, что BDS имеет два компонента: компонент, содержащий фитоканнабиноид, и компонент, не содержащий фитоканнабиноид. Предпочтительно компонент, содержащий фитоканнабиноид, представляет собой основной компонент, составляющий более 50% (мас./мас.) от всего BDS, а компонент, не содержащий фитоканнабиноид, представляет собой неосновной компонент, составляющий менее 50% (мас./мас.) от всего BDS.

Количество компонента, содержащего фитоканнабиноид, в BDS может быть более 55%, от 60, 65, 70, 75, 80 до 85% или более от общего экстракта. Истинное количество, вероятно, зависит от использованного исходного материала и использованного способа экстракции.

"Основной фитоканнабиноид" в BDS представляет собой фитоканнабиноид, который присутствует в количестве, которое превышает содержание других фитоканнабиноидов. Предпочтительно основной фитоканнабиноид присутствует в количестве, превышающем 40% (мас./мас.) от всего экстракта. Более предпочтительно основной фитоканнабиноид присутствует в количестве, превышающем 50% (мас./мас.) от всего экстракта. Еще более предпочтительно основной фитоканнабиноид присутствует в количестве, превышающем 60% (мас./мас.) от всего экстракта.

Количество основного фитоканнабиноида в BDS предпочтительно превышает 75% от фракции, содержащей фитоканнабиноид, более предпочтительно превышает 85% от фракции, содержащей фитоканнабиноид, и еще более предпочтительно превышает 95% от фракции, содержащей фитоканнабиноид.

В некоторых случаях, таких, где основной каннабиноид представляет собой CBDV или THCVA, количество основного фитоканнабиноида в BDS меньше. В данном случае количество фитоканнабиноида предпочтительно превышает 55% от фракции, содержащей фитоканнабиноид.

"Второстепенный фитоканнабиноид" в BDS представляет собой фитоканнабиноид (фитоканнабиноиды), который присутствует в значительных долях. Предпочтительно второстепенный фитоканнабиноид присутствует в количестве, превышающем 5% (мас./мас.) от всего экстракта, более предпочтительно в количестве, превышающем 10% (мас./мас.) от всего экстракта, еще более предпочтительно в количестве, превышающем 15% (мас./мас.) от всего экстракта. Некоторые BDS будут содержать два или более второстепенных фитоканнабиноидов, которые присутствуют в значительных количествах. Однако не все будут содержать второстепенный фитоканнабиноид. Например, CBG BDS в своем экстракте не содержит второстепенного фитоканнабиноида.

"Незначительный фитоканнабиноид (фитоканнабиноиды)" в BDS можно описать как остаток от всех фитоканнабиноидных компонентов после учета всех главных и второстепенных фитоканнабиноидов. Предпочтительно незначительные фитоканнабиноиды присутствуют в целом в количестве менее 10% (мас./мас.) от всего экстракта, более предпочтительно в количестве менее 5% (мас./мас.) от всего экстракта и наиболее предпочтительно в количестве менее 2% (мас./мас.) от всего экстракта.

Обычно компонент BDS, не содержащий фитоканнабиноид, включает терпены, стеринны, триглицериды, алканы, сквалены, токоферолы и каротиноиды.

Указанные компоненты могут играть важную роль в фармакологии BDS, как в отдельности, так и в комбинации с фитоканнабиноидом.

"Терпеновая фракция" может быть важной и может быть классифицирована по типу терпена - монотерпен или сесквитерпен. Указанные терпеновые компоненты можно дополнительно определить так же, как каннабиноиды.

Количество компонента, не содержащего фитоканнабиноид, в BDS может быть менее 45%, от 40, 35, 30, 25, 20 до 15% или менее от общего экстракта. Истинное количество, вероятно, зависит от использованного исходного материала и использованного способа экстракции.

"Основной монотерпен (монотерпены)" в BDS представляет собой монотерпен, который присутствует в количестве, которое превышает количество остальных монотерпенов. Предпочтительно основной монотерпен (монотерпены) присутствует в количестве, превышающем 20% (мас./мас.) от общего содержания терпенов. Более предпочтительно основной монотерпен присутствует в количестве, превышающем 30% (мас./мас.) от общего содержания терпенов, более предпочтительно в количестве, превышающем 40% (мас./мас.) от общего содержания терпенов и еще более предпочтительно в количестве, превышающем 50% (мас./мас.) от общего содержания терпенов. Основным монотерпеном предпочтительно является мирцен или пинен. В некоторых случаях могут присутствовать два основных монотерпена. В указанном случае основными монотерпенами предпочтительно являются пинен и/или мирцен.

"Основной сесквитерпен" в BDS представляет собой сесквитерпен, который присутствует в количестве, которое превышает количество всех остальных терпенов. Предпочтительно основной сесквитерпен присутствует в количестве, превышающем 20% (мас./мас.) от общего содержания терпенов, более предпочтительно в количестве, превышающем 30% (мас./мас.) от общего содержания терпенов. Основным сесквитерпеном предпочтительно является кариофиллен и/или гумулен.

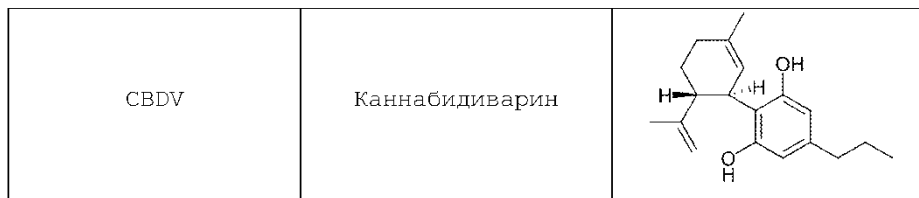
Сесквитерпеновые компоненты могут иметь "второстепенный сесквитерпен". Второстепенным монотерпеном предпочтительно является пинен, который предпочтительно присутствует в количестве, превышающем 5% (мас./мас.) от общего содержания терпенов, более предпочтительно второстепенный тер-

пен присутствует в количестве, превышающем 10% (мас./мас.) от общего содержания терпенов.

Второстепенным сесквитерпеном предпочтительно является гумулен, который предпочтительно присутствует в количестве, превышающем 5% (мас./мас.) от общего содержания терпенов, более предпочтительно второстепенный терпен присутствует в количестве, превышающем 10% (мас./мас.) от общего содержания терпенов.

Альтернативно ботанические экстракты можно изготавливать введением выделенных фитоканнабиноидов в неканнабиноидную растительную фракцию, которая может быть получена из растения, не содержащего каннабиноидов, или в BDS, не содержащее CBG.

Структура CBDV показана ниже.



Фитоканнабиноиды могут быть найдены или в нейтральной форме (декарбоксилированной форме), или в форме карбоновой кислоты, в зависимости от способа, использованного для экстракции каннабиноидов. Например, известно, что нагревание формы карбоновой кислоты приводит к тому, что подавляющая часть формы карбоновой кислоты декарбоксилируется с образованием нейтральной формы.

Фитоканнабиноиды могут также встречаться в пентиловом (5 атомов углерода) или пропиловом (3 атома углерода) варианте. Сначала полагали, что пропиловый и пентильный варианты должны обладать сходными свойствами, однако недавние исследования предполагают, что это не так. Например, известно, что фитоканнабиноид THC является агонистом рецептора CB1, в то время как пропиловый вариант THCV, как было установлено, является антагонистом рецептора CB1, что означает, что он имеет почти противоположные эффекты.

Это подтверждается Pertwee (2000) в источнике "Cannabinoid receptor ligands: clinical and neuropharmacological considerations relevant to future drug discovery and development", который описывает потенциальные терапевтические мишени для антагонистов рецепторов CB1, которые включают подавление аппетита, уменьшение связанной с L-допа дискинезии у пациентов с болезнью Паркинсона, контроль острой шизофрении и улучшение когнитивных расстройств памяти, связанных с болезнью Альцгеймера. Все указанные терапевтические мишени сильно отличаются от тех, которые предполагаются для агонистов рецепторов CB1, таких как стимуляция аппетита и уменьшение боли.

Предполагается, что композиция CBDV для клинической разработки будет доставляться перорально и содержать или CBDV BDS, или изолированный CBDV.

Величина стандартной дозы может изменяться в зависимости от типа и тяжести эпилепсии, подлежащей лечению. Каждая стандартная доза может включать в себя количество менее или равное 1000 мг CBDV, а количество доз для введения может также изменяться, чтобы удовлетворить потребности пациента.

Сущность изобретения

В соответствии с первым аспектом настоящее изобретение относится к применению терапевтически эффективного количества чистого фитоканнабиноида каннабидиварина (CBDV) для лечения эпилепсии.

Предпочтительно CBDV представлен в пероральной форме.

Предпочтительно тип эпилепсии, подлежащей лечению, представляет собой генерализованный припадок или припадок височной доли.

Важно, что на модели MES эпилепсии CBDV показал гораздо более высокую противосудорожную активность, чем CBD.

В соответствии со вторым аспектом настоящее изобретение относится к применению комбинации терапевтически эффективного количества чистого фитоканнабиноида каннабидиварина (CBDV) с каннабидиолом (CBD) для лечения эпилепсии.

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения CBDV применяют в комбинации со стандартным антиэпилептическим лекарственным средством (SAED). SAED может представлять собой агент, имеющий механизм действия, который использует натриевые или кальциевые каналы, более предпочтительно агент, который

модифицирует низкочастотные или транзиторные нейрональные кальциевые каналы, например этозуксимид; или

уменьшает разряды высокочастотных импульсов нейронов и натрий-зависимые потенциалы действия и может дополнительно усиливать эффекты ГАМК, например вальпроат.

Альтернативно SAED может представлять собой агент, имеющий механизм действия, который усиливает ГАМК-эргическое ингибирование, например фенбарбитал.

Комбинация может оказывать благоприятной в одном или более следующих эффектов:

а) уменьшение частоты тонико-клонических припадков;

- b) увеличение у пациента периода времени без припадков;
- c) увеличение латентности до возникновения припадков;
- d) уменьшение общей продолжительности припадков;
- e) уменьшение тяжести припадков и смертности от припадков;
- f) уменьшение моторных и других побочных эффектов (включая седацию), связанных с SAED.

Таким образом, комбинации особенно хорошо подходят для лечения состояний, обычно считающихся рефрактерными для существующего медикаментозного лечения. Комбинации, по-видимому, должны позволять использовать более низкие дозы SAED, чем при применении SAED в отдельности.

Краткое описание чертежей

Варианты осуществления настоящего изобретения далее описываются с использованием следующих чертежей, на которых:

- фиг. 1A-C показывает влияние CBDV на возникновение и развитие PTZ-индуцированных припадков;
- фиг. 2A-D показывает влияние CBDV на тяжесть припадков и смертность от припадков;
- фиг. 3A-C показывает влияние CBDV и этозуксимида на PTZ-индуцированные припадки;
- фиг. 4A-D показывает влияние CBDV и этозуксимида на частоту припадков и смертность от PTZ-индуцированных припадков;
- фиг. 5 показывает влияние CBDV и вальпроата на PTZ-индуцированные припадки (латентность до возникновения и продолжительность припадков);
- фиг. 6A, B показывает влияние CBDV и вальпроата на тяжесть припадков и смертность от PTZ-индуцированных припадков;
- фиг. 7A-D показывает влияние различных доз CBDV в отдельности на пилокарпин-индуцированные припадки (тяжесть припадков, смертность, продолжительность периодов без припадков и латентность до возникновения припадков);
- фиг. 8A-D показывает влияние различных доз CBDV на эпизоды припадков при пилокарпин-индуцированных припадках (количество эпизодов, тяжесть эпизодов, латентность до эпизодов и продолжительность эпизодов);
- фиг. 9A, B показывает влияние высокой дозы CBDV (200 мг/кг) и вальпроата на пилокарпин-индуцированные припадки (тяжесть и смертность);
- фиг. 10A, B показывает влияние высокой дозы CBDV (200 мг/кг) и вальпроата на пилокарпин-индуцированные припадки (билатеральная латентность и частота);
- фиг. 11A, B показывает влияние высокой дозы CBDV (200 мг/кг) и вальпроата на пилокарпин-индуцированные припадки (частота и продолжительность тонико-клонических судорог);
- фиг. 12A, B показывает влияние CBDV и фенобарбитала на пилокарпин-индуцированные припадки (тяжесть и смертность);
- фиг. 13A, B показывает влияние CBDV и фенобарбитала на пилокарпин-индуцированные припадки (продолжительность периодов без припадков и латентности до возникновения припадков);
- фиг. 14 показывает влияние THCv BDS и 70 мг/кг PTZ на латентности до тяжести первоначального и более поздних припадков;
- фиг. 15 показывает влияние THCv BDS и 70 мг/кг PTZ на продолжительность припадков и время до смерти;
- фиг. 16 показывает влияние THCv BDS и 70 мг/кг PTZ на медиану балла тяжести;
- фиг. 17 показывает влияние THCv BDS и 70 мг/кг PTZ на коэффициенты смертности;
- фиг. 18 показывает влияние THCv BDS и 80 мг/кг PTZ на латентности до тяжести первоначального и более поздних припадков;
- фиг. 19 показывает влияние THCv BDS и 80 мг/кг PTZ на продолжительность припадков и время до смерти;
- фиг. 20 показывает влияние THCv BDS и 80 мг/кг PTZ на медиану шкалы тяжести;
- фиг. 21 показывает влияние THCv BDS и 80 мг/кг PTZ на коэффициенты смертности;
- фиг. 22A-D показывает развитие и продолжительность PTZ-индуцированных припадков при применении изолированного THCv;
- фиг. 23A, B показывает влияние CBD на PTZ-индуцированные припадки;
- фиг. 24 показывает влияние носителя на испытания на аппарате ротарод;
- фиг. 25 показывает влияние CBDV на испытания на аппарате ротарод.

Описание к фиг. 1 A-C. Средняя латентность до возникновения припадков (A), клонических (B) и тонико-клонических (C) припадков в секундах. Статистическую значимость оценивали с использованием ANOVA и post hoc критерия Tukey; $p \leq 0,05$ считался достоверным в обоих случаях. Данные представлены \pm S.E.M., * обозначает $p < 0,05$.

Описание к фиг. 2. A: медиана тяжести припадков (серая линия), также показаны 25-й и 75-й процентиля (черные горизонтальные линии) и максимальные и минимальные величины (восходящее и нисходящее графическое изображение ошибки соответственно). B: доля животных в каждой группе, у которых развились тонико-клонические припадки. C: доля животных в каждой группе, которые погибли. D:

доля животных в каждой группе, у которых не наблюдалось припадков после введения PTZ. *, ** и *** обозначают $p \leq 0,05$, 0,01 и 0,001 соответственно. A: данные медианы, тестированные с использованием ANOVA и post hoc критерия Tukey. B-D: процентные доли, тестированные с использованием биномиального статистического критерия.

