



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103025325 B

(45) 授权公告日 2016. 03. 16

(21) 申请号 201180026947. 4

(22) 申请日 2011. 03. 30

(30) 优先权数据

1005364. 3 2010. 03. 30 GB

1100042. 9 2011. 01. 04 GB

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012. 11. 30

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2011/050649 2011. 03. 30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/121351 EN 2011. 10. 06

(73) 专利权人 GW 药品有限公司

地址 英国韦特郡

专利权人 大塚制药株式会社

(72) 发明人 B. 惠利 C. 威廉斯 G. 斯蒂芬斯

T. 富塔姆拉 T. 希尔

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 孔青 万雪松

(51) Int. Cl.

A61K 31/05(2006. 01)

(56) 对比文件

WO 2007083098 A1, 2007. 07. 26,

WO 03099302 A1, 2003. 12. 04,

CN 1688290 A, 2005. 10. 26,

CN 1886117 A, 2006. 12. 27,

VP Bhatt 等. Indigenous plants in traditional healthcare system in Kedarnath valley of western Himalaya. 《Indian journal of traditional knowledge》. 2008, 第 7 卷(第 2 期), 300-310.

审查员 王鑫

权利要求书1页 说明书27页 附图18页

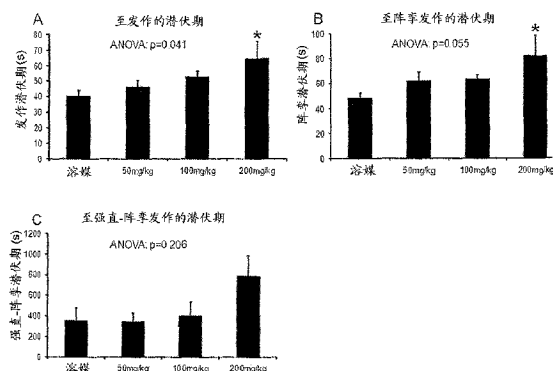
(54) 发明名称

植物大麻素次大麻二酚(CBDV)在治疗癫痫中的用途

(57) 摘要

本发明涉及植物大麻素次大麻二酚(CBDV)以及植物大麻素 CBDV 与四氢次大麻酚(THCV)和大麻二酚(CBD)的组合在癫痫治疗中的用途。本发明还涉及植物大麻素 CBDV 与标准抗癫痫药(SAED)组合的用途。优选所述 SAED 是乙琥胺、丙戊酸盐或苯巴比妥之一。

CBDV 对 PTZ-诱导的癫痫发作的起始和发展的作用



1. 治疗有效量的植物大麻素次大麻二酚 (CBDV) 在制备用作癫痫治疗中的抗惊厥剂的药物中的用途。

2. 权利要求 1 的用途, 其中所述药物用于治疗全身性癫痫发作或颞叶癫痫发作。

3. 前述权利要求中任一项的用途, 其中 CBDV 与一种或多种其它治疗有效的植物大麻素一起使用。

4. 权利要求 3 的用途, 其中所述一种或多种其它治疗有效的植物大麻素是四氢次大麻酚 (THCV)。

5. 权利要求 3 的用途, 其中所述一种或多种其它治疗有效的植物大麻素是大麻二酚 (CBD)。

6. 权利要求 3 的用途, 其中所述一种或多种其它治疗有效的植物大麻素是 THCV 和 CBD。

7. 权利要求 1 或权利要求 2 的用途, 其中 CBDV 呈分离的形式。

8. 权利要求 1 或权利要求 2 的用途, 其中 CBDV 呈植物药物物质的形式, 在所述植物药物物质中 CBDV 构成总植物大麻素部分的 52-64% (w/w)。

9. 权利要求 1 或权利要求 2 的用途, 其中 CBDV 与标准抗癫痫药组合使用。

10. 权利要求 9 的用途, 其中所述标准抗癫痫药的作用机制是通过钠通道或钙通道起作用, 或增强 GABA 能抑制。

11. 权利要求 10 的用途, 其中所述标准抗癫痫药的作用机制是通过钠或钙通道起作用, 并且:

调节低阈值或瞬时神经元钙流动; 或

降低高频神经元触发和钠依赖性动作电位并且还可额外增强 GABA 效应。

12. 权利要求 10 或 11 的用途, 其中所述标准抗癫痫药是苯巴比妥、乙酰胺或丙戊酸盐。

13. 权利要求 1 或权利要求 2 的用途, 其中次大麻二酚 (CBDV) 不显示明显的运动副作用。

14. 大麻植物提取物在制备用作癫痫治疗中的抗惊厥剂的药物中的用途, 其中大麻植物提取物包含含植物大麻素的组分和含非植物大麻素的组分, 其中含植物大麻素的组分构成至少 50% (w/w) 的大麻植物提取物并且包含作为主要植物大麻素的 CBDV 构成总植物大麻素部分的 52-64% (w/w), 和作为次要植物大麻素的 CBD 构成总植物大麻素部分的 22-27% (w/w), 并且其中含非植物大麻素的组分包含单萜部分和倍半萜部分。

15. 权利要求 14 的用途, 其还包含 THCV。

16. 权利要求 14-15 中任一项的用途, 其中含植物大麻素的组分构成 64-78% (w/w) 的大麻植物提取物。

17. 权利要求 16 的用途, 其中大麻植物提取物包含总植物大麻素部分的 3.9-4.7% (w/w) THCV。

18. 权利要求 14 或 15 的用途, 其中大麻植物提取物不显示明显的运动副作用。

19. 包含治疗有效量的 CBDV 和至少一种药学上可接受的赋形剂的制剂在制备用作癫痫治疗中的抗惊厥剂的药物中的用途。

20. 权利要求 19 的用途, 其中所述制剂不显示明显的运动副作用。

植物大麻素次大麻二酚 (CBDV) 在治疗癫痫中的用途

[0001] 本发明涉及植物大麻素次大麻二酚 (cannabidivarin, CBDV) 以及植物大麻素 CBDV 与四氢次大麻酚 (tetrahydrocannabivarin, THCV) 和大麻二酚 (cannabidiol, CBD) 的组合在治疗癫痫中的用途。本发明还涉及植物大麻素 CBDV 与标准抗癫痫药 (SAED) 组合的用途。优选地, CBDV 与这样的 SAED 组合使用: 所述 SAED 的作用机制是通过钠通道或钙通道起作用, 更优选以下之一:

[0002] ● 调节低阈值或瞬时神经元钙流动的 SAED, 以乙琥胺为例; 或

[0003] ● 降低高频神经元触发和钠依赖性动作电位并且还可额外增强 GABA 效应的 SAED, 以丙戊酸盐 (valproate) 为例。

[0004] 另外, CBDV 可与具有以下作用机制的 SAED 组合使用:

[0005] ● 增强 GABA 能抑制的 SAED, 以苯巴比妥为例。

[0006] 背景

[0007] 癫痫是呈现宽范围疾病的慢性神经障碍, 其影响全世界约 5 千万人 (Sander, 2003)。对身体内部“内源性大麻素”系统了解的加深表明基于大麻的药物可具有治疗该中枢神经系统超兴奋性障碍的潜力 (Mackie, 2006, Wingerchuk, 2004, Alger, 2006)。

[0008] 已将大麻归为具有促-惊厥剂 (Brust 等, 1992) 和抗惊厥剂两种作用。因此, 仍有待确定大麻素是否代表待揭开的治疗抗惊厥药, 或相反地代表对于大麻的消遣和药物使用者而言的潜在的危险因素 (Ferdinand 等, 2005)。

[0009] 1975 年 Consroe 等描述了年轻男性的病例, 对该男子进行标准治疗 (苯巴比妥 (phenobarbital) 和苯妥英 (phenytoin)) 未能控制其癫痫发作。当他开始在社交上吸大麻时, 他没有癫痫发作。然而当他仅吸大麻时, 其恢复癫痫发作。他们的结论是“大麻在人癫痫中可具有抗惊厥剂作用”。

[0010] Ng (1990) 的研究涉及 308 个癫痫患者的更大群体, 这些患者在首次癫痫发作之后住院。将他们与未患癫痫发作的 294 个患者的对照群体相比较, 并且发现使用大麻似乎降低患癫痫发作的可能性。然而, 该研究受到医学研究所报告 (Institute of Medicine report) (1999) 的批评, 报告声称该研究“无说服力”, 因为“该研究未包括住院前的健康状况测量值并且他们健康状况的差异可影响他们的药物使用”而不是与此相反。

[0011] 3 项对照试验已研究大麻二酚的抗癫痫潜力。在每一项中, 将大麻二酚以口服形式给予全身性癫痫大发作或局灶性癫痫发作患者。

[0012] Cunha 等 (1980) 报道了有关 16 个癫痫大发作患者的研究, 这些患者对常规药物治疗恢复不好。他们接受定期药物治疗和 200-300mg 大麻二酚或安慰剂。在接受 CBD 的患者中, 3 人显示完全改善, 2 人部分改善, 2 人轻度改善, 而 1 人无变化。唯一不需要的作用是轻度镇静。在接受安慰剂的患者中, 1 人改善, 而 7 人无变化。

[0013] Ames (1986) 报道了一项较不成功的研究, 其中除标准抗癫痫药之外, 还每天将 200-300mg 大麻二酚给予 12 个癫痫患者。癫痫发作频率似乎没有显著改善。

[0014] Trembly 等 (1990) 报道了单个患者的开放试验, 在 10 个月内每天给予该患者 900-1200mg 大麻二酚。在该单个患者中癫痫发作频率显著降低。

[0015] 除了提出 CBD 可能有益的公开文献之外,还有一份报道 (Davis & Ramsey) 指出将四氢大麻酚 (THC) 给予 5 个教养院儿童,他们对标准治疗 (苯巴比妥和苯妥英) 无反应。一人完全摆脱了癫痫发作,一人几乎完全摆脱了癫痫发作,其他 3 人跟以前一样。

[0016] 在 WO 2006/054057 中提及大麻素四氢次大麻酚 (THCV) 可作为抗癫痫药,这在 Thomas 等,2005 中得以证实。

[0017] 申请 WO 2007/138322 证明 CBD 是 CB1 受体和 CB2 受体的反向激动剂并提出该化合物及其结构相关化合物 (包括 CBDV) 在涉及这些受体的各种各样的病症中可能具有治疗益处。更具体的是,数据证明大麻素 CBD 减少大鼠体重。

[0018] 然而,有关大麻素的其它工作已经证明尽管 THCV 的结构与 THC 相似,但这两种化合物对 CB1 受体的行为相当不同,因此并不能得出丙基大麻素类似物的行为类似于它们的戊基等同物。

[0019] 此外在 2007 年, Deshpande 等的研究确定 CB1 拮抗剂利莫那班是促 - 惊厥剂;该研究证明 CB1 受体的拮抗作用引起癫痫活性。来自该研究的推论是作为 CB1 受体拮抗剂起作用的大麻素可能并不能用作抗惊厥剂;的确,它们可加重这类病症。

[0020] WO 2009/007697 描述了 THCV 和 CBD 药物制剂。建议这类制剂用于许多不同类型的疾病,包括癫痫。

[0021] 申请 WO 2007/083098 描述了具有神经保护性能的大麻植物提取物的用途。已证明含有 THC 和 CBD 的大麻素提取物比它们纯的对应物在该医学领域中更有效。

[0022] 申请 WO 02/064109 描述了使用大麻素 THC 和 CBD 的药物制剂。该申请提出这些大麻素的丙基类似物也可用于所述制剂。自从该申请写成之后,已经证明 THCV 与 THC 的行为方式很不同,因此丙基大麻素类似物与它们的戊基对应物的行为方式类似的假说现在并不成立。

[0023] 申请 GB0911580.9 描述了 THCV 在治疗全身性癫痫发作中的用途,并且还描述了 CBD 与 THCV 组合的用途。

[0024] 然而,有超过 40 种可识别类型的癫痫综合征,部分地由于发作易感性因患者而异 (McCormick 和 Contreras, 2001, Lutz, 2004) 并且难题在于找到有效针对这些不同类型的药物。

[0025] 神经元活性是脑功能正常的前提。然而,干扰神经元活性的兴奋性 - 抑制性平衡可诱导癫痫发作。这些癫痫发作可分为两种基本类型:

[0026] a) 部分性癫痫发作,和

[0027] b) 全身性癫痫发作。

[0028] 部分性癫痫发作源自特定脑区域并且保持局部性的最常见的是颞叶 (包含海马),而全身性癫痫发作作为部分性癫痫发作的继发全身化 (secondary generalisation) 出现于整个前脑 (McCormick 和 Contreras, 2001, Lutz, 2004)。直到 1969 年国际抗癫痫联盟 (International League Against Epilepsy) 发布了癫痫发作的分类方案,这一部分性和全身性癫痫发作分类的概念才变成惯例 (Merlis, 1970, Gastaut, 1970, Dreifuss 等, 1981)。

[0029] 国际抗癫痫联盟还对部分性癫痫发作进行分类,根据意识状态的存在情况或损害,将其分为单纯和复杂部分性发作 (Dreifuss 等, 1981)。

[0030] 该联盟还将全身性癫痫发作分为诸多临床发作类型,其中的一些实例在下文概述:

[0031] 失神发作经常出现,其发病突然并且中断正在进行的活动。另外,言语减慢或受阻,发作仅持续几秒钟 (Dreifuss 等, 1981)。

[0032] 强直-阵挛发作,通常称为“大发作”,是最常见的全身性癫痫发作 (Dreifuss 等, 1981)。此全身性癫痫发作类型具有两个阶段:强直性肌肉收缩,随后是抽搐动作的阵挛阶段。患者在整个发作过程以及在此后可变的一段时间内一直无意识。

[0033] 失张力发作,也称为“跌倒发作”,是身体内特定肌肉、肌肉群或全身肌肉的肌肉紧张度突然丧失的结果 (Dreifuss 等, 1981)。

[0034] 癫痫发作的发病可威胁生命,患者还遭受长期健康纠缠 (Lutz, 2004)。这些纠缠可呈现许多形式:

[0035] ●心理健康问题(例如妨碍儿童期谷氨酸能突触的正常发育);

[0036] ●认知缺陷(例如海马中神经元回路学习和储存记忆的能力不断下降);和

[0037] ●形态学变化(例如兴奋性中毒中引起的中生颞叶癫痫患者海马 CA1 区和 CA3 区的神经元选择性缺失) (Swann, 2004, Avoli 等, 2005)。

[0038] 值得注意的是,癫痫还极大地影响患者的生活方式—可能生活在担心大发作的恐惧里而造成损伤(例如头损伤),或者不能执行日常事务或者不能开车,除非有很长的不发作期 (Fisher 等, 2000)。

[0039] 尽管 20 世纪 80 年代/90 年代在抗惊厥剂领域的研究中有关 CBD 在癫痫中的历史性工作集中在许多其它候选物上,但是它们中的许多目前经批准用于治疗癫痫。这类药物包括:乙酰醋胺 (acetazolamide)、卡马西平、氧异安定 (clobazam)、氯硝西泮、乙琥胺、醋酸艾司利卡西平 (eslicarbazepine acetate)、加巴喷丁、拉科酰胺 (lacosamide)、lamotrigine、左乙拉西坦、奥卡西平、苯巴比妥、苯妥英、普加巴林、扑米酮、卢非酰胺 (rufinamide)、丙戊酸钠、噻加宾、托吡酯、丙戊酸盐、氨己烯酸 (vigabatrin) 和唑尼沙胺。

[0040] 已经了解这些药物中的某些的作用方式,但对于其它药物尚未知晓。某些作用方式示于下表1:(改编自: Schachter SC. Treatment of seizures. 载于: Schachter SC, Schomer DL, 编著。The comprehensive evaluation and treatment of epilepsy. San Diego, CA: Academic Press;1997. 第 61-74 页)。

[0041] 表 1.