Описание к фиг. 3. A: латентность до возникновения: \pm S.E.M. B: тяжесть; медианные величины показаны красным, 25-й и 75-й процентиля представлены "коробками", а максимумы и минимумы в каждой группе - графическими изображениями ошибки. C: продолжительность припадков \pm S.E.M.

Описание к фиг. 4. A: влияние CBDV на долю животных, у которых по-прежнему не наблюдалось припадков (%). B и C: влияние CBDV на долю животных, у которых развились клонические (B) и тонико-клонические (C) припадки (%). D: влияние CBDV на смертность.

Описание к фиг. 7. A: влияние CBDV на общую тяжесть припадков, серые линии обозначают медиану тяжести для каждой группы, "коробки" представляют пределы 25-го и 75-го перцентилей, графические изображения ошибки представляют максимумы и минимумы. B, C: влияние CBDV на процентную долю смертности (B) и процентную долю животных, у которых по-прежнему не наблюдалось припадков (C). Отсутствием припадков считалась сумма баллов [1] или [0]. D: латентность до возникновения (\pm S.E.M.) в секундах до первой демонстрации тяжести припадков [2] или выше.

Описание к фиг. 8. A: среднее количество эпизодов припадков (на животное; были включены только животные, у которых имелись припадки). B: медиана тяжести для всех эпизодов в экспериментальной группе, см. фиг. 1 (PILO) на предмет описания диаграммы. C: латентность до 1-го эпизода (\pm S.E.M.) в секундах. D: средняя продолжительность всех эпизодов в экспериментальной группе (\pm S.E.M.).

Описание к фиг. 14. Показана средняя латентность до первого миоклонического судорожного подергивания (FMJ) и суммы баллов $3,5 \pm$ S.E.M. $n=8-10$.

Описание к фиг. 15. Показана средняя продолжительность припадков у животных, которые выжили, и время от первого признака припадков до смерти у животных, которые погибли, \pm S.E.M. для носителя или для низких, средних или высоких доз, $n=3-10$, в зависимости от долей животных, которые погибли, в пределах экспериментальных групп. $\int =$ в группе носителя смертей не было, и поэтому величины не представлены.

Описание к фиг. 16. Медианные суммы баллов тяжести для групп животных, получавших носитель или низкие, средние или высокие дозы, $n=10$ для всех групп.

Описание к фиг. 17. Коэффициенты смертности, выраженные в процентных долях, для животных, получавших носитель или низкие, средние или высокие дозы, $n=10$ для всех групп. $\int =$ в группе носителя смертей не было, поэтому величины не представлены.

Описание к фиг. 18. Показана средняя латентность до первого миоклонического судорожного подергивания (FMJ) и суммы баллов $3,5 \pm$ S.E.M. для носителя или для низких, средних или высоких доз, $n=7-10$.

Описание к фиг. 19. Показана средняя продолжительность припадков у животных, которые выжили, и время от первого признака припадков до смерти у животных, которые погибли, \pm S.E.M. для носителя или для низких, средних или высоких доз, $n=3-7$ в зависимости от долей животных, которые погибли, в пределах экспериментальных групп.

Описание к фиг. 20. Медианные суммы баллов тяжести для групп животных, получавших носитель или низкие, средние или высокие дозы, $n=10$ для всех групп.

Описание к фиг. 21. Коэффициенты смертности, выраженные в процентных долях, для животных, получавших носитель или низкие, средние или высокие дозы, $n=10$ для всех групп.

Описание к фиг. 22. A, B и C показывают среднюю латентность (в секундах) от инъекции 80 мг/кг PTZ до первого признака припадков (A); развития миоклонических припадков (B) и полных тонико-клонических припадков (C) для групп носителя и групп, получавших THCV, $n=5-16$, в зависимости от частоты каждого маркера в конкретной группе. D показывает среднюю продолжительность припадков (в секундах) у животных, которые выжили после припадков. Все величины \pm S.E.M., * обозначает значимую разницу по сравнению с группой носителя ($P < 0,05$; U-критерий Манна-Уитни).

Описание к фиг. 23. A: % смертности в результате и/п инъекции 80 мг/кг PTZ для животных, получавших носитель или CBD (1, 10, 100 мг/кг CBD), $n=15$ для всех групп. B: % животных, получавших носитель и CBD (1, 10, 100 мг/кг CBD), у которых наблюдались тонико-клонические припадки в результате и/п инъекции 80 мг/кг PTZ. * обозначает достоверный результат ($p < 0,01$).

Описание к фиг. 24. Медиана латентности до падения \pm S.E. с ротарода после введения физиологического раствора и 2:1:17 кремафора:этанол:физиологического раствора.

Описание к фиг. 25. Также представлена медиана латентности до падения с ротарода (серые столбики) с 25-м и 75-м процентилями (черные боксы) и максимальными и минимальными величинами (графические изображения ошибки).

Подробное описание

Примеры 1-5 ниже описывают применение изолированного CBDV в различных моделях эпилепсии. Дальнейшие примеры будут описывать фитоканнабиноид BDS, которая включает, помимо основного

каннабиноида, другие второстепенные и незначительные каннабиноид, а также нефитоканнабиноидную фракцию.

Пример 1. Применение изолированного CBDV в двух *in vitro* эпилептиформных моделях на гиппокампальных срезах головного мозга.

Гиппокампальные срезы получали в остром опыте от крыс P>21 Wistar, а активность записывали с использованием мультиэлектродных наборов (МЕА).

Для индукции эпилептиформной активности удаляли Mg^{2+} (модель без Mg^{2+}) или добавляли 100 мкМ 4-аминопиридин (модель 4-AP). Через 30 мин после появления вспышки эпилептиформной активности кумулятивно добавляли CBDV (1, 10, 100 мкМ; 30 мин каждая).

Измеряли влияние CBDV на амплитуду и продолжительность эпилептиформной вспышки (табл. 2.1).

В целом CBDV в концентрации ≥ 10 мкМ или 100 мкМ достоверно уменьшал продолжительность и амплитуду вспышки на обеих моделях; при этом области CA1 и DG были наиболее чувствительными, а CA3 - наименее чувствительной к антиэпилептиформным эффектам CBDV.

Таблица 2.1. Влияние CBDV на эпилептиформную активность, индуцированную на модели без Mg^{2+} и на модели 4-AP

	CBDV (мкМ)	Амплитуда вспышки (% от контроля)			Продолжительность вспышки (% от контроля)		
		DG	CA3	CA1	DG	CA3	CA1
Мо-дель без Mg^{2+}	1	89, 8±8, 6	112, 7±13, 7	82, 23±10, 4	90, 6±4, 5	101, 7±2, 3	99, 3±4, 5
	10	86, 4±3, 6*	104, 8±10, 3	79, 9±6, 9*	92, 0±3, 2*	93, 9±4, 1	91, 2±3, 8*
	100	79, 5±5, 6**	102, 9±13, 0	80, 4±8, 0*	75, 6±5, 4**	78, 5±6, 6*	74, 0±5, 8**
Мо-дель 4-AP	1	94, 2±3, 0	103, 0±5, 8	89, 3±5, 6	95, 7±5, 9	91, 0±6, 0	104, 3±8, 0
	10	91, 2±4, 9	121, 9±17, 0	88, 3±5, 2	83, 8±4, 4**	82, 5±4, 8*	85, 9±6, 2*
	100	95, 9±4, 3	110, 3±7, 0	89, 5±5, 3*	83, 4±4, 1**	79, 7±5, 4*	85, 9±5, 8*

Данные означают \pm S.E.M.; * = $p < 0,05$ и ** $p < 0,01$ соответственно, парный критерий Уилкоксона

Данные от 5 крыс/моделей, n=9-13 электродов

Пример 2. Применение изолированного CBDV на PTZ модели генерализованных припадков.

Методика: животные.

Использовали самцов крыс Wistar (P24-29; 75-110 г) для оценки эффектов фитоканнабиноида CBDV на PTZ модели генерализованных припадков. Животных приучали к месту испытаний, клетке, протоколу инъекций и обращению с ними перед экспериментом. Животных содержали в комнате при 21°C с 12-часовым циклом света и темноты (свет на 0900) при 50% влажности, при свободном доступе к корму и воде.

Эквивалент человеческой дозы (HED) можно определить с использованием следующей формулы:

$$HED = \text{Доза для животного (мг/кг)}, \text{ умноженная на}$$

$$\frac{K_m \text{ для животного}}{K_m \text{ для человека}}$$

K_m для крысы составляет 6, а K_m для человека составляет 37.

Таким образом, для человека с массой тела приблизительно 60 кг доза для крысы 200 мг/кг будет равняться суточной дозе для человека приблизительно 2000 мг.

Экспериментальное оборудование.

Пять 6-литровых резервуаров Perspex с крышкой помещали на лабораторный стол с перегородками между ними. Камеры видеонаблюдения (CCTV) монтировали на перегородках для наблюдения за поведением крыс. Камеры Sony Topica CCD (Bluecherry, США) соединяли кабелями BNC с PC с низким уровнем шума через цифровые карты захвата изображения Brooktree (Bluecherry, США). Для наблюдения за крысами использовали программу Zoneminder (<http://www.zoneminder.com>), начала и окончания записей и обработки видеофайлов. Использовали внутрифирменные программы Linux для кодирования видеофайлов в подходящий формат для дальнейшего оффлайн-анализа с использованием The Observer (Noldus Technologies).

PTZ модель.

Ряд доз PTZ (50-100 мг/кг массы тела) использовали для определения лучшей дозы для индукции припадков (см. ниже). В результате использовали интраперитонеально вводимую дозу 80 мг/кг (и/п; исходный раствор 50 мг/мл в 0,9% физиологическом растворе) для изучения CBDV.

Экспериментальные протоколы.

В день испытаний чистый CBDV вводили путем интраперитонеальной (и/п) инъекции в дозах 50, 100 и 200 мг/кг вместе с животными, которым инъецировали соответствующий объем носителя для кан-

набиноида (2:1:17 этанол:кремофор:0,9% мас./об. раствор NaCl), которые служили группой отрицательного контроля. За животными затем наблюдали в течение 1 ч, после чего они получали и/п инъекцию PTZ в дозе 80 мг/кг. Отрицательные контроли с носителем подвергались обработке параллельно с субъектами, получавшими каннабиноид. После введения дозы PTZ за животными наблюдали и снимали их на видео, чтобы определить тяжесть припадков и латентность до нескольких поведенческих типов при припадке (см. *in vivo* анализ ниже). Животных снимали в течение получаса после последнего признака припадков, а затем возвращали их в клетки.

Анализ *in vivo*.

За животными наблюдали во время процедуры эксперимента, но целиком анализ осуществляли офлайн на записанных видеофайлах, с использованием программы поведенческого анализа The Observer (Noldus, Нидерланды). Балльную шкалу тяжести припадков использовали для определения уровней припадков, перенесенного субъектами (Pohl & Mares, 1987). Все признаки припадков подробно описывались для всех животных.

Таблица 3.1. Балльная шкала тяжести припадков, адаптированная из Pohl & Mares, 1987

Балл припадков	Поведение	Рефлекс выпрямления
0	Поведение не изменено	Сохранен
0,5	Ненормальное поведение (фыркание, избыточное умывание, ориентация)	Сохранен
1	Отдельные миоклонические подергивания	Сохранен
2	Атипичный клонический припадок	Сохранен
3	Полностью развившийся двусторонний клонус передних конечностей	Сохранен
3,5	Клонус передних конечностей с тоническим компонентом и изгибания тела	Сохранен
4	Тонико-клонический припадок с подавленной тонической фазой	Утрачен
5	Полностью развившийся тонико-клонический припадок	Утрачен
6	Смерть	

Латентность от инъекции PTZ до специфических индикаторов развития припадков.

Записывали латентность (в секундах) от инъекции PTZ до первого миоклонического подергивания (FMJ; балл 1) и до развития у животного "клонуса передних конечностей с тоническим компонентом и изгибаний тела" (балл 3,5). FMJ является индикатором начала судорожной активности, пока >90% животных показывает баллы 3,5, и поэтому является хорошим маркером развития более тяжелых припадков. Данные представлены как среднее \pm S.E.M. в пределах экспериментальной группы.

Максимальная тяжесть припадков.

Представлена как медианная величина для каждой экспериментальной группы на основании шкалы расчетов, ниже.

Процент смертности.

Процентная доля животных в пределах экспериментальной группы, которые погибли в результате PTZ-индуцированных припадков. Отметим, что большинство животных, у которых развились тонико-клонические припадки (баллы 4 и 5), в результате погибли и что балл 6 (смерть) автоматически означает, что животное также перенесло тонико-клонические припадки.

Продолжительность припадков.

Время (в секундах) от первого признака припадков (обычно FMJ) до последнего признака припадков или, в случае смерти субъекта, до времени смерти - отдельно для животных, которые выжили, и животных, которые погибли. Представлено как среднее \pm S.E.M. для каждой экспериментальной группы.

Статистика.

Для измерений латентности и тяжести однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) осуществляли для четырех групп вместе (носитель и 50, 100 и 200 мг/кг CBDV) для выявления общих эффектов CBDV ($p \leq 0,05$ считали достоверным).

После достоверных результатов ANOVA осуществляли *post hoc* критерии для проверки разницы между группами носителя и группами лекарственного средства (критерий Такея, $p \leq 0,05$ считали достоверным).

Результаты.

Фиг. 1 иллюстрирует начало и развитие припадков, показывая латентность от введения 80 мг/кг PTZ до возникновения припадков (фиг. 1A); развития клонических припадков (фиг. 1B) и развития тонико-клонических припадков (фиг. 1C).

Наблюдалось достоверное влияние CBDV на латентность до возникновения припадков ($p=0,041$; фиг. 1A); это измерение было достоверно выше у животных, которые получали 200 мг/кг CBDV, чем у тех, которые получали только носитель ($p=0,03$).

Наблюдалось почти достоверное ($p=0,055$) влияние CBDV на латентность до клонических припадков, подчеркивая достоверное повышение у животных, которым вводили 200 мг/кг CBDV, по сравнению с животными, которым вводили только носитель ($p=0,032$).

Наблюдалось достоверное влияние CBDV в целом на латентность до тонико-клонических припадков или при любых конкретных дозах (фиг. 1C), несмотря на большую разницу в средней величине между группой носителя и группой 200 мг/кг CBDV; это происходило, вероятно, из-за небольшого количества животных, получавших 200 мг/кг CBDV, у которых развились указанные припадки.

Также оценивали тяжесть припадков у животных в различных группах с использованием четырех измерений: медианы тяжести (фиг. 2A); доли животных, у которых развились тонико-клонические припадки (наиболее тяжелый тип припадков; фиг. 2B); процента смертности (фиг. 2C) и, наконец, доли животных, у которых по-прежнему не наблюдалось припадков после введения PTZ (фиг. 2D).