[0042]

抗癫痫药	作用机制	涉及到的钠或钙或 GABA 通道
巴比妥类：扑米酮(麦苏林(Mysoline)), 苯巴比妥	增强 GABA 能抑制	GABA
卡马西平(得理多(Tegretol), 得理多-XR, Carbatrol)	抑制电压依赖性钠通道	钠
乙琥胺(Zarontin)	调节低阈值或瞬时神经元钙流动	钙
非氨酯(非尔氨酯(Felbatol))	未知	
加巴喷丁(Neurontin)	未知	
拉莫三嗪(Lamictal)	抑制电压依赖性钠通道, 导致兴奋性神经递质谷氨酸和天冬氨酸的释放减少	钠
苯妥英(Dilantin, Phenytek)	阻断钠依赖性动作电位; 降低神经元钙摄取	钠/钙
丙戊酸盐(Depakote, Depakote ER, Depakene, 丙戊酸)	降低高频神经元触发和钠依赖性动作电位; 增强 GABA 效应	钠/GABA

[0043] 然而, 尽管在过去 20 年内引入大约 20 种不同化合物治疗癫痫, 但是仍然需要替代药物, 有如下的几个原因:

[0044] i) 1-2% 世界人口患有癫痫 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/ppmc/articles/PMC1808496/>);

[0045] ii) 这其中有 30% 对于现有治疗是顽固性的; 和

[0046] iii) 现有治疗还具有明显的运动副作用 (<http://en.wikipedia.org/wiki/Epilepsy>)。

[0047] 例如, 在大鼠癫痫模型中, 当以大于 200mg/kg 的剂量给予大鼠时, 丙戊酸盐和乙琥胺两者都显示出明显的运动及其它方面的副作用 (包括镇静), 当苯巴比妥剂量大于 250 mg/kg 时也一样。

[0048] 3 个充分建立且广泛应用的癫痫体内模型是:

[0049] ● 戊四唑诱导的 (PTZ) 全身性癫痫发作模型 (Obay 等, 2007, Rauca 等, 2004);

[0050] ● 毛果芸香碱诱导的颞叶 (即海马) 癫痫发作模型 (Pereira 等, 2007); 和

[0051] ● 青霉素诱导的部分性癫痫发作模型 (Bostanci and Bagirici, 2006)。

[0052] 它们提供了一系列癫痫发作和癫痫模型, 这对人类治疗性研究是必需的。

[0053] 本发明的目的是鉴定用于治疗癫痫的新型抗惊厥剂。

[0054] 优选地, 新型抗惊厥剂将有效用于目前的现有药物标准抗癫痫药 (SAED) 无法充分提供的领域。

[0055] 优选地, 新型抗惊厥剂将具有比现有 SAED 更好的副作用概况 (profile), 尤其是当后者引起运动副作用时。

[0056] 另外希望所述化合物与标准治疗并行用于癫痫, 解决尚未满足的需要和 / 或允许使用更低剂量, 从而抵消这些现有 SAED 的某些副作用。

[0057] 定义

[0058] “植物大麻素”是源自天然的大麻素并存在于大麻植物中。植物大麻素可以是分离的大麻素或以植物药物物质形式存在。

[0059] “分离的大麻素”定义为从大麻植物中提取并纯化到除去次要和少数大麻素和非大麻素部分等所有额外组分的程度的植物大麻素。

[0060] “植物药物物质”或“BDS”在以下文献中定义为“源自一种或多种植物、藻类或显微真菌的药物 :Guidance for Industry Botanical Drug Products Draft Guidance, 2000 年 8 月, US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Centre for Drug Evaluation and Research。它可通过一种或多种以下方法从植物原料中制备而来 :粉碎、煎煮、压榨、水萃取、乙醇提取或其它类似方法。”。植物药物物质不包括源自天然来源并经高度纯化或化学修饰的物质。因此,就大麻而言,源自大麻植物的 BDS 不包括经高度纯化的药典级别大麻素。

[0061] 在本发明中,认为 BDS 具有两种组分 :含植物大麻素的组分和含非植物大麻素的组分。优选含植物大麻素的组分是较大组分,其含有大于 50% (w/w) 的总 BDS,而含非植物大麻素的组分是较小组分,其含有小于 50% (w/w) 的总 BDS。

[0062] 在 BDS 中含植物大麻素的组分含量可大于 55%、直到 60%、65%、70%、75%、80% 至 85% 或更多的总提取物。实际量可能取决于所用原料和所用的提取方法。

[0063] 在 BDS 中的“主要植物大麻素”是以大于其它植物大麻素的量存在的植物大麻素。优选主要植物大麻素以大于 40% (w/w) 的总提取物的量存在。更优选主要大麻素以大于 50% (w/w) 的总提取物的量存在。还更优选主要植物大麻素以大于 60% (w/w) 的总提取物的量存在。

[0064] 在 BDS 中主要植物大麻素的量优选大于 75%,还更优选大于 85% 的含植物大麻素的部分,和还更优选大于 95% 的含植物大麻素的部分。

[0065] 在某些情况下,例如当主要大麻素是 CBDV 或 THCVA 时,在 BDS 中主要植物大麻素的量较低。在此植物大麻素的量优选大于 55% 的含植物大麻素的部分。

[0066] 在 BDS 中“次要植物大麻素”是以显著比例存在的植物大麻素。优选次要植物大麻素以大于 5% (w/w) 的总提取物,更优选大于 10% (w/w) 的总提取物,还更优选大于 15% (w/w) 的总提取物的量存在。某些 BDS 可具有以显著量存在的两种或更多种次要植物大麻素。然而并非所有 BDS 都具有次要植物大麻素。例如 CBG BDS 在其提取物中就没有次要植物大麻素。

[0067] 在 BDS 中“少数植物大麻素”可描述为所有植物大麻素组分中除去主要和次要植物大麻素的剩余部分。优选少数植物大麻素以小于 10% (w/w) 的总提取物,还更优选小于 5% (w/w) 的总提取物的总量存在,和最优选少数植物大麻素以小于 2% (w/w) 的总提取物的量存在。

[0068] 通常, BDS 中含非植物大麻素的组分包含萜类、甾醇类、甘油三酯类、烷烃类、鲨烯类、生育酚类和类胡萝卜素类。

[0069] 这些化合物,无论是单独还是与植物大麻素组合,在 BDS 的药理学上起到重要作用。

[0070] “萜部分”是重要的并且可分为两类萜 :单萜或倍半萜。这些萜组分还可按照与大麻素类似的方式进一步定义。

[0071] 在 BDS 中含非植物大麻素的组分的量可小于 45%、40%、35%、30%、25%、20% 至 15% 或更少的总提取物。实际量可能取决于所用原料和所用的提取方法。

[0072] 在 BDS 中“主要单萜”是以高于其它单萜类的量存在的单萜。优选主要单萜以大于 20% (w/w) 的总萜含量的量存在。更优选主要单萜以大于 30% (w/w) 的总萜含量, 还更优选大于 40% (w/w) 的总萜含量, 和还更优选大于 50% (w/w) 的总萜含量的量存在。主要单萜优选是桂叶烯或蒎烯。在某些情况下可有两种主要单萜。在这样的情况下, 主要单萜优选是蒎烯和 / 或桂叶烯。

[0073] 在 BDS 中“主要倍半萜”是以高于所有其它萜类的量存在的倍半萜。优选主要倍半萜的以大于 20% (w/w) 的总萜含量, 还更优选大于 30% (w/w) 的总萜含量的量存在。主要倍半萜优选是石竹烯和 / 或蛇麻烯。

[0074] 倍半萜组分可具有“次要倍半萜”。次要单萜优选是蒎烯, 优选其以大于 5% (w/w) 的总萜含量的量存在, 更优选次要萜以大于 10% (w/w) 的总萜含量的量存在。

[0075] 次要倍半萜优选是蛇麻烯, 优选其以大于 5% (w/w) 的总萜含量的量存在, 更优选次要萜以大于 10% (w/w) 的总萜含量的量存在。

[0076] 另外, 植物提取物可通过将分离的植物大麻素引入非大麻素植物部分而制备, 后者可得自零大麻素植物或无 CBG 的 BDS。

[0077] CBDV 的结构示于以下:

[0078]



[0079] 依用于提取大麻素的方法而定, 植物大麻素可以中性 (脱羧形式) 或羧酸形式存在。例如已知对羧酸形式加热将会使大部分羧酸形式脱羧而变成中性形式。

[0080] 植物大麻素也可以戊基 (5 碳原子) 或丙基 (3 碳原子) 的变体形式存在。起初认为丙基和戊基的变体具有类似特性, 然而最近的研究却表明并非如此。例如已知植物大麻素 THC 是 CB1 受体激动剂, 而发现丙基变体 THCV 却是 CB1 受体拮抗剂, 意味着其具有几乎相反的作用。

[0081] 这由 Pertwee (2000) 在以下文献中证实: Cannabinoid receptor ligands: clinical and neuropharmacological considerations relevant to future drug discovery and development, 其描述了 CB1 受体拮抗剂的潜在治疗靶标, 包括食欲抑制、减少帕金森病 (Parkinson's disease) 患者 L-多巴的运动障碍, 控制急性精神分裂症和改善阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease) 相关的认知记忆功能障碍。所有这些治疗靶标与对于 CB1 受体激动剂所提出的那些 (例如食欲刺激和减少疼痛) 非常不同。

[0082] 预计用于临床开发的 CBDV 制剂可经口服递送, 其含有 CBDV BDS 或分离的 CBDV。

[0083] 单位剂量可因所治疗癫痫的类型和严重程度不同而异。每一剂量单位可包含小于或等于 1000mg CBDV 且给药次数也可变化以适应患者的需求。

[0084] 发明简述

[0085] 依据本发明的第一方面, 提供用于治疗癫痫发作的植物大麻素 CBDV。

[0086] 很明显,在癫痫的 MES 模型中 CBDV 显示比 CBD 大得多的抗惊厥活性。

[0087] 依据本发明的第二方面,提供植物大麻素 CBDV 在制备用于治疗癫痫发作的药物中的用途。

[0088] 所述药物可以是包含 CBDV 和至少一种药学上可接受的赋形剂的制剂。

[0089] 依据本发明的第三方面,提供用于治疗癫痫发作的方法,其包括给予有需要的受试者治疗有效量的植物大麻素 CBDV。

[0090] 优选所治疗的癫痫发作类型是全身性癫痫发作或颞叶癫痫发作。

[0091] 在一个实施方案中,CBDV 与一种或多种治疗有效的植物大麻素一起使用。

[0092] 优选一种或多种治疗有效的植物大麻素是 THCV 和 / 或 CBD。

[0093] 在一个实施方案中,CBDV 呈分离的形式。

[0094] 在另一个实施方案中,CBDV 呈植物药物物质的形式。

[0095] 在再一个实施方案中,CBDV 与标准抗癫痫药组合使用。所述 SAED 可以是这样的 SAED:其作用机制是通过钠通道或钙通道起作用,更优选以下之一:

[0096] ●调节低阈值或瞬时神经元钙流动的 SAED,以乙琥胺为例;或

[0097] ●降低高频神经元触发和钠依赖性动作电位并且还可额外增强 GABA 效应的 SAED,以丙戊酸盐为例。

[0098] 或者,所述 SAED 可以是这样的 SAED:其作用机制是增强 GABA 能抑制,以苯巴比妥为例。

[0099] 所述组合可在以下的一种或多种情况下证明是有益的:

[0100] a. 降低强直-阵挛发作的发病率;

[0101] b. 增加患者无癫痫发作的时间;

[0102] c. 增加至癫痫发作的潜伏期;

[0103] d. 减少癫痫发作的总持续时间;

[0104] e. 降低癫痫发作的严重程度和死亡率;和

[0105] f. 降低 SAED 相关的运动和其它方面的副作用(包括镇静)。

[0106] 因此,所述组合尤其非常适合治疗通常被认为是现有药物难治的病症。所述组合看来也允许使用比单独使用 SAED 的所用剂量更低的 SAED。

[0107] 依据本发明的第四方面,提供用于治疗癫痫发作的大麻植物提取物,其包含含植物大麻素的组分和含非植物大麻素的组分,其中含植物大麻素的组分构成至少 50% (w/w) 的大麻植物提取物并且包含作为主要植物大麻素的 CBDV 和作为次要植物大麻素的 CBD,并且其中含非植物大麻素的组分包含单萜部分和倍半萜部分。

[0108] 依据本发明的第五方面,提供大麻植物提取物在制备用于治疗癫痫发作的药物中的用途,所述提取物包含含植物大麻素的组分和含非植物大麻素的组分,其中含植物大麻素的组分构成至少 50% (w/w) 的大麻植物提取物并且包含作为主要植物大麻素的 CBDV 和作为次要植物大麻素的 CBD,并且其中含非植物大麻素的组分包含单萜部分和倍半萜部分。

[0109] 优选所述大麻植物提取物还包含 THCV。

[0110] 优选所述含植物大麻素的组分构成 64-78% (w/w) 的大麻植物提取物。

[0111] 优选所述含植物大麻素的组分包含总植物大麻素部分的 52-64% (w/w) CBDV,总植物大麻素部分的 22-27% (w/w) CBD 和总植物大麻素部分的 3.9-4.7% (w/w) THCV。

[0112] 附图简述

[0113] 参考以下附图,下文将进一步描述本发明的实施方案,其中

[0114] 图 1 显示 CBDV 对 PTZ- 诱导的癫痫发作的发生和发展的作用;

[0115] 图 2 显示 CBDV 对癫痫发作的严重程度和死亡率的作用;

[0116] 图 3A-C 显示 CBDV 和乙琥胺对 PTZ- 诱导的癫痫发作的作用;

[0117] 图 4A-D 显示在 PTZ- 诱导的癫痫发作中 CBDV 和乙琥胺对癫痫发作的发病率和死亡率的作用;

[0118] 图 5 显示 CBDV 和丙戊酸盐对 PTZ- 诱导的癫痫发作的作用(发作潜伏期和癫痫发作持续时间);

[0119] 图 6A-B 显示在 PTZ- 诱导的癫痫发作中 CBDV 和丙戊酸盐对癫痫发作的严重程度和死亡率的作用;

[0120] 图 7A-D 显示在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中不同剂量的单独 CBDV 的作用(癫痫发作严重程度、死亡率、无癫痫发作和发作潜伏期);

[0121] 图 8A-D 显示在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中不同剂量 CBDV 对癫痫发作的作用(发作次数、发作严重程度、发作潜伏期和发作持续时间);

[0122] 图 9A-B 显示高剂量(200mg/Kg) CBDV 和丙戊酸盐在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中的作用(严重程度和死亡率);

[0123] 图 10A - B 显示高剂量(200mg/Kg) CBDV 和丙戊酸盐在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中的作用(双向潜伏期和发病率);

[0124] 图 11A - B 显示高剂量(200mg/Kg) CBDV 和丙戊酸盐在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中的作用(强直阵挛发生率和持续时间);

[0125] 图 12A-B 显示 CBDV 和苯巴比妥(phenobarital)在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中的作用(严重程度和死亡率);

[0126] 图 13A-B 显示 CBDV 和苯巴比妥(phenobarital)在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中的作用(无癫痫发作和发作潜伏期);

[0127] 图 14 显示 THCV BDS 和 70mg/kg PTZ 对潜伏期至初次和后期癫痫发作严重程度的作用;

[0128] 图 15 显示 THCV BDS 和 70mg/kg PTZ 对癫痫发作持续时间和至死亡的时间的作用;

[0129] 图 16 显示 THCV BDS 和 70mg/kg PTZ 对中度严重程度评分的作用;

[0130] 图 17 显示 THCV BDS 和 70mg/kg PTZ 对死亡率的作用;

[0131] 图 18 显示 THCV BDS 和 80mg/kg PTZ 对潜伏期至初次和后期癫痫发作严重程度的作用;

[0132] 图 19 显示 THCV BDS 和 80mg/kg PTZ 对癫痫发作持续时间和至死亡的时间的作用;

[0133] 图 20 显示 THCV BDS 和 80mg/kg PTZ 对中度严重程度评分的作用;

[0134] 图 21 显示 THCV BDS 和 80mg/kg PTZ 对死亡率的作用;

[0135] 图 22A-D 显示使用经分离 THCV 的 PTZ- 诱导的癫痫发作的发展和持续时间;

[0136] 图 23A-B 显示 CBD 对 PTZ- 诱导的癫痫发作的作用;

[0137] 图 24 显示溶媒对转棒仪 (rotarod) 表现的作用 ;和

[0138] 图 25 显示 CBDV 对转棒仪表现的作用。

[0139] 图 1 说明 : A-C: 至癫痫发作 (A)、阵挛 (B) 和强直 - 阵挛 (C) 发作的平均潜伏期 (以秒计)。通过 ANOVA 和 post hoc Tukey 检验评价统计学显著性,在这两种情况下 $p \leq 0.05$ 被认为具有显著性。数据表示为 $\pm$ S.E.M., * 表明 $p < 0.05$ 。

[0140] 图 2 说明 : A: 癫痫发作的中值严重程度 (灰线), 也显示第 25 和第 75 百分位数 (黑色水平线) 以及最大值和最小值 (分别为向上和向下误差条)。B: 各组中出现强直 - 阵挛发作的动物比例。C: 各组中死亡动物比例。D: 在 PTZ 给予之后在各组中仍然无癫痫发作的动物比例。*、** 和 *** 分别表明 $p \leq 0.05$ 、 0.01 和 0.001 。A: 经 ANOVA 和 post hoc Tukey 检验而检验的中值数据。B-D: 经二项统计检验而检验的百分率。

[0141] 图 3 说明 : A: 发作潜伏期 $\pm$ S.E.M.。B: 严重程度 ;中位值显示为红色, 第 25 和 75 百分位数用方框表示, 误差条代表各组的最大值和最小值。C: 癫痫发作持续时间 $\pm$ S.E.M.。

[0142] 图 4 说明 : A : CBDV 对仍然无癫痫发作的动物比例的作用 (%)。B&C : CBDV 对出现阵挛 (B) 和强直 - 阵挛 (C) 发作的动物比例的作用 (%)。D : CBDV 对死亡率的作用 (%)。

[0143] 图 7 说明 : A : CBDV 对总体癫痫发作严重程度的作用。灰色线表明各组的中值严重程度, “方框”代表第 25 和 75 百分位数范围, 误差条代表最大值和最小值。B, C : CBDV 对 % 死亡率 (B) 和仍然无癫痫发作的动物百分率 (C) 的影响。无癫痫发作认为是 [1] 分或 [0] 分。D: 至首次出现癫痫发作严重程度 [2] 或以上的发作潜伏期 ($\pm$ S.E.M.) (以秒计)。

[0144] 图 8 说明 : A: 癫痫发作的平均次数 (每只动物, 仅包括经历癫痫发作的动物)。B: 实验组中所有发作的中值严重程度, 参见图 1 (PILO) 的曲线描述。C: 至首次发作的潜伏期 ($\pm$ S.E.M.) (以秒计)。D: 实验组中所有发作的平均持续时间 ($\pm$ S.E.M.)。

[0145] 图 14 说明 : 显示至首次肌阵挛抽搐 (FMJ) 和 3.5 分的平均潜伏期 $\pm$ S.E.M.。n = 8 - 10。

[0146] 图 15 说明 : 对于溶媒或对于低、中或高剂量, 显示存活动物中癫痫发作的平均持续时间, 以及死亡动物中从首次发作征兆至死亡的时间 $\pm$ S.E.M.。n = 3 - 10, 取决于在实验组内死亡动物比例。f = 无死亡的溶媒组, 因而此处未显示数值。

[0147] 图 16 说明 : 用溶媒或者用低、中或高剂量治疗的动物组的中值严重程度评分, 所有组的 n = 10。

[0148] 图 17 说明 : 用溶媒或者用低、中或高剂量治疗的动物的死亡率, 表示为百分率。所有组的 n = 10。f = 无死亡的溶媒组, 因此未显示数值。

[0149] 图 18 说明 : 对于溶媒或对于低、中或高剂量, 显示至首次肌阵挛抽搐 (FMJ) 和 3.5 分的平均潜伏期 $\pm$ S.E.M.。n = 7 - 10。

[0150] 图 19 说明 : 对于溶媒或者对于低、中或高剂量, 显示存活动物的癫痫发作的平均持续时间以及死亡动物中从首次发作征兆至死亡的时间 $\pm$ S.E.M.。n = 3 - 7, 取决于实验组内死亡动物比例。

[0151] 图 20 说明 : 对于用溶媒或者用低、中或高剂量治疗的动物组的中值严重程度评分。所有组的 n = 10。

[0152] 图 21 说明 : 对于用溶媒或者用低、中或高剂量治疗的动物的以百分率表示的死

亡率。所有组的 $n = 10$ 。

[0153] 图 22 说明：A、B 和 C 显示对于溶媒和 THCV 给药组，从注射 80 mg/kg PTZ 开始到以下发作的平均潜伏期 (s)：首次发作征兆 (A)；出现肌阵挛发作 (B) 和完全强直 - 阵挛发作 (C)。n=5-16，取决于特定组内每一标记的发生率。D 显示发作后存活动物中的平均发作持续时间 (s)。所有值 $\pm$ S. E. M.，* 表明与溶媒组的显著差异 ($P < 0.05$ ；曼 - 惠特尼 (Mann-Whitney) U 检验)。

[0154] 图 23 说明：A：在给予溶媒和 CBD (1、10、100mg/kg CBD) 的动物 (所有组的 $n=15$) 中作为经 IP 注射 80mg/kg PTZ 后的结果而经历的 % 死亡率。B：在给予溶媒和 CBD (1、10、100mg/kg CBD) 动物中，作为经 IP 注射 80mg/kg PTZ 之后的结果而经历强直 - 阵挛发作的 %。* 表明显著结果 ($p < 0.01$)。

[0155] 图 24 说明：在给予盐水和 2:1:17 cremaphor: 乙醇: 盐水之后至从转棒仪上跌落的中值潜伏期 $\pm$ S. E.。

[0156] 图 25 说明：至从转棒仪上跌落的中值潜伏期 (灰色条)，也给出第 25 和 75 百分位数 (黑方框) 以及最大值和最小值 (误差条)。

[0157] 发明详述

[0158] 以下实施例 1-5 描述分离的 CBDV 在不同癫痫模型中的应用。更多的实施例将会描述植物大麻素 BDS，其包含主要大麻素连同其它次要和少数大麻素以及含非植物大麻素的部分。

[0159] 实施例 1

[0160] 分离的 CBDV 在两种体外癫痫样 (epileptiform) 模型中在海马脑切片的应用

[0161] 从 $P > 21$ Wistar 大鼠中快速制备海马切片并且经多电极阵列 (MEA) 记录活性。

[0162] 为了诱导癫痫样活性，除去 Mg^{2+} (无 Mg^{2+} 模型) 或添加 100 μM 4-氨基吡啶 (4-AP 模型)。当建立癫痫样爆发活性之后 30 min，累积加入 CBDV (1、10、100 μM ；每 30 min 一次)。

[0163] 测定 CBDV 对癫痫样爆发增幅 (burst amplitude) 和持续时间的作用 (表 2.1)。

[0164] 总之，在具有对 CBDV 抗癫痫样作用最大敏感的 CA1 区和 DG 区以及最少敏感的 CA3 的这两种模型中， $\geq 10 \mu M$ 或 100 μM 的 CBDV 显著降低爆发持续时间和增幅。

[0165] 表 2.1. CBDV 对在无 Mg^{2+} 模型和 4-AP 模型中诱导的癫痫样活性的作用

[0166]

	CBDV (μM)	爆发增幅(对照的%)			爆发持续时间(对照的%)		
		DG	CA3	CA1	DG	CA3	CA1
无 Mg^{2+} 模型	1	89.8 $\pm$ 8.6	112.7 $\pm$ 13.7	82.23 $\pm$ 10.4	90.6 $\pm$ 4.5	101.7 $\pm$ 2.3	99.3 $\pm$ 4.5
	10	86.4 $\pm$ 3.6*	104.8 $\pm$ 10.3	79.9 $\pm$ 6.9**	92.0 $\pm$ 3.2*	93.9 $\pm$ 4.1	91.2 $\pm$ 3.8*
	100	79.5 $\pm$ 5.6**	102.9 $\pm$ 13.0	80.4 $\pm$ 8.0*	75.6 $\pm$ 5.4**	78.5 $\pm$ 6.6*	74.0 $\pm$ 5.8**
4-AP 模型	1	94.2 $\pm$ 3.0	103.0 $\pm$ 5.8	89.3 $\pm$ 5.6	95.7 $\pm$ 5.9	91.0 $\pm$ 6.0	104.3 $\pm$ 8.0
	10	91.2 $\pm$ 4.9	121.9 $\pm$ 17.0	88.3 $\pm$ 5.2	83.8 $\pm$ 4.4**	82.5 $\pm$ 4.8*	85.9 $\pm$ 6.2*
	100	95.9 $\pm$ 4.3	110.3 $\pm$ 7.0	89.5 $\pm$ 5.3*	83.4 $\pm$ 4.1**	79.7 $\pm$ 5.4*	85.9 $\pm$ 5.8*

[0167] 数据为平均值 $\pm$ S. E. M；分别地，* = $p \leq 0.05$ ，** = $p \leq 0.01$ ，Wilcoxon 配对检验。

[0168] 来自 5 只大鼠 / 模型的数据， $n=9-13$ 电极。

[0169] 实施例 2

[0170] 分离的 CBDV 在全身性癫痫发作 PTZ 模型中的应用

[0171] 方法：

[0172] 动物：

[0173] 将雄性 Wistar 大鼠 (P24-29 ;75-110g) 用于评价植物大麻素 CBDV 在全身性癫痫发作的 PTZ 模型中的作用。实验前,使动物适应试验环境、鼠笼、注射方案和操作。将动物置于 21°C、50% 湿度和 12 小时光:暗循环 (0900 开灯) 的房间,动物可自由获取食物和水。

[0174] 使用以下公式估算人用剂量当量 (HED)：

[0175]

$$HED = \frac{\text{动物剂量(mg/kg)} \times \text{动物 } K_m}{\text{人 } K_m}$$

[0176] 大鼠的 K_m 为 6, 人的 K_m 为 37。

[0177] 因此,对于约 60Kg 的人,大鼠的 200mg/Kg 剂量等同于人的日剂量约 2000mg。

[0178] 实验设置：

[0179] 将 5 个 6L 带盖的 Perspex 槽置于单个实验台上,槽之间有隔板。将闭路电视 (CCTV) 摄像机安装在隔板上以观察大鼠行为。通过 Brooktree 数字捕获卡 (Bluecherry, USA) 将 Sony Topica CCD 摄像机 (Bluecherry, USA) 经 BNC 导线连接至低噪声 PC。Zoneminder (<http://www.zoneminder.com>) 软件用于监测大鼠,启动和结束录像以及管理视频文件。使用 The Observer (Noldus Technologies), 内部 Linux 脚本用于将视频文件编码为适当格式,用于进一步脱机分析。

[0180] PTZ 模型：

[0181] 将一系列剂量的 PTZ (50-100mg/kg 体重) 用于确定诱导癫痫发作的最佳剂量 (参见下文)。因此,腹膜内 (IP ;含 50mg/ml 贮液的 0.9% 盐水) 注射的 80mg/kg 剂量用于筛选 CBDV。

[0182] 实验方案：

[0183] 实验当天,纯 CBDV 经腹膜内 (i. p.) 注射给予动物,剂量为 50、100 和 200 mg/kg,同时注射匹配量的大麻素溶媒 (2:1:17 乙醇:Cremophor: 0.9%w/v NaCl 溶液) 的动物作为阴性对照组。然后观察动物 1 小时,此后它们接受 IP 注射 80mg/kg PTZ。阴性溶媒对照与给予大麻素的对象平行进行。接受 PTZ 给药之后,观察动物并摄像以确定癫痫发作严重程度以及至若干发作行为类型的潜伏期 (参见以下的体内分析)。在最后一次发作征兆后,对动物进行拍摄半小时,随后放回它们的笼中。

[0184] 体内分析：

[0185] 在实验进行期间观察动物,但使用观察行为分析软件 (The Observer behavioural analysis software) (Noldus, Netherlands) 对录制的视频文件脱机进行所有分析。癫痫发作严重程度评分系统用于测定对象所经历的发作水平 (Pohl & Mares, 1987)。详细记录所有动物的所有发作征兆。

[0186] 表 3.1 癫痫发作严重程度评分量表,改编自 Pohl & Mares, 1987.