Не наблюдалось общего достоверного влияния CBDV на тяжесть припадков ($p=0,007$; фиг. 2A); животные, которым вводили 200 мг/кг CBDV, имели достоверно более низкую медиану припадков, чем те, которым вводили только носитель ($p=0,014$).

Это отражалось более низкой долей животных, которым вводили 200 мг/кг CBDV, достигавших наиболее тяжелых (тонико-клонических) припадков (3 из 15) по сравнению с животными, получавшими носитель (8 из 15; фиг. 2B; $p=0,01$).

Указанный достоверный эффект сохранялся у животных, получавших 100 мг/кг CBDV (у 4 из 15 тонико-клонические припадки; $p=0,036$), но не 50 мг/кг.

Достоверно меньшая доля животных, получавших 100 и 200 мг/кг CBDV (1 и 2 из 15 соответственно), погибла по сравнению с группой, получавшей носитель (8 из 15; $p=0,002$ и $<0,001$ соответственно; фиг. 2C).

И, наконец, у достоверно более высокой процентной доли животных, получавших 200 мг/кг CBDV, припадков не наблюдалось вовсе (5 из 15) по сравнению с группой, получавшей носитель (1 из 15; $p=0,003$; фиг. 2D).

Выводы.

Из приведенных выше данных представляется, что CBDV демонстрирует высокий потенциал в качестве антиэпилептического лекарственного средства.

Пример 3. Применение изолированного CBDV со стандартными антиэпилептическими лекарственными средствами (SAED) на PTZ модели генерализованных припадков.

Методика.

Как описано в примере 2 выше. Различные дозы SAED этозуксимида и вальпроата испытывали в комбинации с изолированным CBDV в дозе 200 мг/кг.

Результаты.

Фиг. 3 и 4 детализируют применение SAED этозуксимида (лекарственного средства, действующего через кальциевые каналы) с изолированным CBDV. Несмотря на то, что комбинация двух компонентов увеличивала латентность до возникновения, уменьшала продолжительность припадков, увеличивала количество животных без припадков и уменьшала тонические/клонические припадки, не наблюдалось статистически значимого взаимодействия между двумя соединениями. CBDV давал сходные результаты с вальпроатом по смертности, однако достоверно CBDV был способен уменьшать тяжесть эпилепсии в большей степени, чем существующее антиэпилептическое лекарственное средство вальпроат.

Фиг. 5 и 6 детализируют применение SAED вальпроата (лекарственного средства, действующего через натриевые каналы) с изолированным CBDV. При совместном введении вальпроат и CBDV независимо индуцировали достоверное уменьшение латентности до возникновения, тяжести припадков и смертности, хотя при комбинированном введении синергических эффектов не наблюдалось.

Обе совокупности результатов указывают на преимущества их применения в комбинации.

Пример 4. Применение изолированного CBDV на пилокарпиновой модели эпилепсии.

Методика.

Изолированный CBDV вводили интраперитонеально (и/п) в стандартном носителе (1:1:18 этанол:кремофор:0,9% мас./об. NaCl) в дозах 50, 100 и 200 мг/кг одновременно с животными, которые получали только носитель в аналогичном объеме. Спустя 15 мин вводили метилскополамин (1 мг/кг; для уменьшения периферических мускариновых эффектов пилокарпина), 45 мин спустя вводили пилокарпин

(380 мг/кг, и/п).

Результаты.

Фиг. 7 и 8 детализируют влияние CBDV на пилокарпин-индуцированные припадки. Как можно видеть, более низкие дозы CBDV (50 и 100 мг/кг) уменьшали смертность.

Пример 5. Применение изолированного CBDV со стандартными антиэпилептическими лекарственными средствами (SAED) на пилокарпиновой модели эпилепсии.

Методика.

Как описано в примере 4 выше, SAED вальпроат и фенобарбитал использовали в различных дозах вместе с изолированным CBDV в дозе 200 мг/кг. Указанные два лекарственных средства являются типичными представителями двух классов противосудорожных лекарственных средств, которые имеют отличающиеся друг от друга механизмы действия. Вальпроат действует через посредство натриевых каналов, а фенобарбитал усиливает ГАМК-эргическое ингибирование.

Результаты.

Фиг. 9 детализирует данные, полученные, когда CBDV применяли в комбинации с SAED вальпроатом. И CBDV, и вальпроат оказывали независимое и положительное влияние на тяжесть припадков, хотя только CBDV, а не вальпроат независимо вызывал значительное уменьшение смертности. Комбинация CBDV с вальпроатом увеличивала латентность до припадка и уменьшала частоту припадков. Однако указанные данные не были статистически значимыми.

Фиг. 10 детализирует дополнительные данные, полученные, когда CBDV применяли в комбинации с SAED вальпроатом. Они показывают, что частота билатеральных припадков была достоверно уменьшена при использовании CBDV (особенно с высокой дозой вальпроата, 250 мг/кг).

Фиг. 11 детализирует дополнительные данные, полученные, когда CBDV применяли в комбинации с SAED вальпроатом. Они показывают, что частота тонических/клонических припадков и общая продолжительность тонических/клонических припадков уменьшалась, когда CBDV применяли в комбинации со всеми дозами вальпроата, и что взаимодействие CBDV (в отдельности) с тонико-клоническими припадками было статистически значимым.

Фиг. 12 детализирует данные, полученные, когда CBDV применяли в комбинации с SAED фенобарбиталом. Как можно видеть, CBDV достоверно уменьшает тяжесть, и комбинация также является значимой.

Фиг. 13 детализирует дополнительные данные, полученные, когда CBDV применяли в комбинации с SAED фенобарбиталом. Хотя данные не демонстрируют статистической достоверности, наблюдалась выраженная тенденция, особенно при более низких уровнях доз фенобарбитала, к увеличению количества животных без припадков и латентности до возникновения.

Пример 6. Анализ каннабиноидных ботанических лекарственных субстанций.

Как описано в следующем примере, CBDV BDS включает, помимо CBDV, каннабиноиды CBD и THCv. Принимая во внимание открытие, описанное в GB 0911580.9, которое заключается в том, что CBD и THCv имеют противосудорожную активность, экстракт CBDV, содержащий помимо CBDV, CBD и THCv, делает его потенциально более интересным, чем изолированный CBDV, особенно поскольку экстракты могут содержать лишь очень маленькие количества THC.

Анализ ботанических лекарственных субстанций, содержащих каннабидиварин (CBDV).

CBDV BDS можно получить из экстрактов растений с высоким содержанием CBDV. Указанные хемовары выведены специально для продукции значительной доли своих каннабиноидов, таких как CBDV.

CBDV BDS также можно изготовить добавлением изолированного CBDV к не содержащей каннабиноидов BDS. Указанную не содержащую каннабиноидов BDS можно изготовить из CBG BDS или каннабиноидного растения зеро, такого как USO-31. Поскольку CBG представляет собой основной каннабиноид, присутствующий в CBG BDS, возможно относительно легко удалить имеющийся CBG с использованием стандартных методик, известных специалистам, таким как колоночная хроматография. Возможно фракционировать BDS полностью таким образом, что отдельные компоненты можно удалить для очистки, а остальные вновь объединить для изготовления после удаления растворителя, BDS, не содержащей выбранного соединения (соединений).

Хемотип CBDV получается при разведении растений, которые несут оба предполагаемых гена, B_D и A_{PR} .

Ген B_D заставляет растения синтезировать циклическую часть молекулы CBD, а ген A_{PR} заставляет растение синтезировать указанную молекулу с пропильной боковой цепью, в противоположность обычной пентильной цепи, найденной в CBD.

Был выведен хемовар CBDV, и анализ BDS представлен в табл. 4.1, ниже.

Таблица 4.1. Содержащая каннабидиварин BDS: общие количества и пределы

CBDV BDS	Количество (%масс./ масс.)	Пределы (±10%)	Пределы (±25%)	Пределы (±50%)
CBDVA	0,14	0,13-0,15	0,11-0,18	0,07-0,21
CBDV	41,19	37,07-45,31	30,89-51,49	20,60-61,79
CBDA	0,07	0,06-0,08	0,05-0,09	0,04-0,11
CBG	0,59	0,53-0,65	0,44-0,74	0,30-0,89
CBD	17,70	15,93-19,47	13,28-22,13	8,85-26,55
THCV	3,06	2,75-6,12	2,30-3,83	1,53-4,59
CBCV	4,35	3,92-4,79	3,26-5,44	2,18-6,53
THC	0,88	0,79-0,97	0,66-1,10	0,44-1,32
CBDV (родственные субстанции)	2,20	1,98-2,42	1,65-2,75	1,10-3,30
CBC	0,93	0,84-1,02	0,70-1,16	0,47-1,40
Всего каннабиноидов	71,11			
Всего неканнаби- ноидов	28,89			

Общая содержащая фитоканнабиноиды фракция CBDV BDS включает в себя приблизительно 41% от всей BDS. Указанная фракция может варьироваться от ±10% до ±50%.

Таблица 4.2. Содержащая каннабидиварин BDS: процентные доли каннабиноидов

CBDV BDS	Количество (% от всех каннабиноидов)
CBDVA	0,20
CBDV	57,92
CBDA	0,10
CBG	0,83
CBD	24,89
THCV	4,30
CBCV	6,12
THC	1,24
CBDV (родственные субстанции)	3,09
CBC	1,31

Количество основного фитоканнабиноида в CBDV BDS как процентной доли фракции, содержащей фитоканнабиноиды, составляет приблизительно 58%. Указанная фракция может варьироваться от ±10% до ±50%.

В данном примере упоминаются основные или второстепенные компоненты независимо от "остальных" каннабиноидов.

Открытие того факта, что CBDV BDS включает известные антиэпилептические фитоканнабиноиды CBD и THCV в относительно больших количествах и относительно мало THC по сравнению с экстрактом THCV ниже, предполагает, что применение CBDV в форме BDS будет являться многообещающим новым лекарственным средством для лечения эпилепсии.

Анализ ботанических лекарственных субстанций, содержащих тетрагидроканнабидиварин (THCV).

Табл. 4.3 ниже детализирует каннабиноидные компоненты THCV BDS; как можно видеть, второстепенным каннабиноидом является THC. И он представлен в значительном количестве по сравнению с другими каннабиноидами.

Таблица 4.3. Содержащая тетрагидроканнабиварин BDS: общие количества и пределы

THCV BDS	Количество (%масс./ масс.)	Пределы (±10%)	Пределы (±25%)	Пределы (±50%)
CBGV	0,15	0,14-0,17	0,11-0,19	0,07-0,23
CBNV	1,30	1,20-1,40	1,00-1,60	0,65-1,95
THCV	64,49	58,04-70,94	48,37-80,61	32,25-96,74
CBCV	0,65	0,59-0,72	0,49-0,81	0,33-0,98
THC-C4	0,82	0,74-0,90	0,62-1,03	0,41-1,23
CBN	0,15	0,14-0,17	0,11 -0,19	0,07-0,23
THCVA	0,36	0,32-0,40	0,27-0,45	0,18-0,54
THC	13,43	12,09-14,77	10,07-16,79	7,72-20,15
Неизвестные	0,58	0,52-0,64	0,44-0,73	0,29-0,87
Всего каннабиноидов	81,93			
Всего неканнаби- ноидов	18,07			

Общая содержащая фитоканнабиноиды фракция THCV BDS включает в себя приблизительно 74-90% (мас./мас.) от всей BDS.

Таблица 4.4. Содержащая тетрагидроканнабиварин BDS: процентные доли каннабиноидов

THCV BDS	Количество (% от всех каннабиноидов)
CBGV	0,18
CBNV	1,59
THCV	78,71
CBCV	0,79
THC-C4	1,00
CBN	0,18
THCVA	0,44
THC	16,39
Неизвестные	0,71

Количество основного фитоканнабиноида в THCV BDS как процентной доли фракции, содержащей фитоканнабиноиды, составляет приблизительно 71-87% (мас./мас.). THCV BDS также имеет второстепенный каннабиноид THC, который присутствует в количестве приблизительно 14,8-18% (мас./мас.) от фракции, содержащей фитоканнабиноиды.

Неканнабиноидные компоненты.

Неканнабиноидные компоненты фитоканнабиноидной BDS могут играть важную роль в фармакологии BDS. В качестве таковых ниже приводится классификации терпенового профиля. Следующие таблицы иллюстрируют терпеновый профиль хемовара CBD, который является типичным представителем растения с высоким содержанием фитоканнабиноидов. Пять растений были собраны непосредственно перед обработкой и экстрагированы с использованием дистилляции паром. Основной монотерпен и сесквитерпен выделены жирным шрифтом.

Таблица 4.5. Количество монотерпенов в процентных долях от общей терпеновой фракции и пределы

Монотерпены	Количество (% от терпеновой фракции)	Пределы ($\pm 10\%$)	Пределы ($\pm 25\%$)	Пределы ($\pm 50\%$)
Пинен (альфа и бета)	10,56	9,50-11,62	7,92-13,20	5,28-15,84
Мирцен	39,46	35,51-43,41	29,60-49,33	19,73-59,19
Лимонен	4,14	3,73-4,55	3,11-5,18	2,07-6,21
Бета-оцимен	4,04	3,64-4,44	3,03-5,05	2,02-6,06
Всего	58,20			

Фракция, содержащая монотерпены, включает в себя приблизительно 52-64% (мас./мас.) от общей терпеновой фракции.

Таблица 4.6. Количество монотерпенов в процентных долях от монотерпенов

Монотерпены	Количество (% от монотерпеновой фракции)
Пинен (альфа и бета)	18,14
Мирцен	67,80
Лимонен	7,12
Бета-оцимен	6,94

Количество основного монотерпена мирцена в монотерпеновой фракции как процентной доли монотерпеновой фракции составляет приблизительно 61-75% (мас./мас.). Монотерпеновая фракция также имеет второстепенный монотерпен пинен, который присутствует в количестве приблизительно 16,3-20% (мас./мас.) от монотерпеновой фракции.

Таблица 4.7. Количество сесквитерпенов в процентных долях от общей терпеновой фракции и пределы

Сесквитерпены	Количество (% от терпеновой фракции)	Пределы ($\pm 10\%$)	Пределы ($\pm 25\%$)	Пределы ($\pm 50\%$)
Кариофиллены (т и оксид)	29,27	26,34-32,20	21,95-36,59	14,64-43,91
Берготамен	0,18	0,16-0,20	0,14-0,23	0,09-0,27
Гумулен	7,97	7,17-8,77	5,98-9,96	3,99-11,96
Аромадендрен	0,33	0,30-0,36	0,25-0,41	0,17-0,50
Селинен	0,59	0,53-0,65	0,44-0,74	0,30-0,89
Анон	0,44	0,40-0,48	0,33-0,55	0,22-0,66
Фарнезен (Z, E и альфа)	1,55	1,40-1,71	1,16-1,94	0,78-2,33
Альфа-гурьюнен	0,12	0,11-0,13	0,09-0,15	0,06-0,18
Бисаболен	0,39	0,35-0,43	0,29-0,49	0,20-0,59
Неролидол	0,43	0,39-0,47	0,32-0,54	0,22-0,65
Диэпицендрен-1-оксид	0,38	0,34-0,42	0,29-0,48	0,19-0,57
Альфа-бисаболен	0,16	0,14-0,18	0,12-0,20	0,08-0,24
Всего	41,80			

Фракция, содержащая сесквитерпены, включает в себя приблизительно 27-32% (мас./мас.) от общей терпеновой фракции.