[0187]

癫痫发作评分	行为表现	翻正反射
--------	------	------

0	无行为改变	保留
0.5	异常行为（嗅、过度洗涤、定向）	保留
1	孤立的肌阵挛抽搐	保留
2	非典型阵挛发作	保留
3	完全发展的两侧前肢阵挛	保留
3.5	带有强直性成分和身体扭曲的前肢阵挛	保留
4	强直性阶段被抑制的强直 - 阵挛发作	丧失
5	完全发展的强直 - 阵挛发作	丧失
6	死亡	

[0188] 从 PTZ 注射到癫痫发作的特定指征出现的潜伏期：

[0189] 记录从 PTZ 注射到首次肌阵挛抽搐（FMJ；1 分）以及到动物达到“带有强直性成分和身体扭曲的前肢阵挛”（3.5 分）的潜伏期（以秒计）。FMJ 是发作活性起始的指征，同时 >90% 的动物出现 3.5 分，因此是出现更严重发作的良好标记。实验组内的数据表示为平均值 $\pm$ S. E. M.。

[0190] 最大癫痫发作严重程度：

[0191] 基于以下评分量表，将其表示为对于每一实验组的中位值。

[0192] %死亡率：

[0193] 实验组内由于 PTZ- 诱导的癫痫发作而导致死亡的动物百分比。注意出现强直阵挛发作（4 分和 5 分）的大多数动物因此死亡，并且 6 分（死亡）自动表明动物还经历强直 - 阵挛发作。

[0194] 癫痫发作持续时间：

[0195] 从第一次发作征兆（通常为 FMJ）到最后一次发作征兆或死亡时间（在对象死亡的情况下）的时间（以秒计）——分为存活的动物和未存活的动物。对于每一实验组，将其表示为平均值 $\pm$ S. E. M.。

[0196] 统计：

[0197] 为了测定潜伏期和严重程度，对 4 组（溶媒和 50、100 和 200mg/kg CBDV）进行单向方差分析（ANOVA），以检测 CBDV 的总体作用（ $p \leq 0.05$ 被认为具有显著性）。

[0198] 显著 ANOVA 结果通过 post hoc 检验而检验，以检验溶媒组和药物组间的差异（Tukey 检验， $p \leq 0.05$ 被认为具有显著性）。

[0199] 结果：

[0200] 图 1 显示癫痫发作的起始和发展，即通过显示从给予 80mg/kg PTZ 至以下的潜伏期：癫痫发作（图 1A）；阵挛发作的发展（图 1B）和强直 - 阵挛发作的发展（图 1C）。

[0201] 观察到 CBDV 对至癫痫发作起始的潜伏期的显著作用（ $p=0.041$ ；图 1A）；在接受 200mg/kg CBDV 的动物中，该测量值显著高于仅接受溶媒的那些（ $p=0.03$ ）。

[0202] 观察到 CBDV 对至阵挛发作的潜伏期的近 - 显著（near-significant）的作用（ $p=0.055$ ）（图 1B），最重要的是，给予 200mg/kg CBDV 的动物比经溶媒治疗的动物有显著增加（ $p=0.032$ ）。

[0203] 观察到总体或任何特定剂量的 CBDV 对至强直 - 阵挛发作的潜伏期没有显著作用（图 1C），尽管溶媒和 200mg/kg CBDV 组之间的平均值有大的差异；这可能是因为用 200mg/kg CBDV 治疗而发展这些癫痫发作的动物数量少。

[0204] 还用以下 4 种度量评价不同组中动物经历的癫痫发作严重程度：中值严重程度

(图 2A);具有强直-阵挛发作(最严重的发作类型;图 2B)的动物比例;%死亡率(图 2C)和在 PTZ 给予之后最终仍然无癫痫发作的动物比例(图 2D)。

[0205] CBDV 对癫痫发作严重程度有总体显著效应($p=0.007$;图 2A);用 200mg/kg CBDV 治疗的动物比仅用溶媒治疗的动物有显著更低的中值严重程度($p=0.014$)。

[0206] 这反映在以下:用 200mg/kg CBDV 治疗的动物达到最严重(强直-阵挛)发作的比例(3/15)比经溶媒治疗的动物比例(8/15;图 2B; $p=0.01$)更低。

[0207] 在用 100mg/kg CBDV 治疗的动物中保持这样的显著作用(4/15 强直-阵挛发作; $p=0.036$),但 50mg/kg 则未保持。

[0208] 用 100 和 200mg/kg CBDV 治疗的动物死亡比例(15 只中分别有 1 和 2 只)显著低于经溶媒治疗组(8/15; p 分别 $=0.002$ 和 <0.001 ;图 2C)。

[0209] 最终,与溶媒组相比,用 200mg/kg CBDV 治疗的动物完全未经历癫痫发作的百分比(5/15)显著更高(1/15; $p=0.003$;图 2D)。

[0210] 结论:

[0211] 从以上数据可看出 CBDV 具有作为抗癫痫药的巨大潜力。

[0212] 实施例 3

[0213] 分离的 CBDV 与标准抗癫痫药(SAED)在全身性癫痫发作的 PTZ 模型中的应用

[0214] 方法:

[0215] 如以上实施例 2 所述。测试了不同剂量的 SAED 的乙琥胺和丙戊酸盐与剂量为 200 mg/kg 的经分离 CBDV 的组合。

[0216] 结果:

[0217] 图 3 和图 4 详细示出了 SAED 乙琥胺(一种通过钙通道起作用的药物)与分离的 CBDV 的应用。尽管这两种化合物组合延长了发作潜伏期,缩短了癫痫发作持续时间,导致更多动物无癫痫发作并减少了强直/阵挛发作,但这两种化合物间却没有统计学显著的相互作用。CBDV 与丙戊酸盐在死亡率上有类似结果,但显然 CBDV 比现有癫痫药丙戊酸盐能更大程度地降低癫痫严重程度。

[0218] 图 5 和图 6 详细示出了 SAED 丙戊酸盐(一种通过钠通道起作用的药物)与分离的 CBDV 的应用。当同时给予时,丙戊酸盐和 CBDV 独立诱导发作潜伏期、癫痫发作严重程度和死亡率的显著减少,但组合给药并无协同效应。

[0219] 这两组结果表明其组合应用的益处。

[0220] 实施例 4

[0221] 分离的 CBDV 在癫痫的毛果芸香碱模型中的应用

[0222] 方法:

[0223] 以 50、100 和 200mg/kg 的剂量于标准溶媒(1:1:18 乙醇:Cremophor:0.9% $\sqrt{}$ NaCl)中经腹膜内(IP)注射分离的 CBDV,这与仅接受匹配量溶媒的动物并行进行。15 分钟后,给予甲基东莨菪碱(1 mg/kg;以降低毛果芸香碱的外周毒蕈碱作用),45 分钟后,给予毛果芸香碱(380 mg/kg, IP)。

[0224] 结果:

[0225] 图 7 和图 8 详细示出了 CBDV 对毛果芸香碱-诱导的癫痫发作的作用。可以观察到,较低剂量的 CBDV (50 和 100 mg/kg)降低死亡率。

[0226] 实施例 5

[0227] 分离的 CBDV 与标准抗癫痫药 (SAED) 在癫痫的毛果芸香碱模型中的应用

[0228] 方法：

[0229] 如以上实施例 4 所述，使用不同剂量的 SAED 丙戊酸盐和苯巴比妥以及 200 mg/kg 分离的 CBDV。这两种药物是具有不同作用机制的两类抗惊厥剂的代表。丙戊酸盐通过钠通道起作用，而苯巴比妥增强 GABA 能抑制。

[0230] 结果：

[0231] 图 9 详细示出了当 CBDV 与 SAED 丙戊酸盐组合使用时所得到的数据。CBDV 和丙戊酸盐两者对癫痫发作严重程度发挥独立的和积极的作用，但仅 CBDV、而非丙戊酸盐独立地引起死亡率显著降低。CBDV 与丙戊酸盐的组合增加癫痫发作潜伏期和降低癫痫发作发病率。然而这些数据并无统计显著性。

[0232] 图 10 详细示出了当 CBDV 与 SAED 丙戊酸盐组合使用时所得到的更多数据。显示出 CBDV 显著降低双向癫痫发作发病率（尤其是与高剂量丙戊酸盐 (250mg/kg)）。

[0233] 图 11 详细示出了当 CBDV 与 SAED 丙戊酸盐组合使用时所得到的更多数据。显示出当 CBDV 与所有剂量的丙戊酸盐组合使用时降低强直 / 阵挛发生率和总强直阵挛持续时间两者，而且 CBDV（单独的）与强直 - 阵挛发作的相互作用具有统计显著性。

[0234] 图 12 详细示出了当 CBDV 与 SAED 苯巴比妥组合使用时所得到的数据。可看出，CBDV 显著降低了严重程度并且该组合也是显著的。

[0235] 图 13 详细示出了当 CBDV 与 SAED 苯巴比妥组合使用时所得到的更多数据。尽管这些数据未显示统计显著性，但有强烈趋势，尤其是在较低剂量水平的苯巴比妥时，趋向于增加无癫痫发作动物和延长发作潜伏期。

[0236] 实施例 6

[0237] 大麻素植物药物物质的分析

[0238] 如以上实施例所述，CBDV BDS 包括 CBDV、大麻素 CBD 和 THCV。鉴于在 GB0911580.9 中公开的发现：CBD 和 THCV 具有抗惊厥活性，除 CBDV 外，还含有 CBD 和 THCV 的 CBDV 提取物使其比分离的 CBDV 可能更引人关注，尤其是当提取物可仅具有非常少量的 THC 时。

[0239] 次大麻二酚 (CBDV) 植物药物物质分析

[0240] CBDV BDS 可得自富含 CBDV 的植物的提取。可专门培育这样的化学变型 (chemovar)，以产生显著比例的大麻素，例如 CBDV。

[0241] 也可通过将分离的 CBDV 加入到无大麻素的大麻素 BDS 中，制备 CBDV BDS。这样的无大麻素的大麻素 BDS 可从 CBG BDS 或零大麻素植物例如 US0-31 中制备。因为 CBG 是 CBG BDS 中存在的主要大麻素，可使用本领域已知的标准技术例如柱色谱，相对容易地除去存在的 CBG。可对 BDS 完全分级，使得可除去单个化合物以便纯化，然后将剩余物合并，除去溶剂后产生无 BDS 的所选化合物。

[0242] CBDV 化学型 (chemotype) 由同时携带推定的 B₀ 基因和 A_{PR} 基因的植物育种而产生。

[0243] B₀ 基因指导植物合成 CBD 分子的环部分，而 A_{PR} 基因指导植物合成具有丙基侧链的该分子，而不是 CBD 中常见的戊基链。

[0244] 培育 CBDV 化学变型并且分析 BDS，如下表 4.1 所述：

[0245] 表 4.1 次大麻二酚 BDS 占总体的含量和范围

[0246]

CBDV BDS	量(% w/w)	范围 ($\pm 10\%$)	范围 ($\pm 25\%$)	范围 ($\pm 50\%$)
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 (相关物质)	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
总大麻素	71.11			
总非大麻素	28.89			

[0247] CBDV BDS 的含总植物大麻素的部分包括大约 41% 的总 BDS。依照变异性,该部分可在 $\pm 10\%$ 至 $\pm 50\%$ 之间变动。

[0248] 表 4.2 次大麻二酚 BDS 占大麻素的百分率

[0249]

CBDV BDS	量 (总大麻素的%)
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 (相关物质)	3.09
CBC	1.31

[0250] CBDV BDS 中主要植物大麻素含量占含植物大麻素部分 % 的大约 58%。依照变异性,该部分可在 $\pm 10\%$ 至 $\pm 50\%$ 内变动。

[0251] 在本实施例中,旨在独立于“其它”大麻素而提及主要或次要组分。

[0252] 与以下 THCV 提取物相比,发现 CBDV BDS 包含相对大量的已知抗癫痫植物大麻素 CBD 和 THCV 以及相对少量的 THC,从该发现推断使用呈 BDS 形式的 CBDV 对癫痫而言将会是有希望的新的治疗法。

[0253] 四氢次大麻酚 (THCV) 植物药物物质分析

[0254] 下表 4.3 详细给出 THCV BDS 的大麻素组分,可看出次要大麻素是 THC 并且与其它

大麻素相比其以显著量存在。

[0255] 表 4.3 四氢次大麻酚 BDS 占总体的量和范围

[0256]

THCV BDS	量(% w/w)	范围 ($\pm 10\%$)	范围 ($\pm 25\%$)	范围 ($\pm 50\%$)
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
未知	0.58	0.52 – 0.64	0.44 – 0.73	0.29 – 0.87
总大麻素	81.93			
总非大麻素	18.07			

[0257] THCV BDS 的含总植物大麻素的部分包括大约 74–90% (w/w) 的总 BDS。

[0258] 表 4.4 四氢次大麻酚 BDS 占大麻素的百分比

[0259]

THCV BDS	量 (总大麻素的%)
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
未知	0.71

[0260] THCV BDS 中主要植物大麻素的量占含植物大麻素部分的百分比为大约 71–87% (w/w)。THCV BDS 也具有次要大麻素 THC, 其占含植物大麻素部分的大约 14.8–18% (w/w)。

[0261] 含非大麻素的组分

[0262] 植物大麻素 BDS 的非大麻素组分在 BDS 药理学中可起到重要作用。因此萜分布(profile)的分类如下。下表说明 CBD 化学变型的萜分布, 所述变型是含高植物大麻素的植物的代表。新鲜收获 5 种植物并用蒸汽蒸馏提取。主要单萜和倍半萜用粗体表示。