Таблица 4.8. Количество сесквитерпенов в процентных долях от сесквитерпенов

Сесквитерпены	Количество (% от сесквитерпеновой фракции)
Кариофиллены (t и оксид)	70,02
Берготамен	0,43
Гумулен	19,07
Аромадендрен	0,79
Селинен	1,41
Анон	1,05
Фарнезен (Z, E и альфа)	3,71
Альфа-гурьенен	0,29
Бисаболен	0,93
Неролидол	1,03
Диепицендрен-1-оксид	0,91
Альфа-бисаболол	0,38

Патентная заявка номер РСТ/GB 2008/001837 описывает получение "каннабиноидного зеро" растения. Указанные растения получали селективным разведением для получения растения Cannabis sativa L, которое содержит в целом терпеновый профиль, качественно аналогичный профилю Cannabis sativa L, который производит каннабиноиды, но каннабиноидов не вырабатывает. Указанные растения можно использовать для получения не содержащих каннабиноидов растительных экстрактов, которые являются полезными контрольными растениями в экспериментах и клинических испытаниях. Анализ терпенового профиля, вырабатываемого растениями, можно найти в таблице ниже. Основные монотерпены и сесквитерпены выделены жирным шрифтом.

Таблица 4.9. Количество монотерпенов в процентных долях от общей терпеновой фракции и пределы

Монотерпены	Количество (% от терпеновой фракции)	Пределы (±10%)	Пределы (±25%)	Пределы (±50%)
Пинен (альфа и бета)	29,34	26,41-32,27	22,01-36,68	14,67-44,01
Мирцен	29,26	26,33-32,19	21,95-36,58	14,63-43,89
Лимонен	5,32	4,79-5,85	3,99-6,65	2,66-7,98
Линалол	4,50	4,05-4,95	3,38-5,63	2,25-6,75
Вербенол (цис и транс)	3,45	3,11-3,80	2,59-4,31	1,73-5,18
Всего	71,87			

Фракция, содержащая монотерпены, включает в себя приблизительно 65-79% (мас./мас.) от общей терпеновой фракции.

Таблица 4.10. Количество монотерпенов в процентных долях от монотерпенов

Монотерпены	Количество (% от монотерпеновой фракции)
Пинен (альфа и бета)	40,82
Мирцен	40,71
Лимонен	7,41
Линалол	6,26

Растение "каннабиноидное зеро", как было установлено, содержит два основных монотерпена, пинен и мирцен. Количество основного монотерпена мирцена в монотерпеновой фракции в процентной доле от монотерпеновой фракции составляет приблизительно 37-45% (мас./мас.). Количество основного монотерпена пинена в монотерпеновой фракции в процентной доле от монотерпеновой фракции составляет приблизительно 37-45% (мас./мас.).

Пример 7. Применение CBDV (BDS) на PTZ модели генерализованных припадков.

Методика: как описано в примере 2.

CBDV BDS вводили в четырех дозах, которые обеспечивали дозу CBDV 50 и 100 мг/кг. Табл. 7.1 ниже детализирует полученные данные.

Таблица 7.1

CBDV (мг/кг)	Смертность (%)
0	26,3
5	16,7
100	0

Как можно видеть, CBDV BDS демонстрировала тенденцию к уменьшению связанной с припадками смертности.

В противоположность SAED, во всех экспериментах с использованием изолированного CBDV и CBDV BDS у животных не отмечалось никаких значительных побочных эффектов. Указанный факт делает данное новое противосудорожное лекарственное средство привлекательным соединением для использования как в отдельности, так и в комбинации для лечения эпилепсии.

Пример 8. Применение THCV (BDS), изолированного THCV и изолированного CBD на моделях эпилепсии.

Данные, демонстрирующие активность THCV BDS и изолированных THCV и CBD, приведены ниже в подтверждение вероятного благоприятного действия экстракта CBDV, содержащего CBD и THCV, а также неканнабиноидную фракцию.

Общая методология описана в примере 2.

Результаты.

THCV BDS включала цельный экстракт хемовара, в котором THCV являлся преобладающим каннабиноидом (т.е. он являлся основным каннабиноидом, присутствующим в экстракте, 80 мас.% от общего содержания каннабиноидов). THС являлся вторым наиболее преобладающим каннабиноидом и присутствовал в значительных количествах (т.е. он составлял более 10 мас.% от общего содержания каннабиноидов, приблизительно 16%), а также присутствовал ряд идентифицированных в меньших количествах каннабиноидов, каждый из которых составлял менее 2 мас.% от общего содержания каннабиноидов по результатам измерения ЖХВР. Соотношение THCV и THС в данном экстракте составляло приблизительно 5:1.

Фактически содержание THCV составляло 67,5 мас.% от всего экстракта, содержание THС составляло 13,6 мас.% от всего экстракта, а содержание остальных идентифицированных каннабиноидов в целом составляло приблизительно 3 мас.% от всего экстракта; оставшиеся 16% приходились на неканнабиноидные соединения.

Предварительное исследование с использованием PTZ.

Припадки, индуцированные рядом концентраций PTZ (50-100 мг/кг; пределы, представленные в научной литературе), у крыс изучали для определения оптимальной дозы перед изучением эффектов каннабиноидов. Дозы PTZ:

50 мг/кг и 60 мг/кг индуцировали очень незначительную напоминающую припадки активность (n=4);

70 мг/кг обычно индуцировала клонические припадки (балльность 3,5; 8 из 13 субъектов);

80 мг/кг регулярно индуцировала тонико-клонические припадки (балльность 4 и 5; 6 из 10 субъектов).

Помимо этого, было установлено, что повторное введение PTZ приводило со временем к повышению чувствительности; поэтому эксперименты с животными, которые уже получали дозу PTZ, не проводились.

Влияние THCV BDS на PTZ-индуцированные припадки сначала оценивали с использованием дозы PTZ 70 мг/кг. Как описано ниже, это дало контрольную группу носителя, в которой обычно не наблюдалось баллов тяжелых припадков. Таким образом, THCV BDS также подвергали скринингу с использованием дозы PTZ 80 мг/кг. Считалось, что увеличенная тяжесть припадков у контрольных животных, получавших носитель, которым вводили 80 мг/кг PTZ, являлась наиболее подходящим тестом на предмет потенциальной противосудорожной активности.

Влияние THCV BDS на умеренно тяжелые (70 мг/кг) PTZ-индуцированные припадки.

Три дозы THCV BDS оценивали с использованием концентрации PTZ, известной для индукции умеренных припадков у крыс (70 мг/кг; см. предварительное исследование выше). Используемые низкая, средняя и высокая дозы THCV BDS составляли 0,37, 3,70 и 37,04 мг/кг и давали истинные дозы THCV 0,25, 2,5 и 25 мг/кг соответственно. Указанные дозы соответствовали по содержанию THCV тем дозам, которые использовали для скрининга чистого THCV против PTZ-индуцированных припадков.

THCV BDS не имела никакого достоверного влияния на латентность до первого миоклонического подергивания или на латентность до достижения балла тяжести 3,5 по шкале тяжести припадков (фиг. 14). Следует отметить, что, хотя величины для обеих указанных переменных были выше у животных, которых лечили средней и высокой дозой THCV BDS, по сравнению с контролем, указанный факт не достигал уровня достоверности ($P > 0,05$). Подобно этому не наблюдалось достоверного влияния на продолжительность припадка (фиг. 15).

Влияние THCV BDS на тяжесть припадков (фиг. 16) и смертность (фиг. 17) у животных, которые получали дозы PTZ 70 мг/кг, не укладываются в простой паттерн. Ни у одного животного в группе, в которой животным инъецировали только носитель, медиана балла тяжести не превышала 3,5, и ни одно животное не погибло ($n=10$).

Напротив, доза PTZ 70 мг/кг индуцировала тяжелые тонико-клонические припадки и смерть у 50% животных, которым инъецировали низкую дозу THCV BDS, при медиане балла тяжести припадков 4,75. Указанное повышение тяжести не было достоверным. Однако у животных, которым инъецировали среднюю и высокую дозы THCV BDS, наблюдалась более низкая медиана балла тяжести припадков и более низкие коэффициенты смертности, чем у тех, которым вводили низкие дозы (фиг. 16 и 17). Коэффициенты смертности при использовании средней и высокой доз были выше, чем в группе носителя, но не достоверными ($P > 0,05$; фиг. 17). Однако медианы балла тяжести припадков были одинаковыми при использовании средней и высокой доз (фиг. 16). Указанный паттерн результатов наводит на мысль о том, что требуется проведения серии дополнительных экспериментов, в которых THCV BDS подвергалась бы скринингу против дозы PTZ, которая должна индуцировать тяжелые припадки у контрольных (получавших носитель) животных.

Влияние THCV BDS на тяжелые (80 мг/кг) PTZ-индуцированные припадки.

Оценивали влияние тех же трех доз THCV BDS на припадки, индуцированные 80 мг/кг PTZ. Следует отметить, что доза 80 мг/кг индуцировала достоверно более тяжелые припадки, чем доза 70 мг/кг в контрольной группе носителя ($P=0,009$); при медианах балла тяжести припадков 6 и 3,5 соответственно. THCV BDS не оказывала значимого влияния на латентность до FMJ или на балл тяжести 3,5 (фиг. 18). Подобно этому не наблюдалось влияния на продолжительность припадков (фиг. 19).

Низкая доза THCV BDS уменьшала как тяжесть припадков (фиг. 20), так и смертность (фиг. 21) у животных, которые получали дозу 80 мг/кг PTZ. Животные, которые получали низкую дозу THCV BDS, имели более низкую медиану балла тяжести (3,5 по сравнению с 6), чем контроли, получавшие носитель. Однако данная разница не была достоверной ($P > 0,5$). В группе, получавшей низкую дозу THCV BDS, также наблюдался коэффициент смертности, который составлял половину коэффициента смертности, наблюдавшегося в контрольной группе носителя (30% против 60%).

Группы, получавшие среднюю и высокую дозы THCV BDS, имели более низкий балл тяжести припадков 4,75 ($P > 0,05$ по сравнению с контролем) и более низкий коэффициент смертности 50% по сравнению с 6 и 60% соответственно.

Краткое описание и выводы по экспериментам *in vivo*

Скрининг THCV BDS на модели PTZ, как оказалось, не имели никакого достоверного противосудорожного влияния на умеренные или тяжелые PTZ-индуцированные припадки. Однако тенденция к более низкой тяжести и смертности наблюдалась у животных, которые получали низкую дозу THCV BDS, до индукции тяжелых (80 мг/кг PTZ) припадков по сравнению с контролями, получавшими носитель.

Возможно, что данный эффект маскируется при более высоких дозах THCV BDS более высокими уровнями других каннабиноидных составляющих (таких как THC), присутствующих в не-THCV составе THCV BDS. Более высокие дозы THCV BDS будут содержать возрастающие дозы содержания не-THCV, таких как THC, которые могут противостоять любым потенциально позитивным эффектам THCV.

Изолированный THCV: влияние изолированного THCV на PTZ-индуцированные припадки.

Низкую (0,025 мг/кг), среднюю (0,25 мг/кг) и высокую (2,5 мг/кг) дозы чистого THCV оценивали на предмет их влияния на PTZ-индуцированные припадки. Следует отметить в этой связи, что для сравнения с THCV BDS использовали различные дозы чистого THCV. См. табл. 8.1 ниже.

Таблица 8.1 Сравнение доз THCv BDS и чистого THCv на модели PTZ

Испытуемый СВ	«Низкая» доза (мг/кг)	«Средняя» доза (мг/кг)	«Высокая» доза (мг/кг)
THCV BDS	0,25	2,5	25
Чистый THCv	0,025	0,25	2,5

Приводятся величины эффективного содержания THCv в дозах (следовательно, истинные дозы THCv BDS приблизительно в 1,5 раза больше).

Доза PTZ 80 мг/кг успешно индуцировала припадки различной степени тяжести у животных во всех 4 экспериментальных группах (n=16 в группе). PTZ-индуцированные припадки приводили к смерти 44% животных, которые получали только носитель. Во всех группах, которые получали низкую, среднюю и высокую дозу THCv, наблюдались более низкие коэффициенты смертности, 41, 33 и 38%, соответственно; однако данные величины не отличались значимым образом от таковых в группе носителя (p>0,05; биномиальный критерий).

Средние величины для латентности до первого признака припадков и до баллов [3] и [5] по шкале тяжести припадков, а также продолжительность припадков у выживших животных описаны на фиг. 22A-D.

Можно видеть, что припадки начинались позже, что показывает увеличенная латентность до первой манифестации похожего на припадок поведения (фиг. 22A) у животных, которые получали THCv, по сравнению с контролями, получавшими носитель.

Отсрочка начала припадков была достоверной при самой высокой дозе THCv (p=0,02). Сходный паттерн наблюдался для латентностей до баллов [3] и [5] (фиг. 22B и 22C) при использовании всех доз THCv, который демонстрировал увеличенные латентности, достигая достоверного уровня при самой высокой дозе THCv (p=0,017 и 0,013 для [3] и [5] соответственно).

Также наблюдали, что продолжительность PTZ-индуцированных припадков у животных, которые пережили экспериментальный период, была достоверно меньше после введения средней дозы THCv по сравнению с контролями, получавшими носитель (фиг. 22D; p=0,03).

В табл. 8.2 ниже представлены величины медианы тяжести припадков для каждой экспериментальной группы.

Таблица 8.2. Тяжесть и частота припадков

	Носитель	0,025 мг/кг THCv	0,25 мг/кг THCv	2,5 мг/кг THCv
Медиана тяжести	4,25	3,5	3,5	3,5
% без припадков	12,5	5,9	33,3*	18,8

Представлены медианы максимальной тяжести и % животных, у которых не развивалось никаких признаков припадков, для каждой экспериментальной группы (n=16 для каждой величины). *обозначает достоверную разницу с группой носителя (биномиальный критерий достоверности, P<0,05).

У контрольных животных, получавших носитель, медиана тяжести припадков составляла 4,25, в то время как все группы, которые получали THCv, имели медиану балла тяжести 3,5. Данное уменьшение не было статистически значимым.

У 12,5% контрольных животных, получавших носитель, не было признаков припадков, что наводит на мысль о том, что у указанных животных припадки не развивались после введения PTZ. У достоверно большего количества животных (33,3%) не было признаков припадков в группе, которая получала 0,25 мг/кг (табл. 5.2; p=0,031). Указанные данные предполагают, что средняя доза 0,25 мг/кг THCv защищает от развития припадков.

Краткое описание и заключение in vivo

Влияние высокой дозы THCv на величины латентности предполагает, что THCv может отсрочить как начало, так и развитие припадков, в то время как достоверное влияние средней дозы THCv (0,25 мг/кг) на частоту припадков предполагают достоверное противосудорожное действие на PTZ-индуцированные припадки.

Изолированный CBD.

Помимо THCv, CBD также подвергали скринингу на модели PTZ. Результаты убедительно показывают, что CBD (на уровнях 100 мг/кг) на данной модели представляет собой противосудорожное лекарственное средство, поскольку он достоверно понижал коэффициент смертности и частоту наиболее тяжелых припадков по сравнению с контрольными животными, получавшими носитель.

Влияние изолированного CBD на PTZ-индуцированные припадки.

Изолированный CBD инъецировали интраперитонеально (и/п) в стандартном носителе (1:1:18 этанол:кремофор:0,9% мас./об. NaCl) в дозах 1, 10 и 100 мг/кг вместе с животными, которые получали только

носитель в аналогичном объеме (n=15 для каждой группы). 60 мин позже вводили PTZ (80 мг/кг, и/п).

46,7% контрольных животных, которые получали только носитель, погибли в течение 30 мин после введения PTZ (фиг. 20). Напротив, только 6,7% (только 1 из 15) животных, которые получали 100 мг/кг CBD, погибли; выраженное уменьшение, которое оказалось достоверным ($p < 0,001$).

Помимо этого, только у 6,7% животных, которые получали 100 мг/кг CBD, наблюдались наиболее тяжелые припадки (балл 5) по сравнению с 53,3% контрольных животных, получавших носитель; уменьшение, которое также было достоверным ($p < 0,001$; фиг. 20 *in vivo*).

В противоположность изолированному THCV, не наблюдалось достоверного увеличения латентности до развития припадков. Однако выраженное и достоверное уменьшение свидетельствует о поразительном противосудорожном действии на PTZ-индуцированные припадки.

Краткое описание и заключение *in vivo*

Скрининг и анализ действия изолированного CBD на PTZ модели в высокой дозе (100 мг/кг) CBD на уровни смертности и частоту наиболее тяжелых припадков предполагают, что CBD может ослаблять тяжесть PTZ-индуцированных припадков.

Общее заключение

Из указанных трех исследований представляется, что изолированные THCV и CBD являются многообещающими антиэпилептическими лекарственными средствами для лечения генерализованных припадков, особенно клонико-тонических припадков. Данные, полученные для экстракта с высоким содержанием THCV, содержащего другие каннабиноиды, включая значительные количества THC, предполагают, что THC противостоят эффекту THCV и что каннабиноидный экстракт, который содержит THCV в качестве основного или преобладающего каннабиноида, но который также содержит минимальное, если вообще содержит, количество THC, был бы желательным для лечения эпилепсии. Дополнительные результаты изучения чистого CBD предполагают, что экстракт, содержащий значительные количества как THCV, так и CBD, но опять содержащий минимальное количество или практически не содержащий THC, может обеспечить оптимальную комбинацию. Соответственно может оказаться желательным изготовление экстракта с преобладанием THCV, из которого селективно и практически полностью удален THC (до уровней менее нескольких процентов). Указанный экстракт можно смешивать с экстрактом с высоким содержанием CBD, в котором CBD является основным и преобладающим каннабиноидом (также с низкими уровнями THC), для получения экстракта с четко определенными и значительными уровнями как THCV, так и CBD, но с незначительными уровнями THC. Указанный экстракт может содержать другие каннабиноиды и неканнабиноидные компоненты, которые появляются в результате экстракции, например с использованием диоксида углерода, как описано в WO 04/016277, указанные компоненты могут поддерживать "антуражный" эффект в эндоканнабиноидной системе.

Что касается дозировки, фактор пересчета крыса/человек ($\times 6$) предполагает суточную дозу CBD по меньшей мере 600 мг (и по выбору от 400 до 800 мг), а для THCV - по меньшей мере 1,5 мг (средняя) и предпочтительно по меньшей мере 15 мг (высокая).

В случае когда предполагается использование фитоканнабиноидного экстракта, желателен экстракт с низкими или ничтожно малыми уровнями THC и терапевтически эффективными уровнями THCV и/или CBD.

Пример 10. Сравнение антиэпилептической активности изолированных CBD и CBDV на модели эпилепсии максимального электрошокового припадка (MES)

Методы.

Изготовление испытуемых и стандартных соединений.

В данном исследовании использовали носитель 2:1:17 (этанол:кремофор:0,9% мас./об. NaCl). Испытуемыми соединениями были каннабидиол (CBD) и каннабидиварин (CBDV). Из указанных соединений изготавливали раствор наивысшей концентрации; затем их растворяли в этаноле перед объединением с кремофором и 0,9% NaCl в пропорции, описанной выше. CBD или CBDV вводили интраперитонеально в объеме 10 мг/кг массы тела. SAED (вальпроевую кислоту) (VPA) растворяли в физиологическом растворе.

Тест-система.

Вид животных/штамм: мышь/ICR, микробиологический класс SPF, поставщик SLC Japan, Inc. Пол - самец, возраст (на время испытаний) 5-7 недель, количество животных - около 5 животных на группу. Температура $23 \pm 2^\circ\text{C}$, влажность $60 \pm 10\%$, условия освещения: с 7 до 19 для светлого периода, с 19 до 7 для темного периода. Корм и вода: свободный доступ к корму CRF-1 (Oriental Yeast Co., Ltd.) и водопроводной воде.

Экспериментальные процедуры.

За день до каждого эксперимента мышей взвешивали и рандомизировали на несколько групп для каждого испытания. Утром в день эксперимента определяли массу тела, чтобы рассчитать объем введения для каждого животного. Носитель, CBD, CBDV или натриевую соль вальпроевой кислоты вводили интраперитонеально за 30 мин до электрических раздражителей. Максимальные электрошоковые припадки (MES) у мышей индуцировали стимулятором (UGO BASILE ECT UNIT 7801, Италия), с использованием тока 30 мА с частотой импульсов 100 Гц в течение 200 мс, через электроды, закрепленные на

мочке уха. За мышами наблюдали в течение 10 с и отмечали частоту тонического вытягивания задних конечностей.

Статистический анализ.

Все статистические анализы осуществляли с использованием компьютерной программы SAS для Windows, выпуск 9.1 (институт SAS, Япония). Разницу в количестве (вытягивания задних конечностей или смертей) в каждой группе оценивали с использованием двустороннего точного критерия Фишера. Разницу считали статистически значимой, если величина p была менее 0,05.

Результаты.

Почти у всех животных в группе носителя наблюдалось вытягивание задних конечностей, индуцированное электрическими раздражителями (30 мА в течение 200 мс). CBD (3-100 мг/кг и/п) не был способен ингибировать выражение вытягивания задних конечностей со статистической достоверностью. Однако CBDV (100 и 200 мг/кг и/п) достоверно ингибировал выражение вытягивания задних конечностей. Между тем, 350 мг/кг вальпроевой кислоты блокировали вытягивание задних конечностей со статистической достоверностью по сравнению с группой носителя. Табл. 10.1 и 10.2 детализируют указанные данные.

Таблица 10.1. Влияние CBD и VPA на MES-индуцированные припадки у мышей

Соединение (доза; мг/кг, и/п)	Частота тонических судорог
Носитель	5/5
CBD (3)	3/5
CBD (10)	4/5
CBD (30)	3/5
CBD (100)	4/5
Вальпроевая кислота (350)	0/5**

Каждая группа состояла из 5 мышей; * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$ по сравнению с контролями, получавшими носитель (точный критерий Фишера)

Таблица 10.2. Влияние CBDV и VPA на MES-индуцированные припадки у мышей

Соединение (доза; мг/кг, и/п)	Частота тонических судорог
Носитель	9/10
CBDV (50)	9/10
CBDV (100)	3/10*
CBDV (200)	3/10*
Вальпроевая кислота (200)	5/10
Вальпроевая кислота (350)	1/10**

Каждая группа состояла из 10 мышей; * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$ по сравнению с контролями, получавшими носитель (точный критерий Фишера)

Как можно видеть из приведенных выше данных, каннабиноид CBDV четко демонстрирует более высокую эффективность в качестве противосудорожного агента на модели MES эпилепсии, чем каннабиноид CBD. При условии, что эффективность CBDV приближается к эффективности SAED вальпроевой кислоты, он является очевидным кандидатом для применения в качестве противосудорожного агента, не вызывающим побочных эффектов, известных для SAED.

Пример 11. Влияние CBDV на моторную функцию, по оценке с использованием теста на аппарате ротарод с линейным ускорением.

Методы.

Каждое животное получали CBDV (100 или 200 мг/кг, $n=10$ для каждой группы) или носитель (2:1:17 (кремофор:этанол:физиологический раствор [$n=12$] или физиологический раствор [$n=11$] в данный экспериментальный день. Дни экспериментальных испытаний отделялись друг от друга двумя днями периода отдыха, чтобы осуществился клиренс предыдущих соединений. Порядок введения лекарственных средств рандомизировали с использованием стандартного дизайна латинских квадратов.

Через 60 мин после введения CBDV или носителя животных помещали на аппарат ротарод с линейным ускорением (Panlab/Harvard Apparatus, Holliston, США), который увеличивал скорость с 4 до 40 об/мин в течение 300-секундного периода. Протокол с ускорением применяли, чтобы исключить адаптацию к ротароду, минимизируя расхождение в результатах, полученных для каждого животного, благодаря непропорциональным улучшениям прохождения испытания. Каждое испытание прекращалось, когда животное падало с ротарада; каждое животное проходило три сеанса на ротараде с ускорением за экспериментальный день. Животным позволяли восстанавливаться после испытания в течение 5 мин, чтобы предотвратить ухудшение прохождения испытания, обусловленное усталостью. Среднюю латентность

до падения с ротарода в секундах сравнивали между группой носителя и группами CBDV для оценки моторной функции.

Чтобы оценить, было ли достоверное влияние на моторную функцию в двух разных группах носителя, заявители обработали данные с использованием критерия Манна-Уитни. Отсутствие достоверности в указанном анализе позволило заявителям объединить контрольные группы, что уменьшило продолжительность испытаний (т.е. каждая крыса должна была проходить только один экспериментальный день с носителем, а не два). Для анализа влияния CBDV на моторную функцию данные обрабатывали между субъектами с использованием одностороннего ANOVA с концентрацией лекарственного средства в качестве главного фактора. Во всех случаях $P \leq 0,05$ считали достоверным.

Результаты.

Анализ различных носителей: как можно видеть на фиг. 24, не было разницы по латентности до падения между животными, которым вводили физиологический раствор и 2:1:17 кремофор:этанол:физиологический раствор ($P=0,406$). Таким образом, обе группы носителя объединили с получением одной группы носителя.

Анализ эффектов CBDV: как можно видеть на фиг. 25, CBDV не оказывал действия на латентность до падения по сравнению с животными, получавшими носитель, при любой дозе ($F_{2, 40}=1,421$, $P=0,253$). Животные, получавшие носитель, оставались на ротароде в среднем 111,6 с по сравнению с 86,6 с при использовании 100 мг/кг CBDV и 110,0 с при использовании 200 мг/кг.

Заключение

Указанные данные показывают, что CBDV (100 и 200 мг/кг) не оказывал достоверного влияния на моторный контроль или прохождение испытания по оценке с использованием ускоряющегося ротарода. Ротарод испытывает влияние лекарственных средств на моторное поведение крыс. Противосудорожные лекарственные средства, такие как фенobarбитал, как известно, вызывают уменьшение времени, в течение которого животное может оставаться на ротароде, демонстрируя известное побочное действие на моторный контроль.

Таким образом, противосудорожные эффекты, продемонстрированные в примерах выше на пентилентетразоловой модели генерализованных припадков и на пилокарпиновой модели височных припадков, происходят благодаря фитоканнабиноиду CBDV, контролирующему состояние припадков без моторных побочных эффектов.

Литература.

ALGER, B.E. (2006) Not too excited? Thank your endocannabinoids. *Neuron*, 51, 393-5. AMES FR. (1986) Anticonvulsant effect of cannabidiol. *South African Medical Journal* 69:14.

AVOLI, M., LOUVEL, J., PUMAIN, R. & KOHLING, R. (2005) Cellular and molecular mechanisms of epilepsy in the human brain. *Prog Neurobiol*.

BOSTANCI, M.O. & BAGIRICI, F. (2006) The effects of octanol on penicillin induced epileptiform activity in rats: an *in vivo* study. *Epilepsy Res*, 71, 188-94.

BRUST, J.C, NG, S.K., HAUSER, A.W. & SUSSER, M. (1992) Marijuana use and the risk of new onset seizures. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 103, 176-81.

CONSROE, P.F., WOOD, G.C. & BUCHSBAUM, H. (1975) Anticonvulsant Nature of Marihuana Smoking. *J.American Medical Association* 234 306-307

CUNHA, J.M., CARLINI, E.A., PEREIRA, A.E., RAMOS, O.L, PIMENTEL, C, GAGLIARDI, R., SANVITO, W.L, LANDER, N. & MECOULAM, R. (1980) Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. *Pharmacology*, 21, 175-85.

DAVIS, M.I., RONESI, J. & LOVINGER, D.M. (2003) A Predominant Role for Inhibition of the Adenylate Cyclase/Protein Kinase A Pathway in ERK Activation by Cannabinoid Receptor 1 in N1E-115 Neuroblastoma Cells. *J.Biol. Chem.*, 278, 48973-48980.

DREIFUSS, F.E., BANCAUD, J., HENRIKSEN, O., RUBIO-DONNADIEU, F.PENRY, J.K. & SEINO, M. (1981) Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*, 22, 489-501.

FERDINAND, R.F., VAN DER ENDE, J., BONGERS, I., SELTEN, J.P., HUIZINK, A. & VERHULST, F.C. (2005) Cannabis-psychosis pathway independent of other types of psychopathology. *Schizophr Res*, 79, 289-95.

FISHER, R.S., VICKREY, B.G., GIBSON, P., HERMANN, B.,

PENOVICH, P., SCHERER, A. & WALKER, S. (2000) The impact of epilepsy from the patient's perspective I. Descriptions and subjective perceptions. *Epilepsy Res*, 41, 39-51.

GASTAUT, H. (1970) Clinical and Electroencephalographical Classification of Epileptic Seizures. *Epilepsia*, 11, 102-112.

LUTZ, B. (2004) On-demand activation of the endocannabinoid system in the control of neuronal excitability and epileptiform seizures. *Biochem Pharmacol*, 68, 1691-8.

MACKIE, K. (2006) Cannabinoid receptors as therapeutic targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 46, 101-22.