[0263] 表 4.5 单萜含占总萜部分的百分比和范围

[0264]

单萜类	量 (萜部分的%)	范围 ($\pm 10\%$)	范围 ($\pm 25\%$)	范围 ($\pm 50\%$)
蒎烯 (α & β)	10.56	9.50 – 11.62	7.92 – 13.20	5.28 – 15.84
桂叶烯	39.46	35.51 – 43.41	29.60 – 49.33	19.73 – 59.19
柠檬烯	4.14	3.73 – 4.55	3.11 – 5.18	2.07 – 6.21
β -罗勒烯	4.04	3.64 – 4.44	3.03 – 5.05	2.02 – 6.06
总计	58.20			

[0265] 含单萜部分包含大约 52-64% (w/w) 的总萜部分。

[0266] 表 4.6 单萜量占单萜类的百分比

[0267]

单萜类	量 (单萜部分的%)
蒎烯(α & β)	18.14
桂叶烯	67.80
柠檬烯	7.12
β -罗勒烯	6.94

[0268] 单萜部分中主要单萜桂叶烯的量占单萜部分的百分比为大约 61-75% (w/w)。单萜部分也具有次要单萜蒎烯,其占单萜部分的大约 16.3-20% (w/w)。

[0269] 表 4.7 倍半萜量占总萜部分的百分比和范围

[0270]

倍半萜类	量 (萜部分的%)	范围 ($\pm 10\%$)	范围 ($\pm 25\%$)	范围 ($\pm 50\%$)
石竹烯类(α & 氧化物)	29.27	26.34 – 32.20	21.95 – 36.59	14.64 – 43.91
Bergotamene	0.18	0.16 – 0.20	0.14 – 0.23	0.09 – 0.27
蛇麻烯	7.97	7.17 – 8.77	5.98 – 9.96	3.99 – 11.96
香橙烯	0.33	0.30 – 0.36	0.25 – 0.41	0.17 – 0.50
蛇麻烯	0.59	0.53 – 0.65	0.44 – 0.74	0.30 – 0.89
Anon	0.44	0.40 – 0.48	0.33 – 0.55	0.22 – 0.66
法尼烯(Z,E & α)	1.55	1.40 – 1.71	1.16 – 1.94	0.78 – 2.33
α 古芸烯	0.12	0.11 – 0.13	0.09 – 0.15	0.06 – 0.18
没药烯	0.39	0.35 – 0.43	0.29 – 0.49	0.20 – 0.59
橙花叔醇	0.43	0.39 – 0.47	0.32 – 0.54	0.22 – 0.65
二表雪松烯-1-氧化物	0.38	0.34 – 0.42	0.29 – 0.48	0.19 – 0.57
α -没药醇	0.16	0.14 – 0.18	0.12 – 0.20	0.08 – 0.24
总计	41.80			

[0271] 含倍半萜的部分包含大约 27-32% (w/w) 的总萜部分。

[0272] 表 4.8 倍半萜量占倍半萜类的百分比

[0273]

倍半萜类	量 (倍半萜部分的%)
石竹烯类(α & 氧化物)	70.02
Bergotamene	0.43
蛇麻烯	19.07
香橙烯	0.79
蛇床烯	1.41
Anon	1.05
法尼烯(Z,E & α)	3.71
α 古芸烯	0.29
没药烯	0.93
橙花叔醇	1.03
二表雪松烯-1-氧化物	0.91
α -没药醇	0.38

[0274] 专利申请号 PCT/GB2008/001837 描述了‘零大麻素’植物的生产。这些植物是通过选择性育种而产生,以产生大麻 (*Cannabis sativa* L) 植物,其所含有的萜分布通常在性质上类似于产生大麻素的大麻植物,但却没有任何大麻素。这些植物可用于产生无大麻素的植物提取物,所述植物在实验和临床试验中是有用的对照植物。植物中产生的萜分布的统计分析可参见下表。主要单萜类和倍半萜用粗体突出显示。

[0275] 表 4.9 单萜量占总萜部分的百分比和范围

[0276]

单萜类	量 (萜部分的%)	范围 ($\pm 10\%$)	范围 ($\pm 25\%$)	范围 ($\pm 50\%$)
萜烯(α & β)	29.34	26.41 – 32.27	22.01 – 36.68	14.67 – 44.01
桉叶烯	29.26	26.33 – 32.19	21.95 – 36.58	14.63 – 43.89
柠檬烯	5.32	4.79 – 5.85	3.99 – 6.65	2.66 – 7.98
芳樟醇	4.50	4.05 – 4.95	3.38 – 5.63	2.25 – 6.75
马鞭草烯醇 (顺&反)	3.45	3.11 – 3.80	2.59 – 4.31	1.73 – 5.18
总计	71.87			

[0277] 含单萜的部分包含大约 65–79% (w/w) 的总萜部分。

[0278] 表 4.10 单萜量占单萜类的百分比

[0279]

萜类	量 (萜部分的%)
蒎烯(α & β)	40.82
桂叶烯	40.71
柠檬烯	7.41
芳樟醇	6.26

[0280] 发现零大麻素植物包含两种主要萜类：蒎烯和桂叶烯、萜部分中主要萜桂叶烯的量占萜部分的百分比为大约 37-45% (w/w)。萜部分中主要萜蒎烯的量占萜部分的百分比为大约 37-45% (w/w)。

[0281] 实施例 7

[0282] CBDV (BDS)在全身性癫痫发作的 PTZ模型中的应用

[0283] 方法如实施例 2 所述。

[0284] 以 4 剂量给予 CBDV BDS,其提供 50 和 100 mg/kg 剂量的 CBDV。下表 7.1 详细给出所得数据。

[0285] 表 7.1

[0286]

CBDV (mg/kg)	死亡率 (%)
0	26.3
50	16.7
100	0

[0287] 可以看到 CBDV BDS 具有降低癫痫发作相关死亡率的趋势。

[0288] 与 SAED 相反,在使用分离的 CBDV 和 CBDV BDS 两者的所有实验中,动物未表现出任何明显副作用。这使这种新的抗惊厥剂成为单独使用或组合使用以治疗癫痫的具有吸引力的化合物。

[0289] 实施例 8

[0290] THCV (BDS)、分离的 THCV和分离的 CBD在癫痫模型中的应用

[0291] 以下给出证明 THCV BDS 和分离的 THCV 和 CBD 的活性的数据,以支持含有 CBD 和 THCV 以及非大麻素部分的 CBDV 提取物的可能益处。

[0292] 通用方法描述于实施例 2。

[0293] 结果：

[0294] THCV BDS 包括化学变型的整体提取物,其中 THCV 是最普遍的大麻素。(即它是存在于提取物中的主要大麻素,占大麻素总含量的 80(重量)。THC 是第二最普遍的大麻素并以显著量存在(即它占大麻素总含量的 10%重量以上,以大约 16%存在),并且还有多种已鉴定的次要大麻素,其各自占大麻素总含量的小于 2%重量,这通过 HPLC 分析测量。在该提取物中 THCV 与 THC 之比为约 5:1。

[0295] 事实上,THCV 含量占提取物重量的 67.5%,THC 含量占提取物重量的 13.6%,而其它已鉴定的大麻素总共占提取物重量的约 3%,剩余的 16% 包括非大麻素。

[0296] PTZ试验研究

[0297] 在研究大麻素的作用之前,研究了一系列 PTZ 浓度(50-100mg/kg;所述范围存在

于文献中)诱导的大鼠癫痫发作以确定最佳剂量。PTZ 剂量为:

[0298] 50mg/kg 和 60mg/kg 诱导极少的癫痫发作样活动 (n=4);

[0299] 70mg/kg 通常诱导阵挛发作 (3.5 分;8/13 受试者);

[0300] 80mg/kg 常规诱导强直-阵挛发作 (4 分和 5 分;6/10 受试者)。

[0301] 另外,已发现重复给予 PTZ 导致敏感性随时间增加;因此不对已接受 PTZ 给药的动物进行实验。

[0302] 首先针对剂量为 70 mg/kg 的 PTZ 评价 THCV BDS 对 PTZ-诱导的癫痫发作的作用。如下所述,这产生通常不遭受严重发作分数的溶媒对照组。因此也针对 80mg/kg 剂量的 PTZ 来筛选 THCV BDS。认为暴露给 80mg/kg PTZ 的溶媒对照动物所遭受的癫痫发作严重程度增加是潜在抗惊厥活性的更合适试验。

[0303] THCV BDS对中等严重 (70mg/kg) PTZ-诱导的癫痫发作的作用

[0304] 针对已知诱导大鼠中等发作的 PTZ 浓度 (70mg/kg;参见以上试验)评价 3 种剂量的 THCV BDS。所用的低、中和高剂量 THCV BDS 分别是 0.37、3.70 和 37.04mg/kg,而产生的实际 THCV 剂量分别为 0.25、2.5 和 25mg/kg。这些剂量在 THCV 含量方面与那些用于筛选针对 PTZ-诱导的癫痫发作的纯 THCV 的剂量相匹配。

[0305] THCV BDS 对至首次肌阵挛抽搐的潜伏期或对达到癫痫发作严重程度量表上的严重程度为 3.5 分的潜伏期无任何显著作用 (图 14)。应当注意,尽管与对照相比,这两个变量的值高于用中和高剂量 THCV BDS 治疗的动物,但这未能达到显著性 ($P>0.05$)。同样,也观察到对发作持续时间没有显著影响 (图 15)。

[0306] THCV BDS 对接受 70mg/kg 剂量 PTZ 的动物的癫痫发作严重程度 (图 16) 和死亡率 (图 17) 的作用与简单模式不一致。对于该组,仅注射溶媒的动物都未超过中值严重程度 3.5 分,并且没有动物死亡 ($n = 10$)。

[0307] 相比之下,在 50% 的注射低剂量 THCV BDS 的动物中,70mg/kg PTZ 诱导严重强直-阵挛发作和死亡,表明中值严重程度为 4.75 分。这种严重程度的增加并不显著。然而,与注射低剂量的 THCV BDS 的动物相比,注射中和高剂量的 THCV BDS 的动物表现出更低的中值严重程度评分和更低的死亡率 (图 16 & 17)。中和高剂量的死亡率高于溶媒组,但并不显著 ($P>0.05$;图 17)。然而,中值严重程度评分在中 & 高剂量间是相同的 (图 16)。这一结果模式表明还需进一步实验,其中针对在对照 (经溶媒治疗的) 动物中诱导严重癫痫发作的 PTZ 剂量,筛选 THCV BDS。

[0308] THCV BDS对严重 (80mg/kg) PTZ-诱导的癫痫发作的作用

[0309] 评价了同样 3 种剂量的 THCV BDS 对由 80mg/kg PTZ 诱导的发作的作用。值得注意的是,在溶媒对照组中 80mg/kg 比 70 mg/kg 明显诱导更严重癫痫发作 ($P = 0.009$),且中值癫痫发作严重程度分别为 6 分和 3.5 分。THCV BDS 对至 FMJ 或严重程度 3.5 分的潜伏期没有显著作用 (图 18)。同样,对发作持续时间也没有作用 (图 19)。

[0310] 在接受 80mg/kg 剂量 PTZ 的动物中,低剂量 THCV BDS 同时降低癫痫发作严重程度 (图 20) 和死亡率 (图 21)。与溶媒对照 (6 分) 相比,接受低 THCV BDS 的动物具有更低的中值严重程度分数 (3.5 分)。然而,这种差异并不显著 ($P>0.5$)。低 THCV BDS 剂量组的死亡率也只有溶媒对照组的一半 (30% 比 60%)。

[0311] 用中和高剂量 THCV BDS 治疗的组具有更低的癫痫发作严重程度分数 (4.75 分)

($P>0.5$, 与对照相比), 和更低的死亡率 (50%), 分别与 6 分和 60% 相比。

[0312] 体内概述和结论

[0313] 在 PTZ 模型中 THCV BDS 的筛选看来对中等或严重 PTZ- 诱导的癫痫发作似乎并不具有任何显著的抗-或促-惊厥作用。然而, 在诱导严重 (80mg/kg PTZ) 发作之前, 在接受低剂量 THCV BDS 的动物中观察到更低的严重程度和死亡率的趋势, 与溶媒对照相比。

[0314] 在更高剂量 THCV BDS 时, 该作用可能被 THCV BDS 的非 THCV 含量中存在的更高水平的其它大麻素组分 (例如 THC) 掩盖。更高剂量 THCV BDS 可含有递增剂量的非 THCV 含量 (例如 THC), 其可与 THCV 的任何潜在积极作用相反。

[0315] 分离的 THCV:

[0316] 分离的 THCV 针对 PTZ- 诱导的癫痫发作的作用

[0317] 评价低 (0.025 mg/kg)、中 (0.25 mg/kg) 和高 (2.5 mg/kg) 剂量的纯 THCV 对 PTZ- 诱导的癫痫发作的作用。在这一点上值得注意的是, 为了与 THCV BDS 比较, 用不同剂量的纯 THCV 与 THCV BDS 比较。参见下表 8.1。

[0318] 表 8.1. 在 PTZ 模型中比较所用的 THCV BDS 和纯 THCV 剂量

[0319]

试验 CB	“低”剂量 (mg/kg)	“中”剂量 (mg/kg)	“高”剂量 (mg/kg)
THCV BDS	0.25	2.5	25
纯 THCV	0.025	0.25	2.5

[0320] 所给的值是剂量的有效 THCV 含量 (因此 THCV BDS 的实际剂量是约 1.5 倍)。

[0321] 在所有 4 个实验组的动物中 (每组 $n=16$), 80 mg/kg PTZ 成功诱导不同严重程度的癫痫发作。PTZ- 诱导的癫痫发作导致 44% 仅接受溶媒的动物死亡。接受低、中和高 THCV 的组都表现出更低的死亡率 (分别为 41%、33% 和 38%); 然而这些数值与溶媒组并无显著差异 ($p>0.05$, 二项检验)。

[0322] 至首次癫痫发作征兆、和至所用癫痫发作评分量表上的 [3] 分和 [5] 分的潜伏期的平均值, 以及存活动物的癫痫发作持续时间, 都描述于图 22A-D。

[0323] 可以看到与溶媒对照相比, 在接受 THCV 的动物中, 癫痫发作较后开始, 如至首次表现癫痫发作样行为的潜伏期增加所示 (图 22A)。

[0324] 在最高剂量 THCV 时发作延迟是显著的 ($p=0.02$)。对于至 [3] 和 [5] 分的潜伏期, 看到类似模式 (图 22B 和 22C), 其中所有 THCV 剂量都表现出潜伏期增加, 在最高剂量 THCV 时达到显著水平 (对于 [3] 和 [5] 分, 分别为 $p=0.017$ 和 0.013)。