MCCORMICK, D.A. & CONTRERAS, D. (2001) On the cellular and network bases of epileptic seizures. *Annu Rev Physiol*, 63, 815-46.

MERLIS, J.K. (1970) Proposal for an International Classification of the Epilepsies. *Epilepsia*, 11, 114-119.

NG *et al.* (1990) Illicit drug use and the risk of new-onset seizures, *American Journal of Epidemiology* 132: 47-57.

OBAY, B.D., TASDEMIR, E., TUMER, C, BILGIN, H.M. & SERMET, A. (2007) Antiepileptic effects of ghrelin on pentylene-tetrazole-induced seizures in rats. *Peptides*, 28, 1214-9.

PEREIRA, M.B., FREITAS, R.L, ASSIS, M.A., SILVA, R.F., FONTELES, M.M., FREITAS, R.M. & TAKAHASHI, R.N. (2007) Study pharmacologic of the GABAergic and glutamatergic drugs on seizures and status epilepticus induced by pilocarpine in adult Wistar rats. *Neurosci Lett* 419,253-7.

PERTWEE R.G., (2000) Cannabinoid receptor ligands: clinical and neuropharmacological considerations, relevant to future drug discovery and development. *Exp. Opin. Invest. Drugs* 9(7):

RAUCA, C, WISWEDEL, I., ZERBE, R., KEILHOFF, G. & KRUG, M. (2004) The role of superoxide dismutase and alpha-tocopherol in the development of seizures and kindling induced by pentylene-tetrazol - influence of the radical scavenger alpha-phenyl-N-tert-butyl nitron. *Brain Res*, 1009, 203-12.

SANDER, J.W. (2003) The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol*, 16, 165-70.

SWANN, J.W. (2004) The effects of seizures on the connectivity and circuitry of the developing brain. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 10, 96-100.

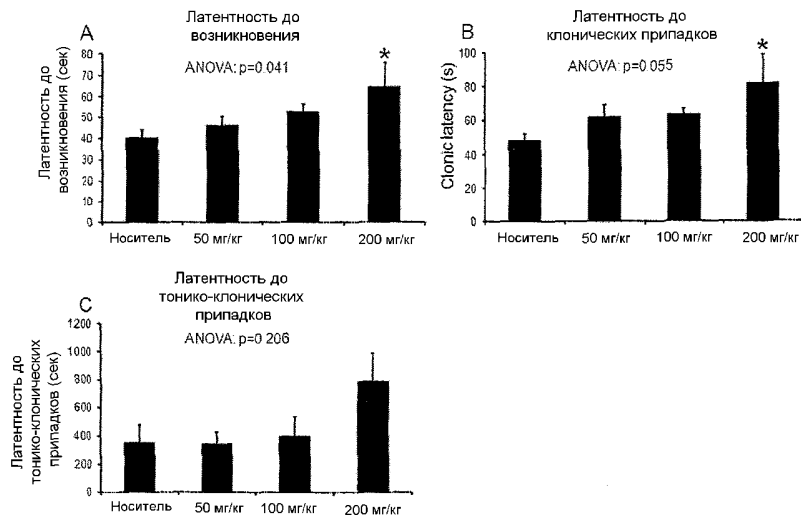
TREMBLY B. SHERMAN M. (1990) Double-blind clinical study of cannabidiol as a secondary anticonvulsant. *Marijuana '90 International Conference on Cannabis and Cannabinoids*. Kolympari, Crete, July 8-11, 1990.

WINGERCHUK, D. (2004) Cannabis for medical purposes: cultivating science, weeding out the fiction. *Lancet*, 364, 315-6.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

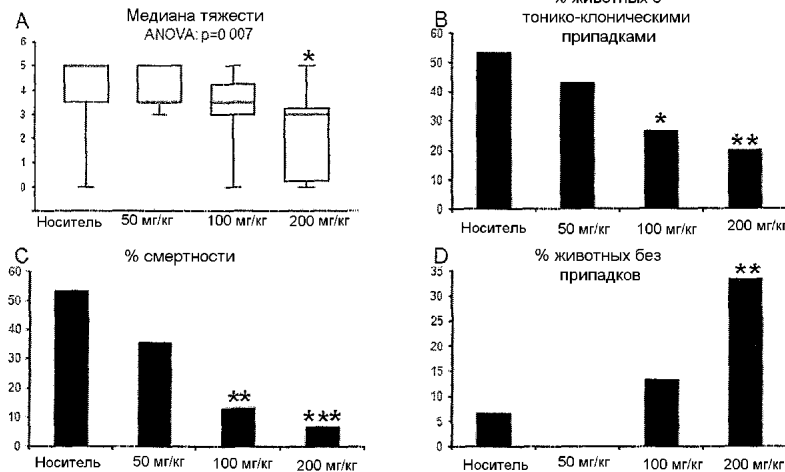
1. Применение терапевтически эффективного количества чистого фитоканнабиноида каннабидиварина (CBDV) для лечения эпилепсии.
2. Применение по п.1, где CBDV представлен в пероральной форме.
3. Применение CBDV по любому из предыдущих пунктов, где эпилепсия представляет собой генерализованный припадок или эпилепсию височной доли.
4. Применение комбинации терапевтически эффективного количества чистого фитоканнабиноида каннабидиварина (CBDV) с каннабидиолом (CBD) для лечения эпилепсии.
5. Применение комбинации терапевтически эффективного количества чистого фитоканнабиноида каннабидиварина (CBDV) со стандартным антиэпилептическим лекарственным средством для лечения эпилепсии.

Влияние CBDV на возникновение и развитие PTZ-индуцированных припадков



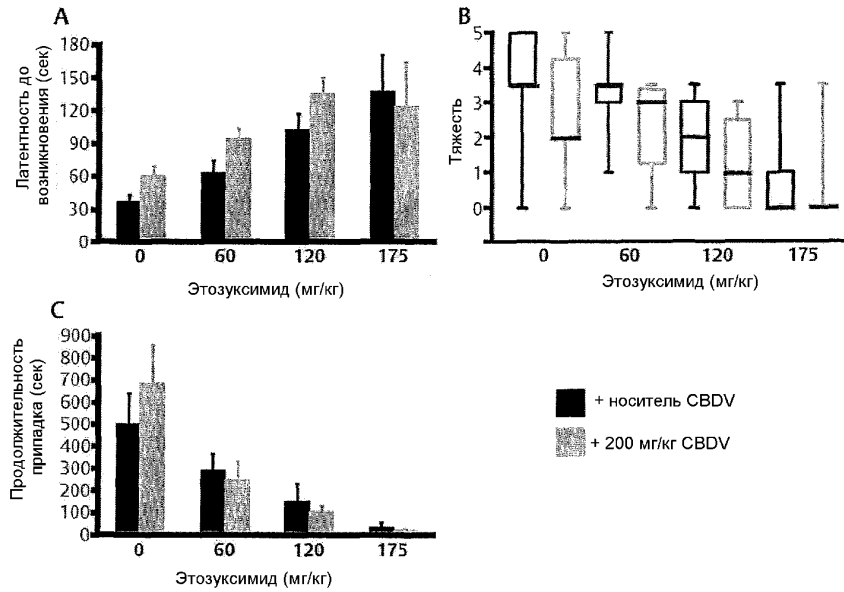
Фиг. 1

Влияние CBDV на тяжесть припадков и смертность от припадков



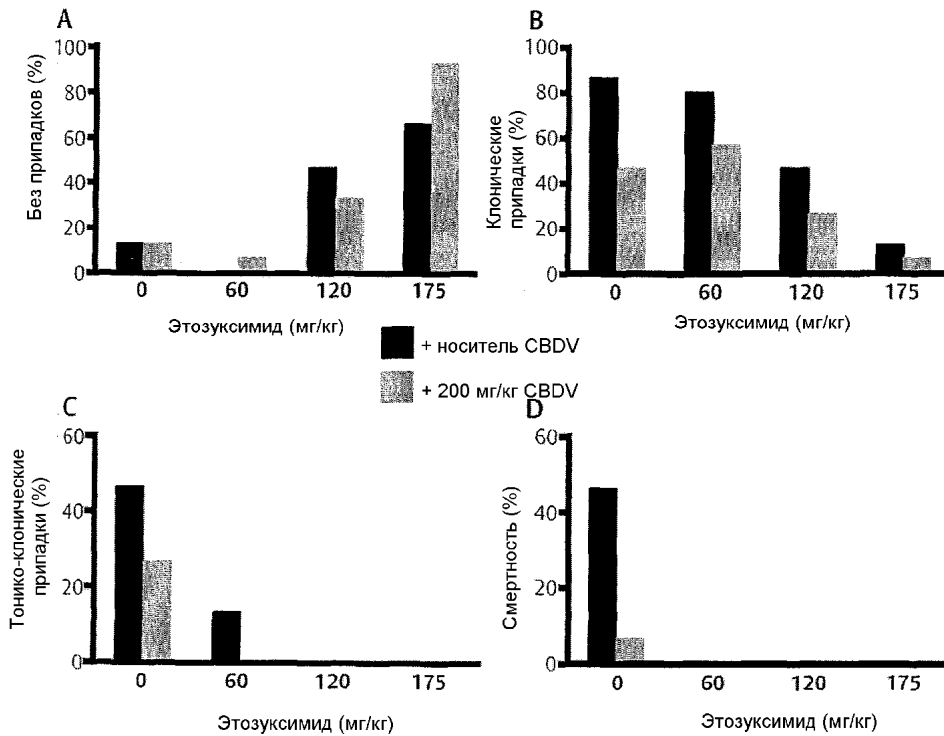
Фиг. 2

Влияние CBDV и этозуксимида на PTZ-индуцированные припадки



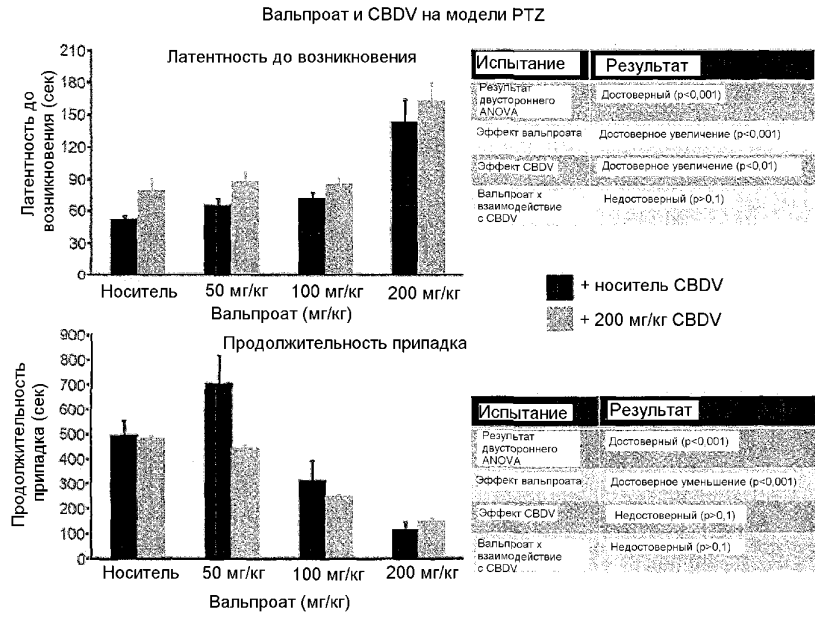
Фиг. 3

Влияние CBDV и этозуксимида на частоту припадков и смертность от PTZ-индуцированных припадков



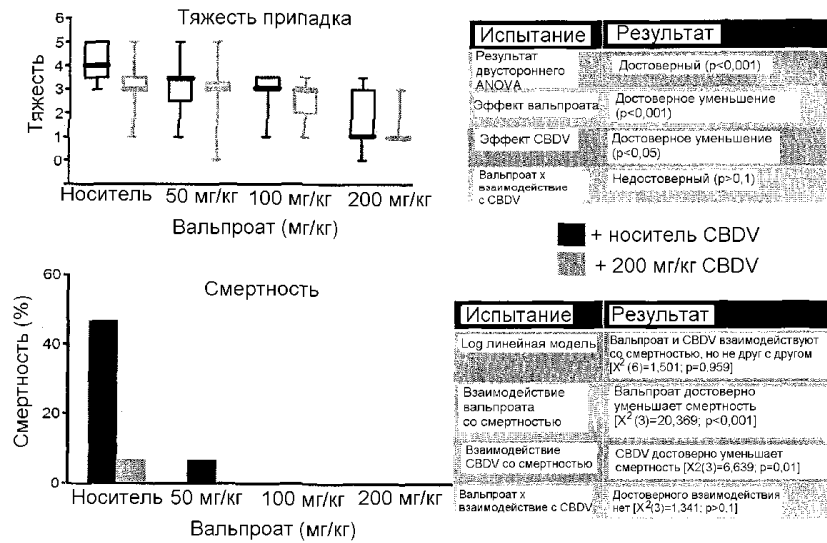
Фиг. 4

Влияние CBDV и вальпроата на PTZ-индуцированные припадки



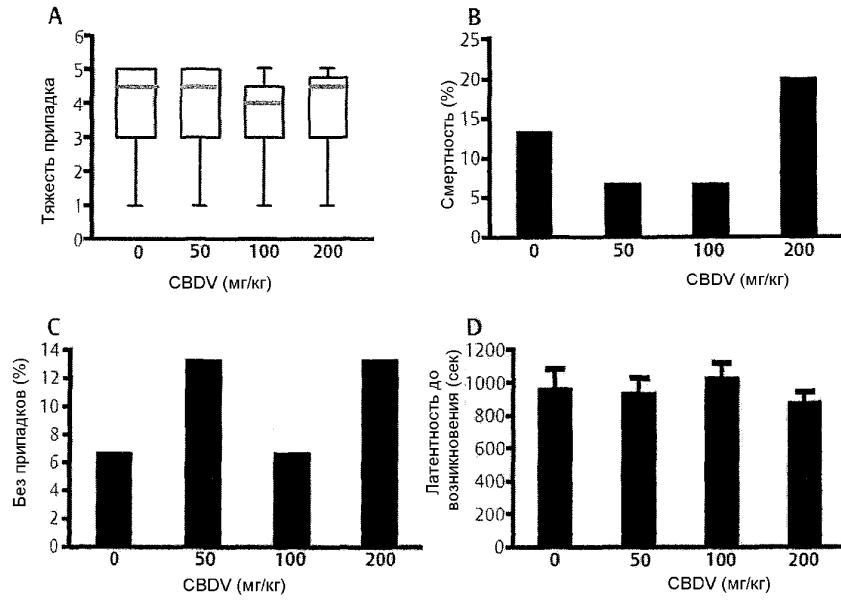
Фиг. 5

Влияние CBDV и вальпроата на тяжесть припадков и смертность от PTZ-индуцированных припадков



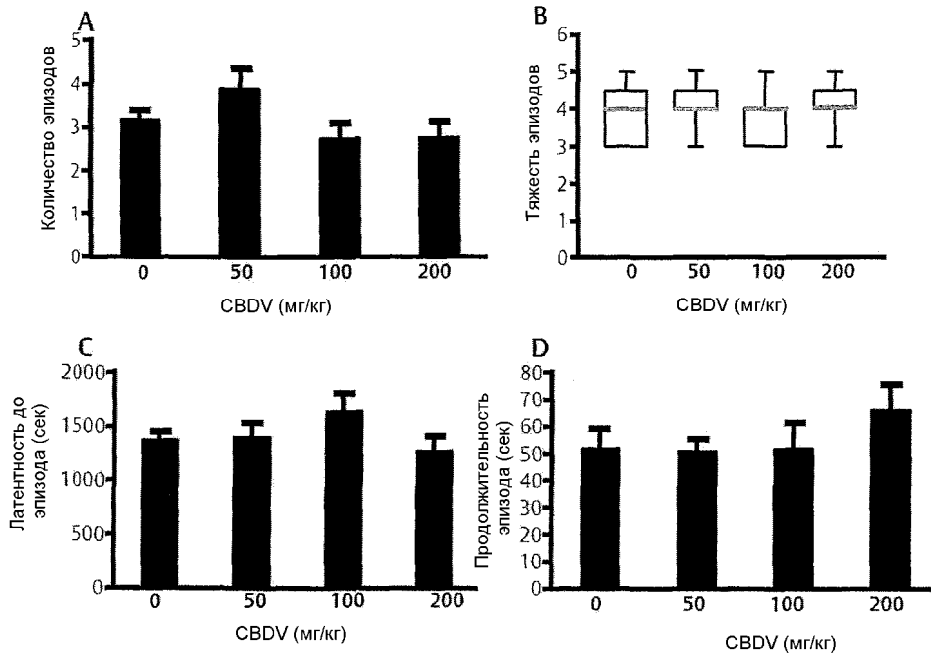
Фиг. 6

Влияние CBDV на пилокарпин-индуцированные припадки



Фиг. 7

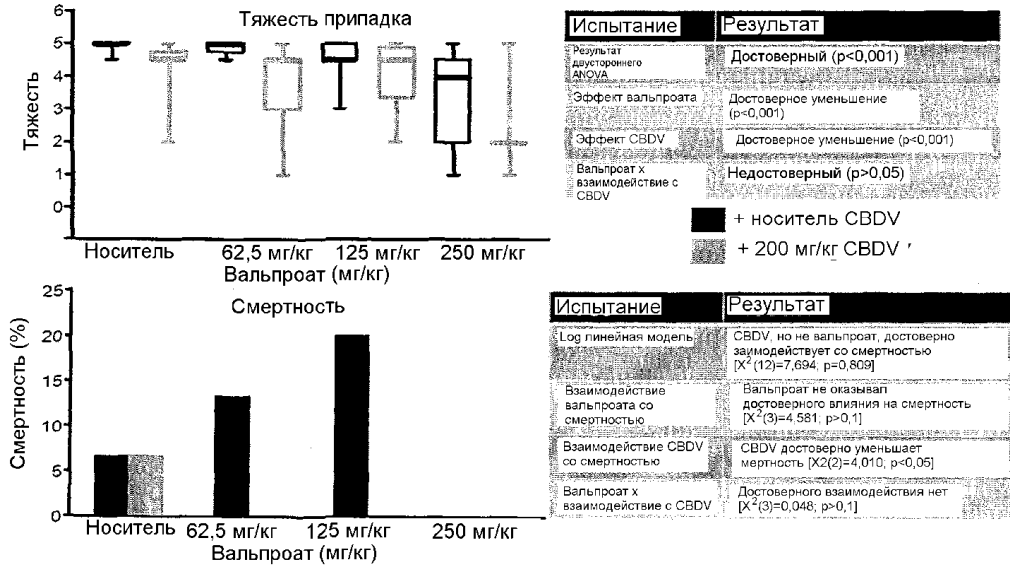
Влияние CBDV на эпизоды припадков при пилокарпин-индуцированных припадках



Фиг. 8

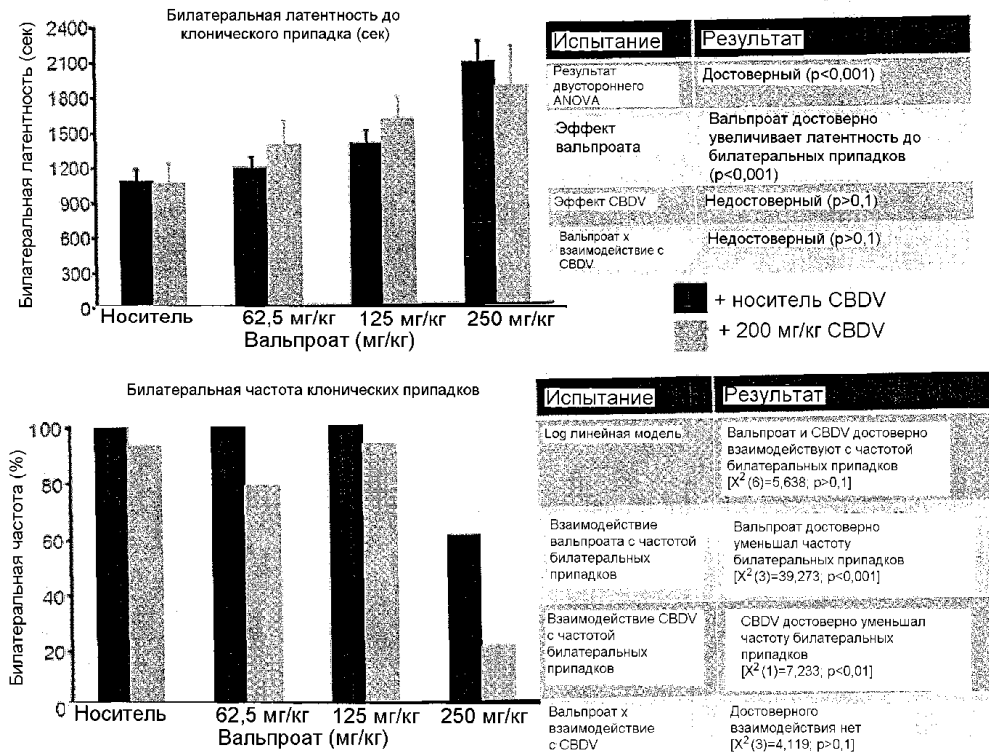
Влияние CBDV и вальпроата на пилокарпин-индуцированные припадки

Вальпроат и CBDV на пилокарпиновой модели



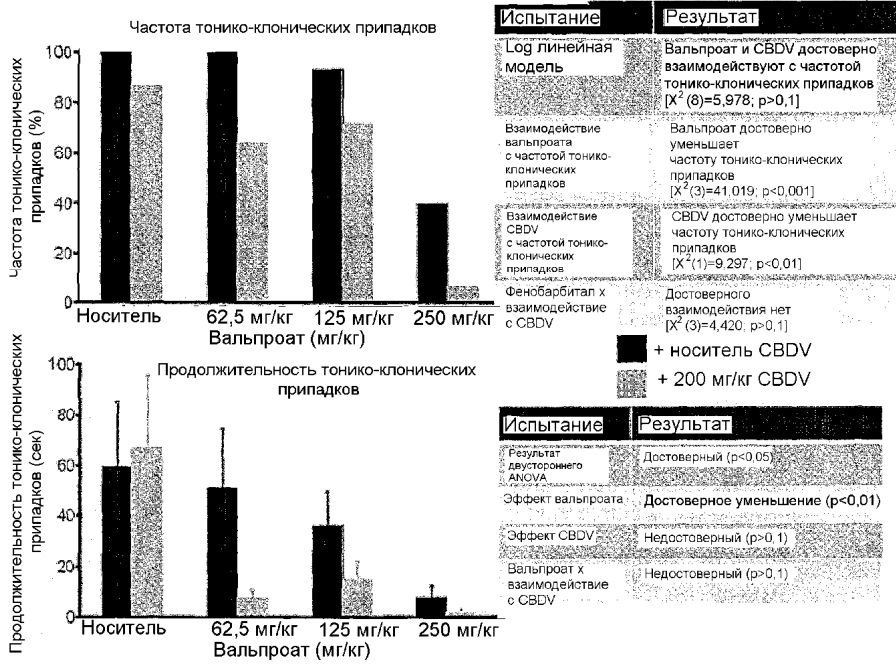
Фиг. 9

Влияние высокой дозы CBDV (200 мг/кг) и вальпроата на пилокарпин-индуцированные припадки (билатеральная латентность и частота)



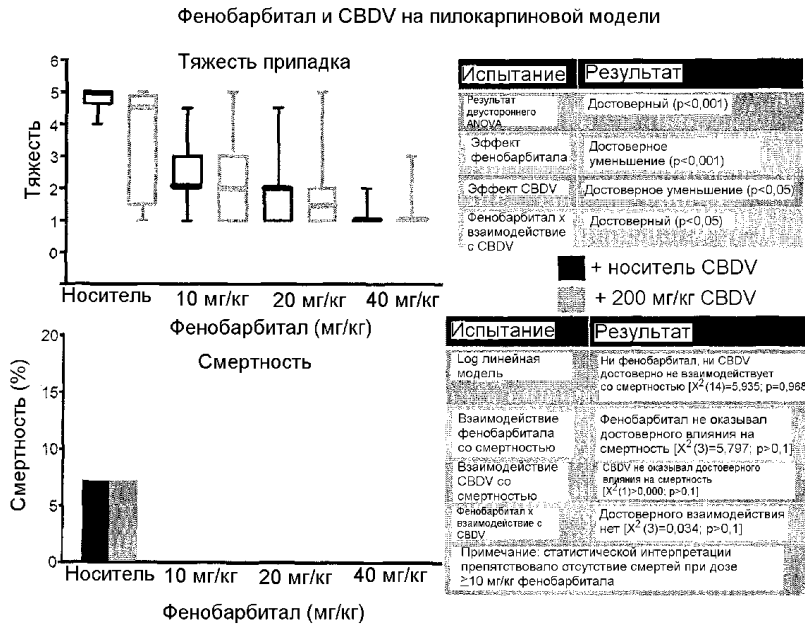
Фиг. 10

Влияние высокой дозы CBDV (200 мг/кг) и вальпроата на пилокарпин-индуцированные припадки (частота и продолжительность тонико-клонических припадков)



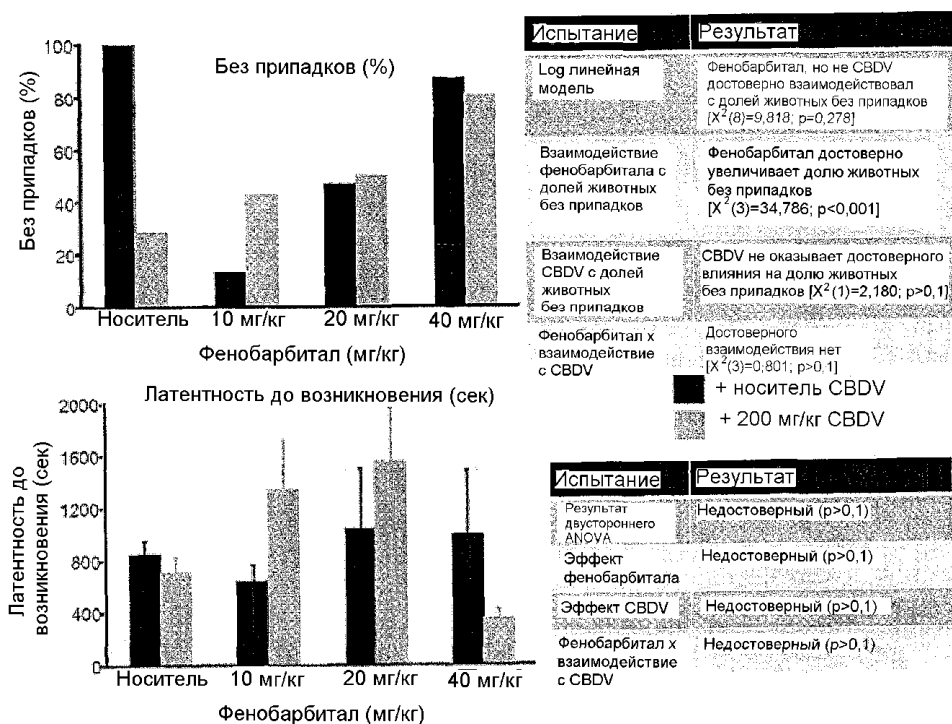
Фиг. 11

Влияние CBDV и фенобарбитала на пилокарпин-индуцированные припадки



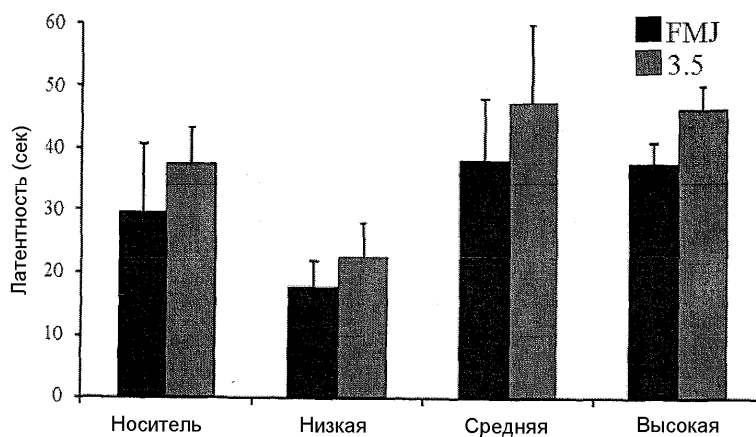
Фиг. 12

Влияние CBDV и фенобарбитала на пилокарпин-индуцированные припадки



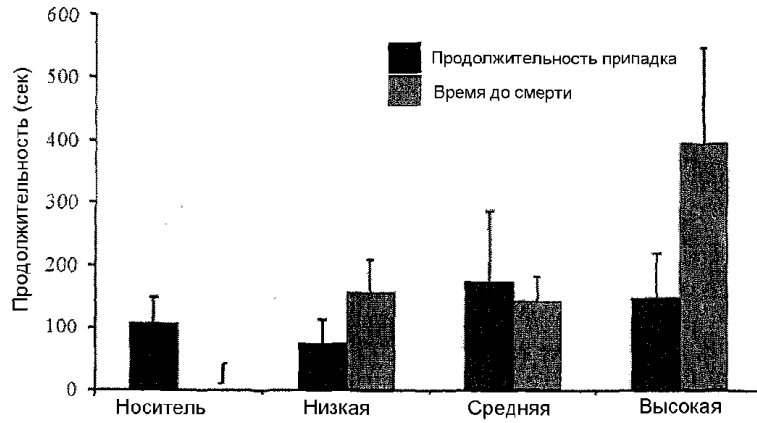
Фиг. 13

Влияние THCv BDS и 70 мг/кг PTZ на латентности до тяжести первоначального и более поздних припадков