[0325] 也观察到在给予中剂量 THCV 之后, 在实验周期存活的动物中 PTZ- 诱导的癫痫发作持续时间显著短于溶媒对照 (图 22D; $p=0.03$)。

[0326] 下表 8.2 显示各实验组中的中值癫痫发作严重程度的值。

[0327] 表 8.2: 癫痫发作严重程度和发病率

[0328]

	溶媒	0.025 mg/kg THCV	0.25 mg/kg THCV	2.5 mg/kg THCV
中值严重程度	4.25	3.5	3.5	3.5
% 无癫痫发作	12.5	5.9	33.3*	18.8

[0329] 对于各实验组, 给出了中值最大严重程度和未经历癫痫发作的任何征兆的 % 动物 (对于每个值, $n=16$)。* 表示与溶媒组的显著差异 (二项式显著性检验, $P<0.05$)。

[0330] 溶媒对照动物表现出中值癫痫发作严重程度为 4.25, 而接受 THCV 的所有组的中

值严重程度为 3.5 分。这样的降低并无显著差异。

[0331] 12.5% 溶媒对照动物表现出无癫痫发作的指征,表明这些动物在给予 PTZ 之后未发展癫痫发作。在接受 0.25 mg/kg 的组中显著更高数量的动物 (33.3%) 未表现出癫痫发作征兆 (表 5.2 ; $p = 0.031$)。该数据表明中等剂量的 0.25 mg/kg THCv 保护免于癫痫发作的发展。

[0332] 体内概述和结论

[0333] 高剂量的 THCv 对潜伏期数值的作用表明 THCv 可同时延迟发作和癫痫发作的发展,而在中等 (0.25 mg/kg) THCv 剂量时,中等剂量对癫痫发作发生率的显著作用表明对 PTZ- 诱导的癫痫发作的显著抗惊厥作用。

[0334] 分离的 CBD

[0335] 除 THCv 之外,在 PTZ 模型中还筛选 CBD。结果强烈表明在该模型中 CBD (在 100mg/kg 的水平) 是抗惊厥剂,因为与溶媒对照动物相比,它显著降低最严重癫痫发作的死亡率的发病率。

[0336] 分离的 CBD 对 PTZ- 诱导的癫痫发作的作用

[0337] 以 1、10 和 100mg/kg 的剂量于标准溶媒 (1:1:18 乙醇 : Cremophor : 0.9%w/v NaCl) 中经腹膜内 (IP) 注射分离的 CBD,这与仅接受匹配量溶媒的动物并行进行 (每组的 $n=15$)。60 分钟之后,给予 PTZ (80mg/kg, IP)。

[0338] 46.7% 仅接受溶媒的对照动物在 PTZ 给予 30 分钟内死亡 (图 20)。相比之下,仅 6.7% (仅 1/15) 的接受 100mg/kg CBD 的动物死亡,该明显降低证明是显著的 ($p<0.001$)。

[0339] 此外,仅 6.7% 的接受 100mg/kg CBD 的动物经历最严重癫痫发作 (5 分),相比之下溶媒对照动物为 53.3%,减少也是显著的 ($p<0.001$; 图 20 体内)。

[0340] 与分离的 THCv 相比,癫痫发作发展的潜伏期未观察到显著增加。然而,明显和显著降低表明对 PTZ- 诱导的癫痫发作的突出的抗惊厥作用。

[0341] 体内概述和结论

[0342] 在 PTZ 模型中以高剂量 (100mg/kg) CBD 对最严重癫痫发作的死亡率水平和发病率来筛选和分析分离的 CBD,表明 CBD 可减轻 PTZ- 诱导的癫痫发作的严重程度。

[0343] 总体结论

[0344] 从这 3 项研究可看出,分离的 THCv 和 CBD 两者均显示作为用于全身性癫痫发作、特别是阵挛 / 强直发作的抗癫痫药的前景。含有其它大麻素 (包括显著量 THC) 的富含 THCv 的提取物生成的数据表明 THC 可抵消 THCv 的作用,并且含有作为主要或普遍大麻素的 THCv、但还含极少或基本上不含 THC 的大麻素提取物对于治疗癫痫而言将是合乎需要的。此外纯 CBD 的结果表明含有显著量的 THCv 和 CBD 两者、但还含极少或基本不含 THC 的提取物可提供最佳组合。因此可证明合乎需要的是,制备选择性和基本上去除 THC (小于百分之几的水平) 的主要含 THCv 的提取物。这可与其中 CBD 是主要和普遍大麻素 (也具有低水平 THC) 的富含 CBD 的提取物混合,以产生清楚限定且显著水平的 THCv 和 CBD 两者、但不显著水平的 THC 的提取物。这样的提取物可含有其它大麻素和通过例如 W004/016277 所公开的二氧化碳提取得到的非大麻素组分,这些组分可在内源性大麻素系统中支持“随从”作用。

[0345] 关于剂量,大鼠 / 人转化因子 ($\times 6$) 表明 CBD 的日剂量为至少 600mg (并任选介于

400mg 和 800mg 之间) 并且 THCV 为至少 1.5mg (中) 和优选至少 15mg (高)。

[0346] 当使用植物大麻素提取物时,需要具有低水平或可忽略水平的 THC 和治疗有效水平的 THCV 和 / 或 CBD 的提取物。

[0347] 实施例 10

[0348] 在癫痫的最大电休克癫痫发作 (MES) 模型中比较分离的 CBD 和 CBDV 的抗癫痫活性

[0349] 方法

[0350] 试验化合物和参考化合物的制备

[0351] 本研究所用的溶媒是 2:1:17 (乙醇 :Cremophor:0.9% w/v NaCl)。所用的试验化合物是大麻二酚 (CBD) 和次大麻二酚 (CBDV)。这些都以最高浓度配制成溶液;再将它们溶于乙醇,然后以上述比例与 Cremophor 和 0.9% NaCl 混合。CBD 或 CBDV 经腹膜内给予,给予量为 10 ml/kg 体重。将 SAED 丙戊酸 (VPA) 溶于盐水。

[0352] 测试系统

[0353] 动物物种 / 品系: 小鼠 /ICR、微生物级:SPF、供应商: SLC Japan、Inc. 性别: 雄性,年龄 (测试时): 5-7 周龄,动物数量:约 5 只 / 组。温度:23 ± 2℃、湿度:60 ± 10%、光条件:7 AM 至 7 PM 是光周期,7 PM 至 7 AM 是暗周期。饲料和水:随意进食 CRF-1 (Oriental Yeast Co、Ltd) 和饮用自来水。

[0354] 实验方法

[0355] 每次实验前一天,给小鼠称重并在每次试验中随机分配到几个小组。实验当天早晨称体重,以计算每只动物的给药量。腹膜间给予溶媒、CBD、CBDV 或丙戊酸钠盐,30 分钟后给予电刺激。通过耳垂电极,使用 30mA 的电流,给予 100 Hz 脉冲频率达 200 msec,由刺激物 (UGO BASILE ECT UNIT 7801, Italia) 诱导小鼠最大电休克发作 (MES)。观察小鼠 10 秒钟并记录强直后肢伸长的发生率。

[0356] 统计分析

[0357] 所有统计分析都用 SAS Software for Windows, 9.1 版 (SAS Institute Japan) 进行。用双尾 Fisher 精确检验评价各组数量差异 (后肢伸长或死亡)。当 p 值小于 0.05 时,认为差异具有统计显著性。

[0358] 结果

[0359] 溶媒组的几乎所有动物都显示出由电刺激 (30 mA, 200 msec) 诱导的后肢伸长。CBD (3-100 mg/kg IP) 不能在统计上显著地抑制后肢伸长的表现。然而 CBDV (100 和 200mg/kg IP) 显著抑制后肢伸长的表现。同时,与溶媒组相比,350 mg/kg 丙戊酸在统计上显著阻止后肢伸长。表 10.1 和表 10.2 详细给出这些数据。

[0360] 表 10.1

[0361] CBD 和 VPA 对 MES-诱导的小鼠癫痫发作的作用

[0362]

化合物 (剂量; mg/kg, i.p.)	强直抽搐的发生率
溶媒	5/5
CBD (3)	3/5
CBD (10)	4/5
CBD (30)	3/5
CBD (100)	4/5
丙戊酸(350)	0/5**

[0363] 每组由 5 只小鼠组成。* = $p < 0.05$. ** = $p < 0.01$ 对比溶媒对照 (Fisher 恰当检验)。

[0364] 表 10.2

[0365] CBDV 和 VPA 对 MES-诱导的小鼠癫痫发作的作用

[0366]

化合物 (剂量; mg/kg, i.p.)	强直抽搐的发生率
溶媒	9/10
CBDV (50)	9/10
CBDV (100)	3/10*
CBDV (200)	3/10*
丙戊酸(200)	5/10
丙戊酸(350)	1/10**

[0367] 每组由 10 只小鼠组成。* = $p < 0.05$. ** = $p < 0.01$ 对比溶媒对照 (Fisher 恰当检验)。

[0368] 从以上数据可看出,与大麻素 CBD 相比,大麻素 CBDV 在癫痫的 MES 模型中明显表现出作为抗惊厥剂的更大功效。鉴于 CBDV 功效接近 SAED 丙戊酸的功效,它就是明显的竞争者,用作不产生副作用的抗惊厥剂,而已知用 SAED 会产生这样的副作用。

[0369] 实施例 11

[0370] 经线性加速转棒仪试验评价 CBDV 对运动功能的作用

[0371] 方法

[0372] 在指定的实验日,每只动物接受 CBDV (100 或 200 mg/kg,每组的 $n=10$) 或溶媒 (2:1:17 Cremophor: 乙醇: 盐水 [$n=12$] 或盐水 [$n=11$])。实验测试日期间,间隔有 2 天休息时间,以允许清除先前的化合物。用标准拉丁方设计,随机排列给药顺序。

[0373] CBDV 或溶媒给予之后 60 分钟,将动物置于线性加速转棒仪 (Panlab/Harvard Apparatus, Holliston, USA),在 300 秒周期内将速度从 4 增加至 40 rpm。采用加速方案,以消除对转棒仪适应的需要,使因不成比例的表现改进而从各动物获取的结果发散性最小化。当动物从转棒仪跌落时,每次试验结束,其中每只动物在每个实验日进行 3 轮加速转棒仪运行。在试验之间让动物恢复 5 分钟,以防止表现因疲劳诱导而下降。比较溶媒对照和 CBDV 组的至从转棒仪上跌落的平均潜伏期 (以秒计) 以评价运动功能。

[0374] 为了评价两个不同溶媒治疗之间对运动功能是否有显著作用,我们对数据进行

曼-惠特尼 U 检验。该分析中显著性的缺乏让我们合并溶媒组,从而缩短了测试持续时间(即每只大鼠将进行仅 1 天溶媒治疗测试,而非 2 天)。为了分析 CBDV 对运动功能的作用,对数据进行受试者之间的单向 ANOVA,以药物浓度作为主要因子。在所有情况下, $P \leq 0.05$ 都被认为是显著的。

[0375] 结果

[0376] 溶媒治疗的分析:从图 24 可看出,在经盐水和经 2:1:17 cremaphor:乙醇:盐水治疗的动物之间,至跌落的潜伏期无差异($P=0.406$)。因此,将这两个溶媒组合并,得到一个溶媒组。

[0377] 对 CBDV 作用的分析:从图 25 可看出,与给予溶媒的动物相比,任何剂量的 CBDV 对至跌落的潜伏期无作用($F_{2, 40} = 1.421$, $P = 0.253$)。经溶媒治疗的动物在转棒仪上平均停留 111.6 秒,相比之下,在 100mg/kg CBDV 为 86.6 秒,在 200mg/kg 为 110.0 秒。

[0378] 结论

[0379] 这些数据表明,经加速转棒仪评价,CBDV (100 和 200mg/kg) 对运动控制或表现无显著作用。转棒仪测试药物对大鼠运动行为的作用。已知抗惊厥药例如苯巴比妥使动物在转棒仪上可停留的时间缩短,表明这些药物对运动控制的已知的副作用。

[0380] 因此,在全身性癫痫发作的戊四唑模型和颞叶癫痫发作的毛果芸香碱模型两者中,以上实施例证明的抗惊厥作用是因为植物大麻素 CBDV,其控制癫痫发作状态,而无运动副作用。

[0381] 参考文献

[0382] ALGER, B. E. (2006) Not too excited? Thank your endocannabinoids(不是太兴奋? 感谢你的内源性大麻素). *Neuron*, 51, 393-5.

[0383] AMES FR. (1986) Anticonvulsant effect of cannabidiol (大麻二酚的抗惊厥剂作用). *South African Medical Journal* 69:14.

[0384] AVOLI, M., LOUVEL, J., PUMAIN, R. & KOHLING, R. (2005) Cellular and molecular mechanisms of epilepsy in the human brain (人脑中癫痫的细胞机制和分子机制). *Prog Neurobiol*.

[0385] BOSTANCI, M. O. & BAGIRICI, F. (2006) The effects of octanol on penicillin induced epileptiform activity in rats: an in vivo study (辛醇对大鼠中青霉素诱导的癫痫样活动的作用:一项体内研究). *Epilepsy Res*, 71, 188-94.

[0386] BRUST, J. C., NG, S. K., HAUSER, A. W. & SUSSER, M. (1992) Marijuana use and the risk of new onset seizures (大麻用途和新发作癫痫的风险). *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 103, 176-81.

[0387] CONSROE, P.F., WOOD, G.C. & BUCHSBAUM, H. (1975) Anticonvulsant Nature of Marihuana Smoking (吸大麻的抗惊厥剂性质). *J.American Medical Association* 234 306-307

[0388] CUNHA, J. M., CARLINI, E. A., PEREIRA, A. E., RAMOS, O. L., PIMENTEL, C., GAGLIARDI, R., SANVITO, W. L., LANDER, N. & MECHOULAM, R. (1980) Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients (将大麻二酚长期给予健康志愿者和癫痫患者). *Pharmacology*, 21, 175-85.