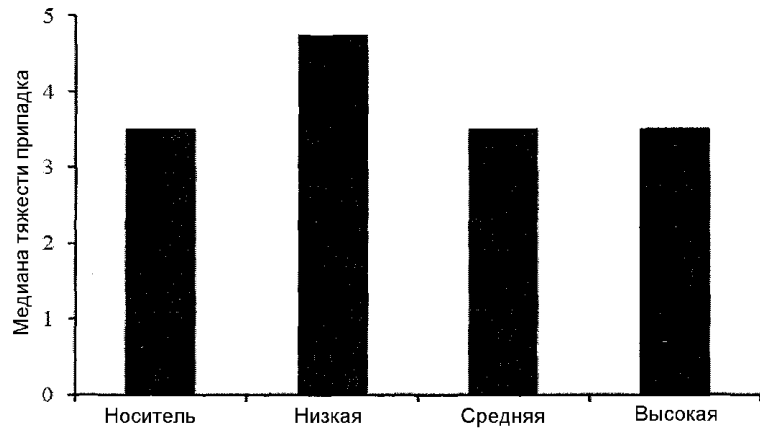
Фиг. 14

Влияние THCv BDS и 70 мг/кг PTZ на продолжительность припадков и время до смерти



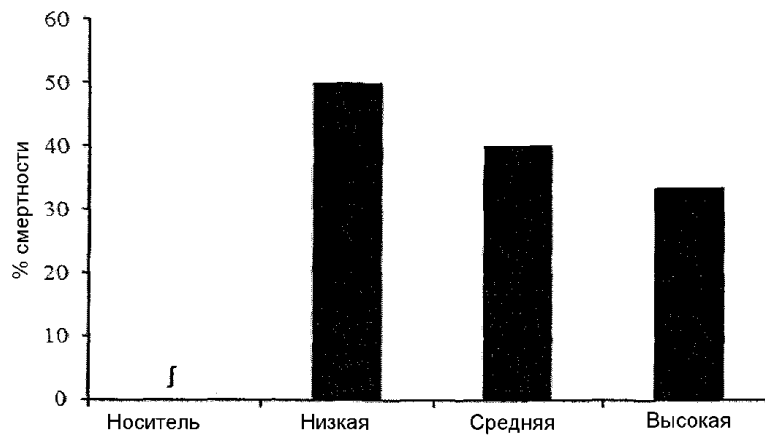
Фиг. 15

Влияние THCv BDS и 70 мг/кг PTZ на медиану балла тяжести



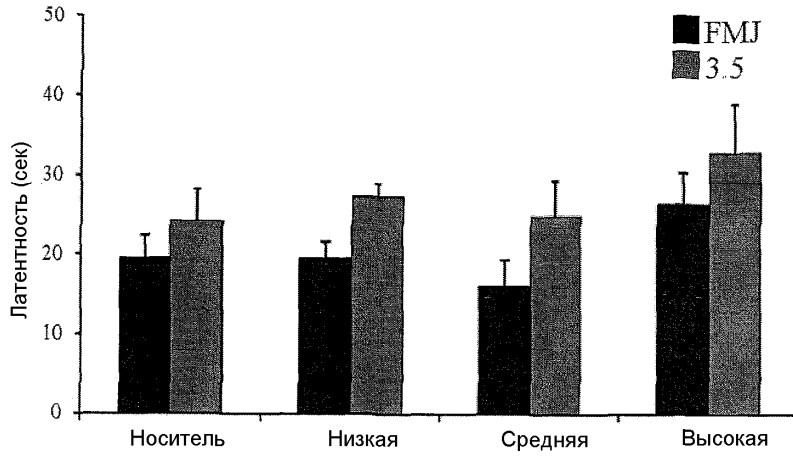
Фиг. 16

Влияние THCv BDS и 70 мг/кг PTZ на коэффициенты смертности



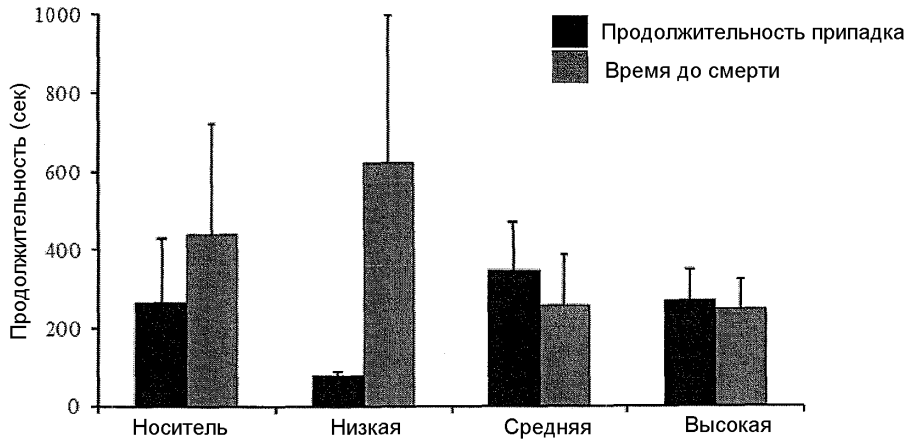
Фиг. 17

Влияние THCv BDS и 80 мг/кг PTZ на латентности до тяжести первоначального и более поздних припадков



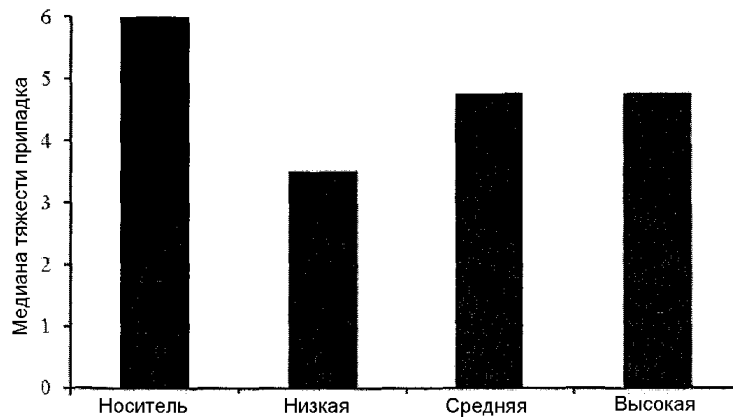
Фиг. 18

Влияние THCv BDS и 80 мг/кг PTZ на продолжительность припадков и время до смерти



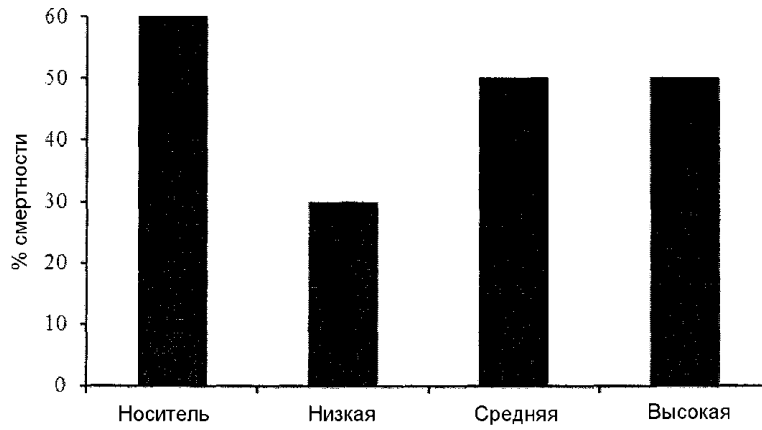
Фиг. 19

Влияние THCv BDS и 80 мг/кг PTZ на медиану балла тяжести

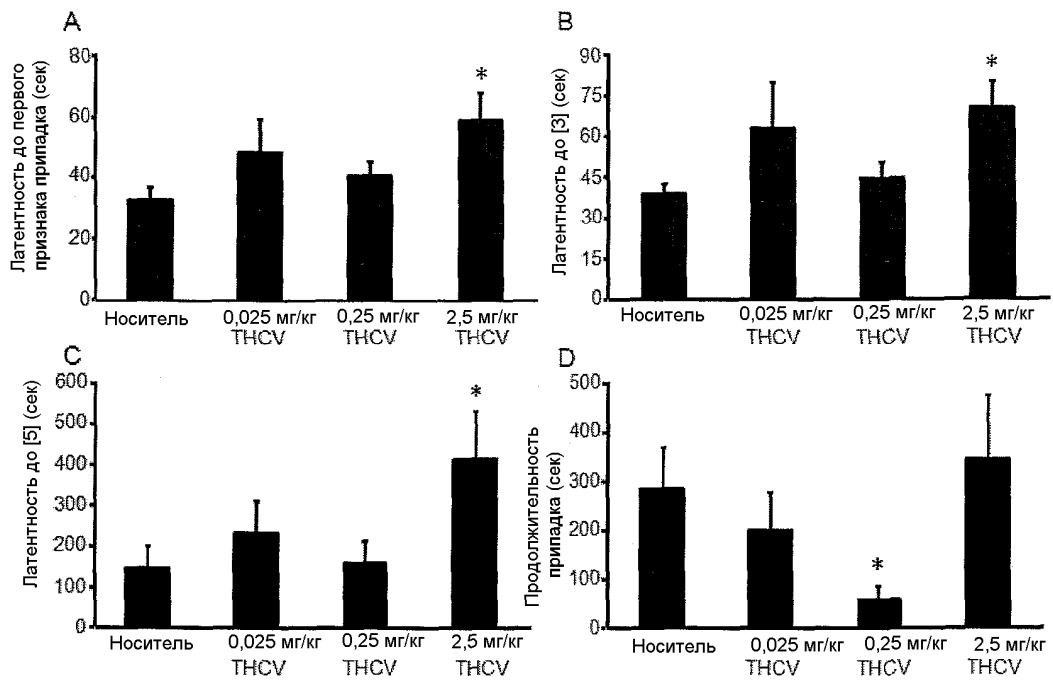


Фиг. 20

Влияние THCv BDS и 80 мг/кг PTZ на коэффициенты смертности

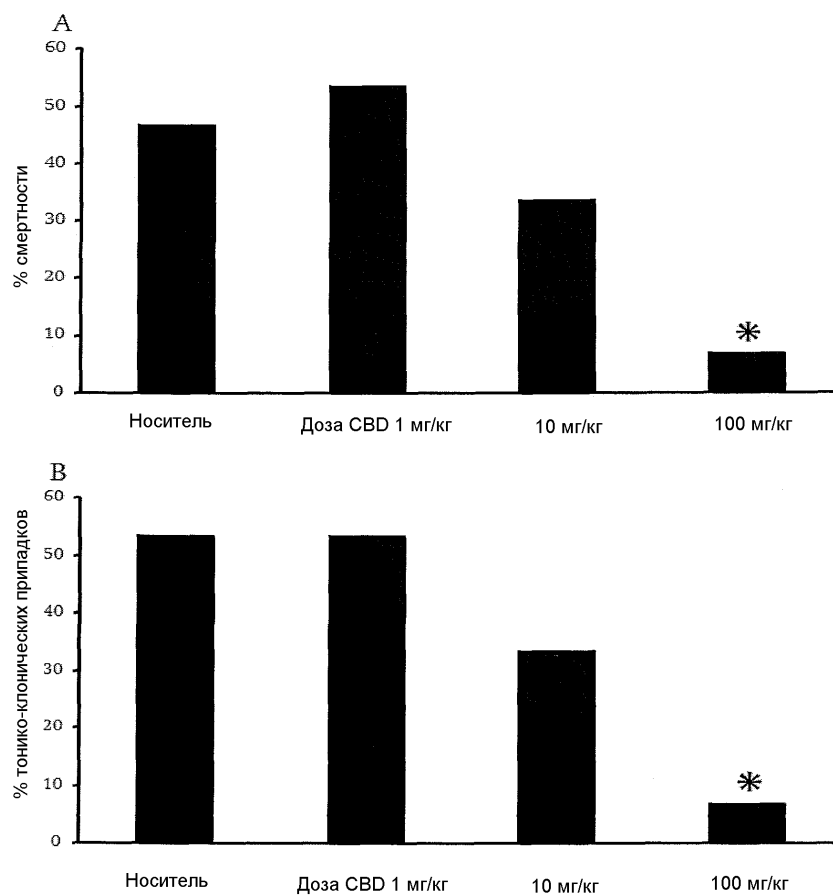


Фиг. 21



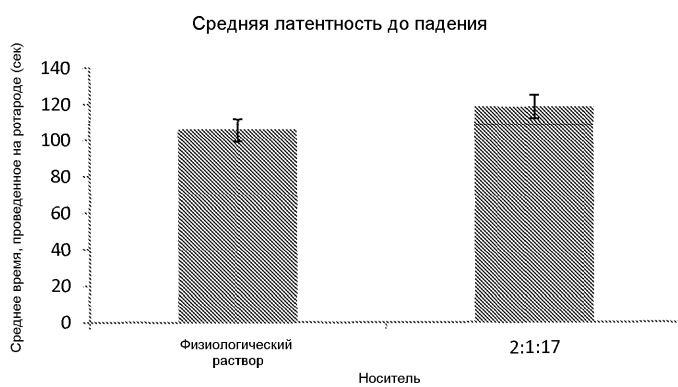
Фиг. 22

Влияние CBD на PTZ-индуцированные припадки



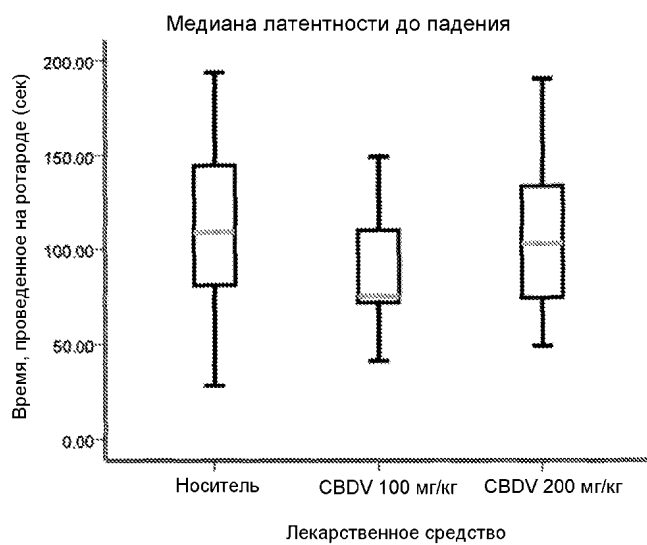
Фиг. 23

Влияние носителя на испытания на аппарате ротарод



Фиг. 24

Влияние CBDV на испытания на аппарате ротарод



Фиг. 25