- [0389] 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 (在N1E-115成神经细胞瘤细胞中,大麻素受体1对ERK激活中腺苷酸环化酶/蛋白激酶A途径抑制的主要作用). *J. Biol. Chem.*, 278, 48973-48980.
- [0390] 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 (用于修订癫痫发作的临床和脑电描记法分类的提议). *Epilepsia*, 22, 489-501.
- [0391] 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 (独立于其它精神病理学类型的大麻-精神病途径). *Schizophr Res*, 79, 289-95.
- [0392] 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 (来自患者视角的癫痫影响 I. 描述和主观感受). *Epilepsy Res*, 41, 39-51.
- [0393] GASTAUT, H. (1970) Clinical and Electroencephalographical Classification of Epileptic Seizures (癫痫发作的临床和脑电描记法分类). *Epilepsia*, 11, 102-112.
- [0394] LUTZ, B. (2004) On-demand activation of the endocannabinoid system in the control of neuronal excitability and epileptiform seizures (内源性大麻素系统在控制神经元兴奋性和癫痫样发作的立即响应式激活). *Biochem Pharmacol*, 68, 1691-8.
- [0395] MACKIE, K. (2006) Cannabinoid receptors as therapeutic targets (作为治疗靶标的大麻素受体). *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 46, 101-22.
- [0396] MCCORMICK, D. A. & CONTRERAS, D. (2001) On the cellular and network bases of epileptic seizures (关于癫痫发作的细胞和网络基础). *Annu Rev Physiol*, 63, 815-46.
- [0397] MERLIS, J. K. (1970) Proposal for an International Classification of the Epilepsies (用于癫痫国际分类的提议). *Epilepsia*, 11, 114-119.
- [0398] NG *et al.* (1990) Illicit drug use and the risk of new-onset seizures (药物的非法使用和新发作癫痫的发现), *American Journal of Epidemiology* 132: 47-57.
- [0399] OBAY, B. D., TASDEMIR, E., TUMER, C., BILGIN, H. M. & SERMET, A. (2007) Antiepileptic effects of ghrelin on pentylene-tetrazole-induced seizures in rats (生长素释放肽对大鼠中戊四唑-诱导的癫痫发作的抗癫痫作用). *Peptides*, 28, 1214-9.
- [0400] 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 (GABA能和谷氨酸能药物对Wistar成年大鼠中毛果芸香碱诱导的发作和癫痫持续状态的药理学研究). *Neurosci Lett*, 419, 253-7.

[0401] PERTWEE R. G., (2000) Cannabinoid receptor ligands: clinical and neuropharmacological considerations, relevant to future drug discovery and development (大麻素受体配体:临床和神经药理学考虑,关于未来药物发现和开发). *Exp. Opin. Invest. Drugs* 9(7):

[0402] 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 pentylenetetrazol - influence of the radical scavenger alpha-phenyl-N-tert-butyl nitron (超氧化物歧化酶和 α -生育酚在戊四氮诱导的癫痫发作和发生的进展过程中的作用). *Brain Res*, 1009, 203-12.

[0403] SANDER, J. W. (2003) The epidemiology of epilepsy revisited (再论癫痫的流行病学). *Curr Opin Neurol*, 16, 165-70.

[0404] SWANN, J. W. (2004) The effects of seizures on the connectivity and circuitry of the developing brain (癫痫发作对正在发育的脑的连接和线路的作用). *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 10, 96-100.

[0405] TREMBLY B. SHERMAN M. (1990) Double-blind clinical study of cannabidiol as a secondary anticonvulsant (大麻二酚作为辅助抗惊厥剂的双盲法临床研究). *Marijuana '90 International Conference on Cannabis and Cannabinoids*. Kolympari, Crete, 1990年7月8-11日.

[0406] WINGERCHUK, D. (2004) Cannabis for medical purposes: cultivating science, weeding out the fiction (用于医学目的的大麻:培养科学,除去虚构). *Lancet*, 364, 315-6.

CBDV 对 PTZ-诱导的癫痫发作的起始和发展的作用

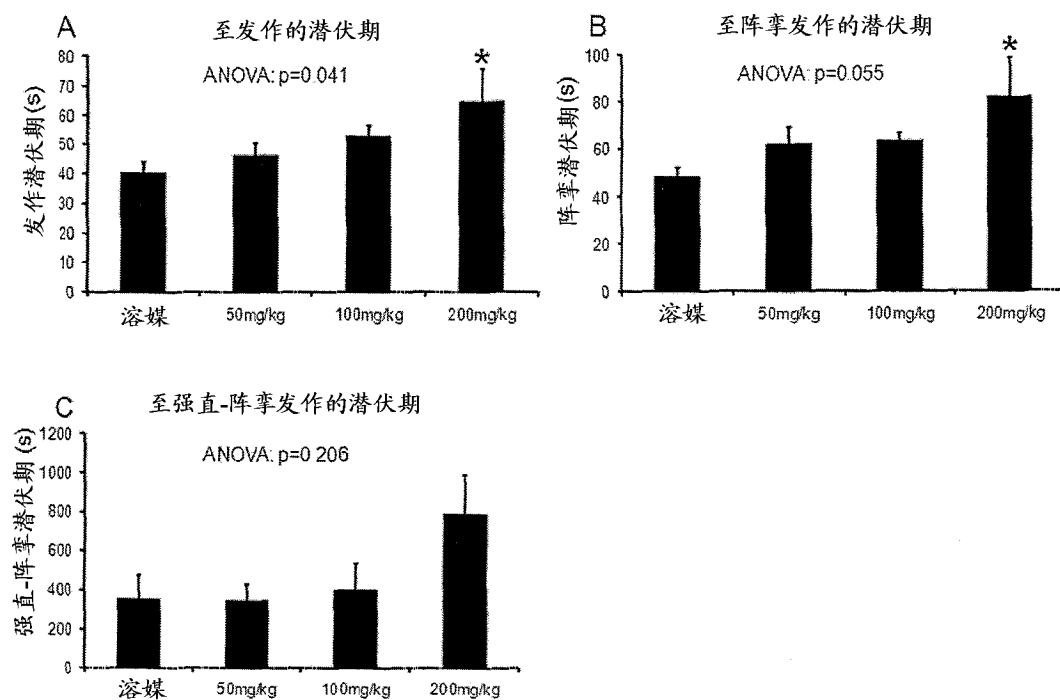


图 1

CBDV 对癫痫发作的严重程度和死亡率的作用

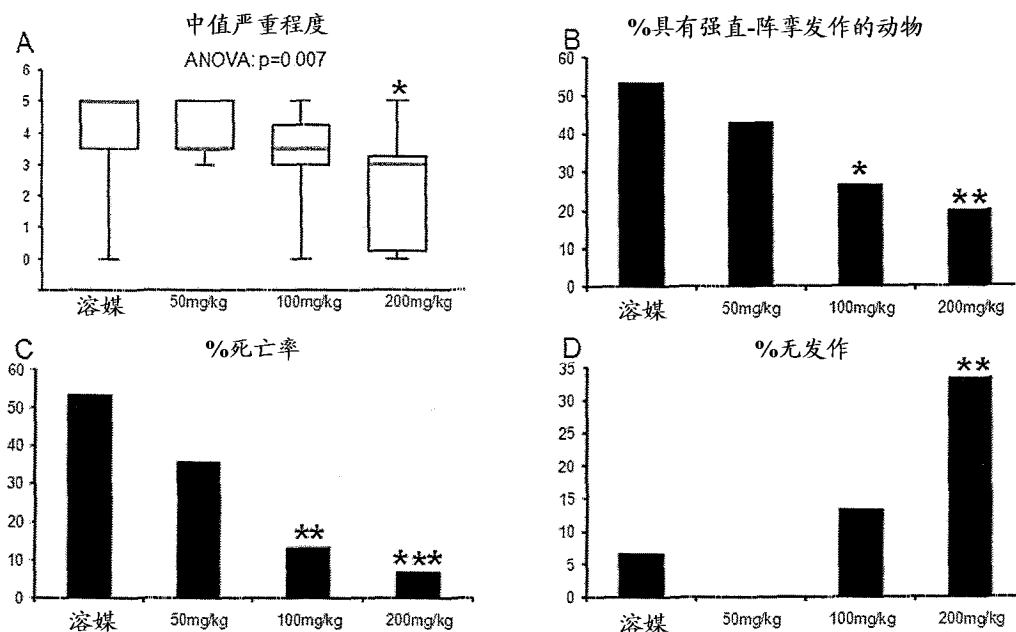


图 2

CBDV 和乙琥胺对 PTZ-诱导的癫痫发作的作用

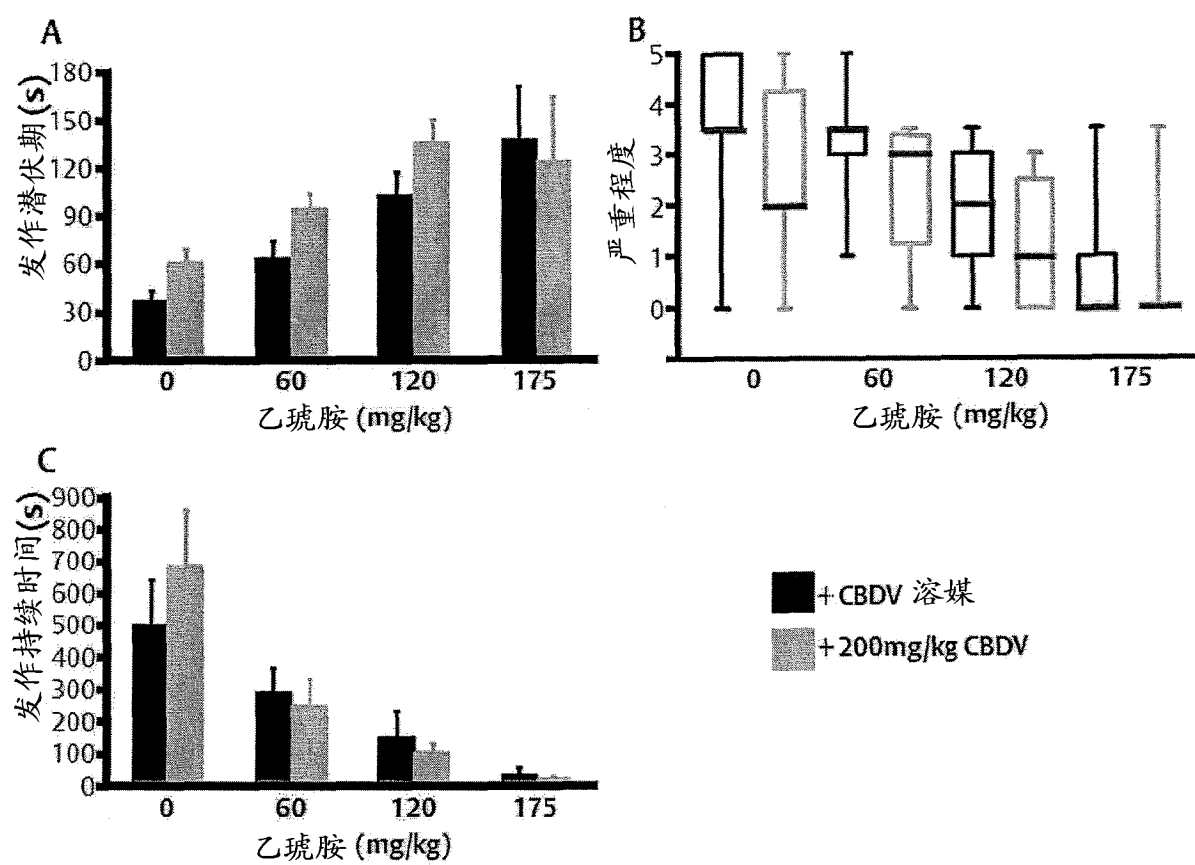


图 3

在 PTZ-诱导的癫痫发作中 CBDV 和乙琥胺对癫痫发作的发病率和死亡率的作用

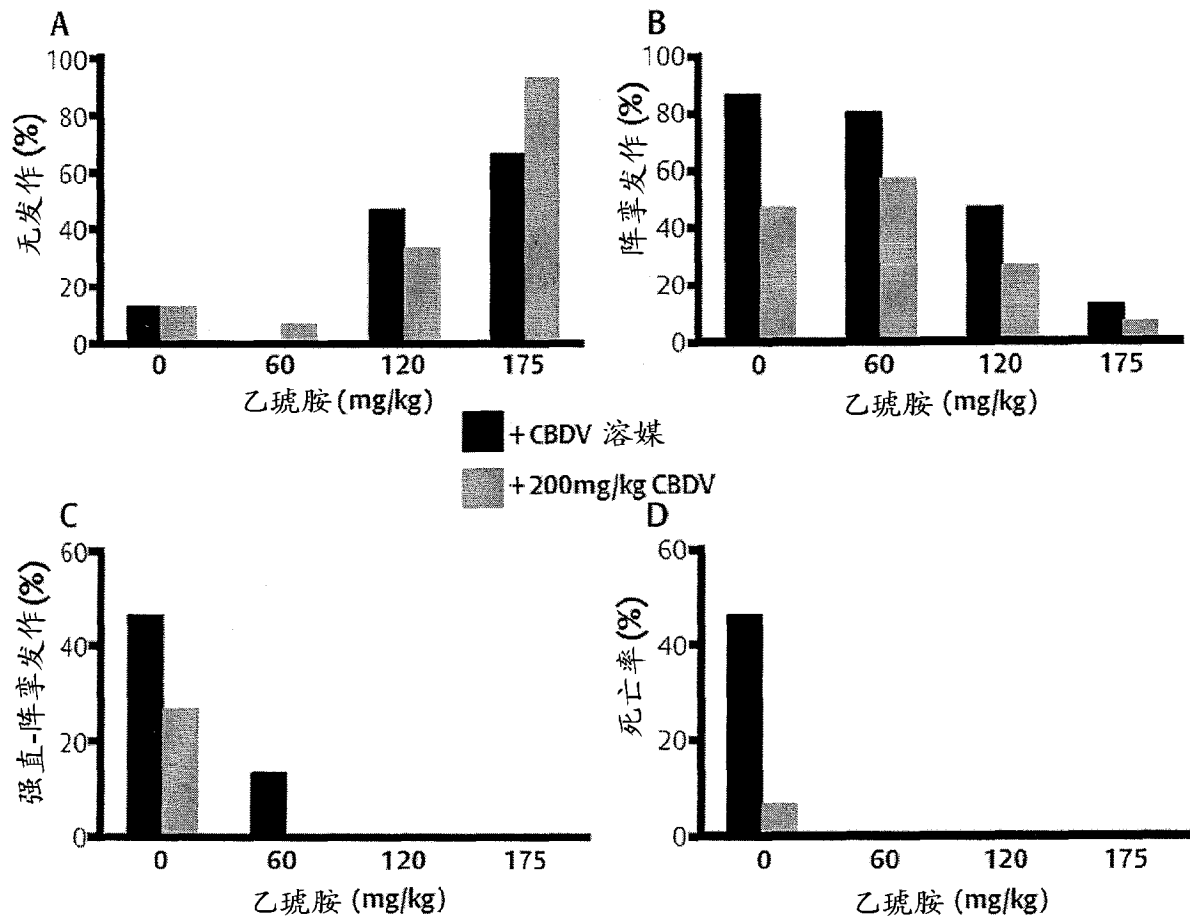
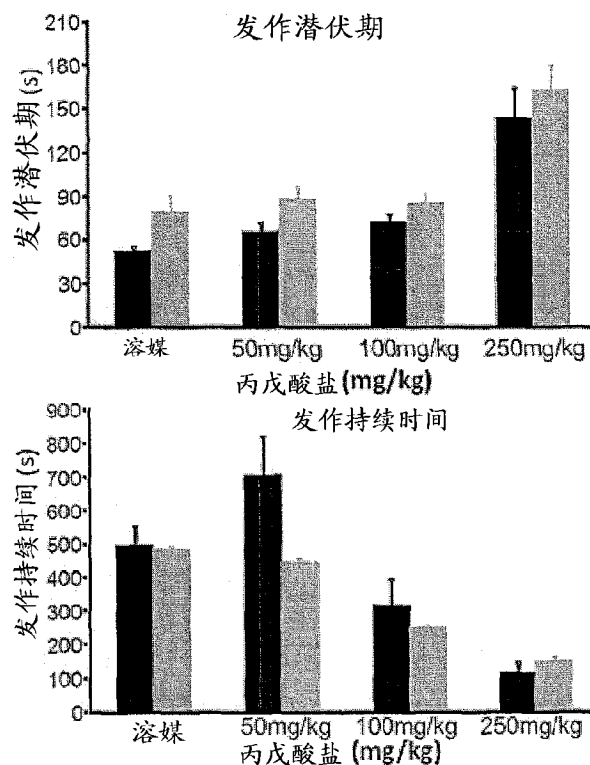


图 4

CBDV 和丙戊酸盐对 PTZ-诱导的癫痫发作的作用

在 PTZ 模型中的丙戊酸盐和 CBDV



试验	结果
双向 ANOVA 结果	显著 ($p < 0.001$)
丙戊酸盐作用	显著增加 ($p < 0.001$)
CBDV 作用	显著增加 ($p < 0.01$)
丙戊酸盐 $\times$ CBDV 相互作用	不显著 ($p > 0.1$)

■ + CBDV 溶媒
■ +200mg/kg CBDV

试验	结果
双向 ANOVA 结果	显著 ($p < 0.001$)
丙戊酸盐作用	显著降低 ($p < 0.001$)
CBDV 作用	不显著 ($p > 0.1$)
丙戊酸盐 $\times$ CBDV 相互作用	不显著 ($p > 0.1$)

图 5

在 PTZ-诱导的癫痫发作中 CBDV 和丙戊酸盐对发作严重程度和死亡率的作用

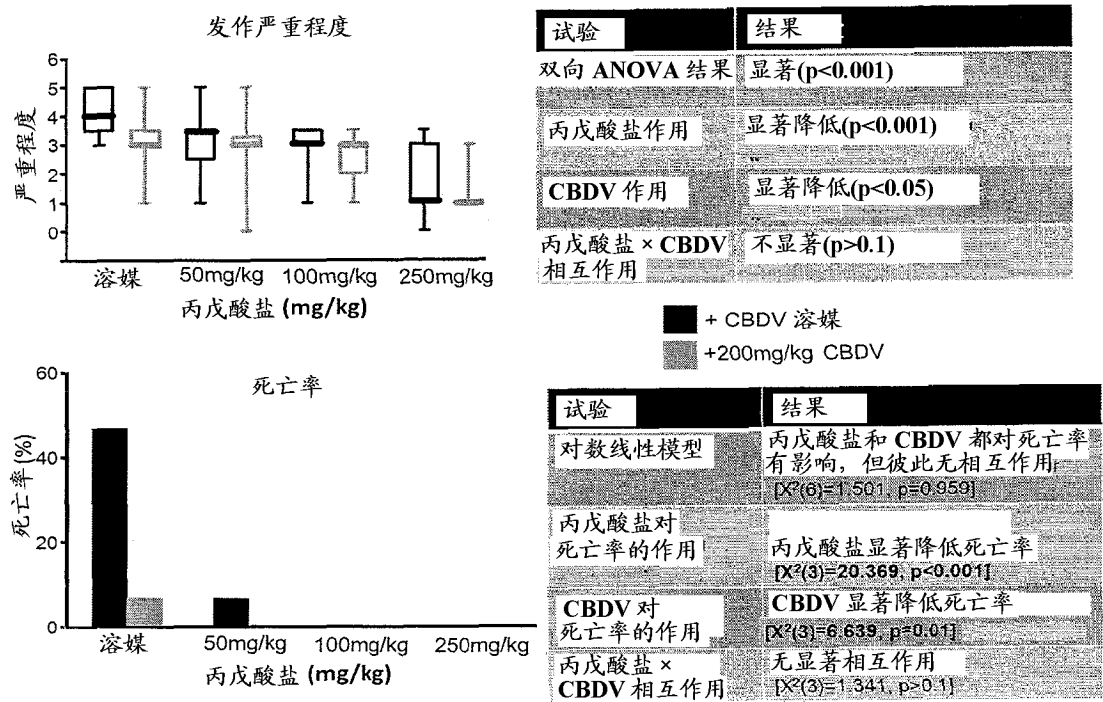


图 6

CBDV 在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中的作用

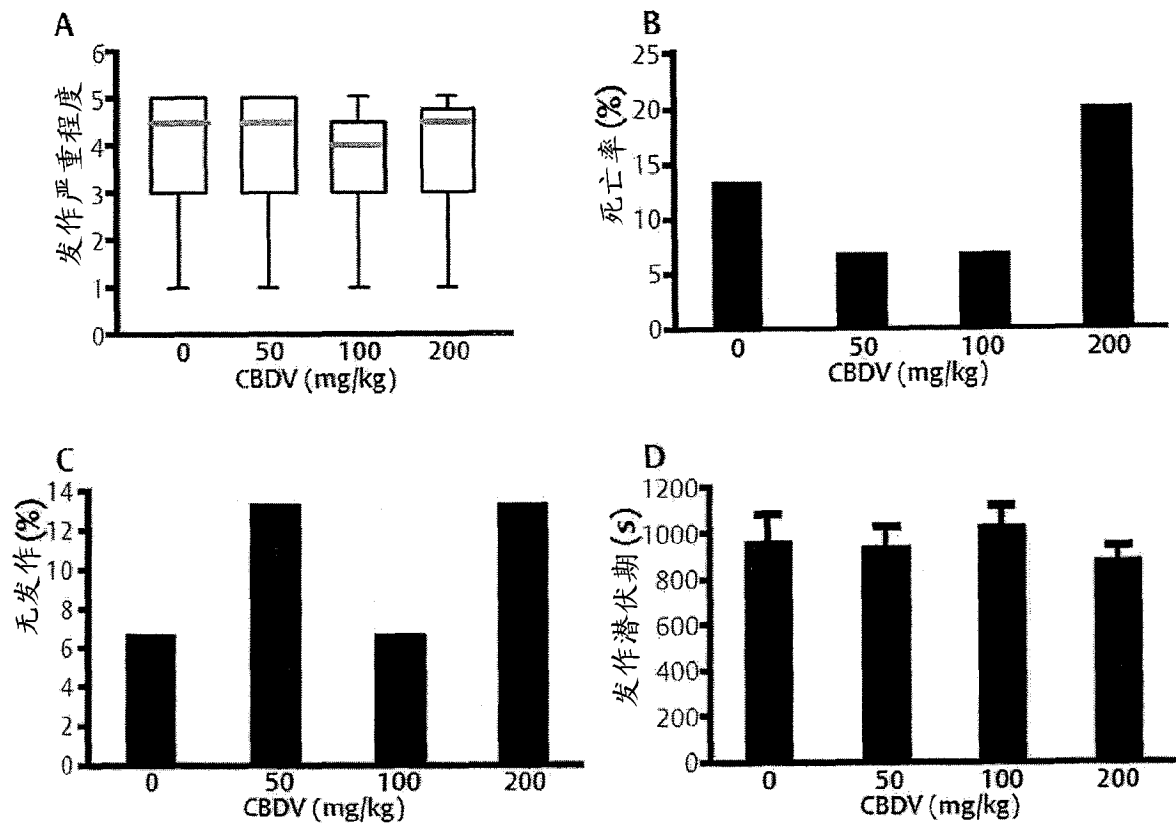


图 7

在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中 CBDV 对癫痫发作的作用

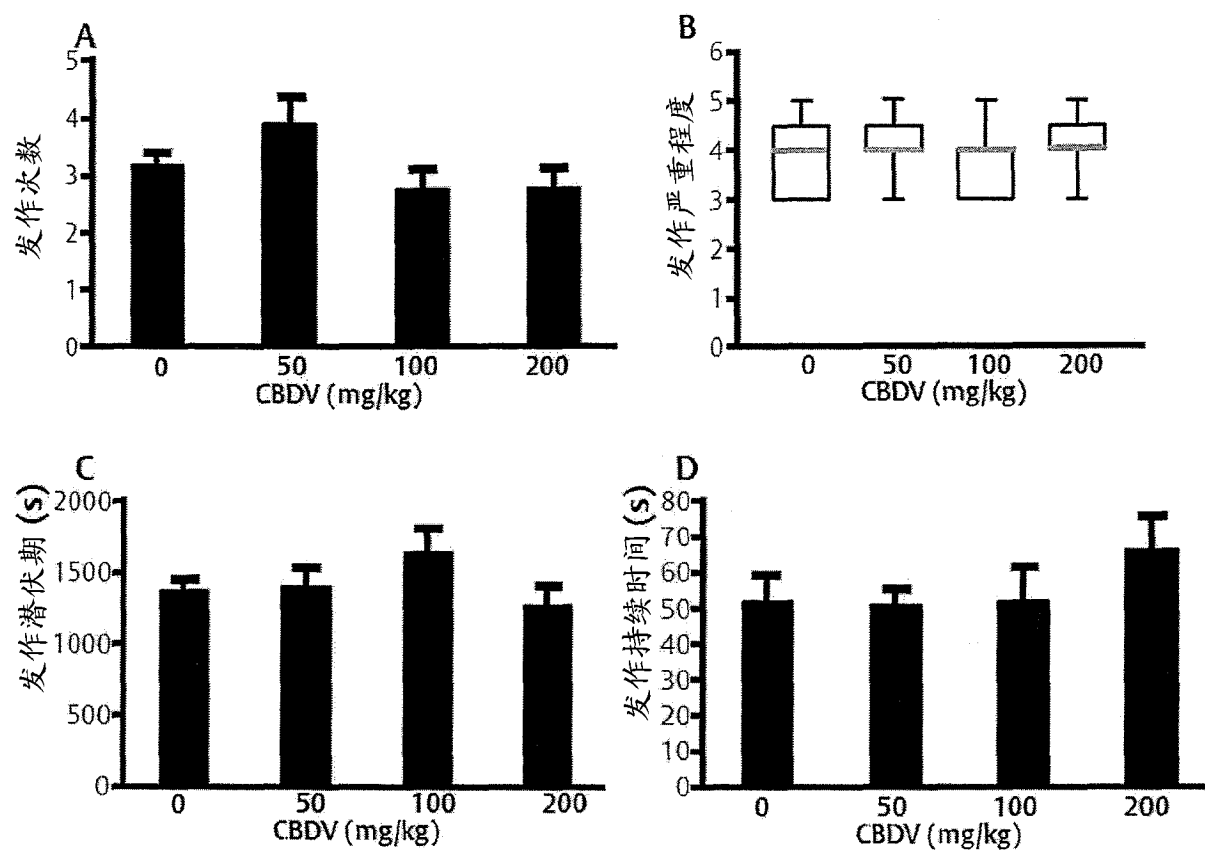
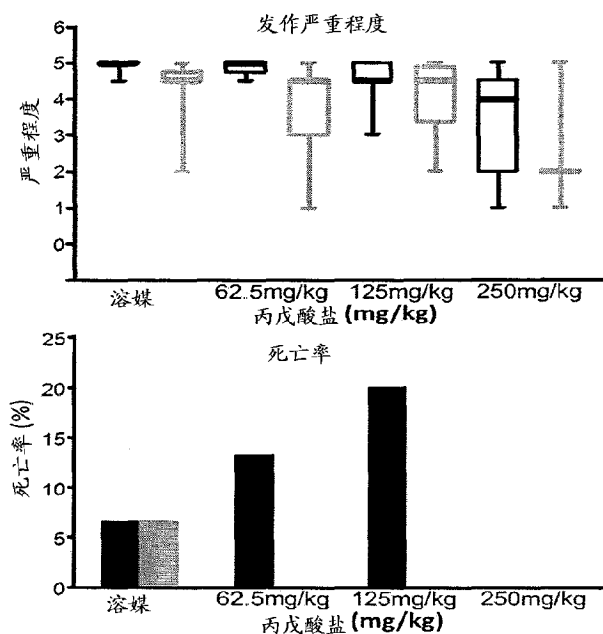


图 8

CBDV 和丙戊酸盐在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中的作用

在毛果芸香碱模型中的丙戊酸盐和 CBDV



试验	结果
双向 ANOVA 结果	显著 ($p < 0.001$)
丙戊酸盐作用	显著降低 ($p < 0.001$)
CBDV 作用	显著降低 ($p < 0.001$)
丙戊酸盐 × CBDV 相互作用	不显著 ($p > 0.05$)

■ + CBDV 溶媒
■ +200mg/kg CBDV

试验	结果
对数线性模型	CBDV、而非丙戊酸盐显著影响死亡率 [$\chi^2(12) = 7.694$, $p = 0.809$]
丙戊酸盐对死亡率的作用	丙戊酸盐对死亡率无显著作用 [$\chi^2(3) = 4.581$, $p > 0.1$]
CBDV 对死亡率的作用	CBDV 显著降低死亡率 [$\chi^2(1) = 4.010$, $p < 0.05$]
丙戊酸盐 × CBDV 相互作用	无显著相互作用 [$\chi^2(3) = 0.048$, $p > 0.1$]

图 9

高剂量(200mg/Kg) CBDV 和丙戊酸盐在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中的作用(双侧潜伏期和发病率)

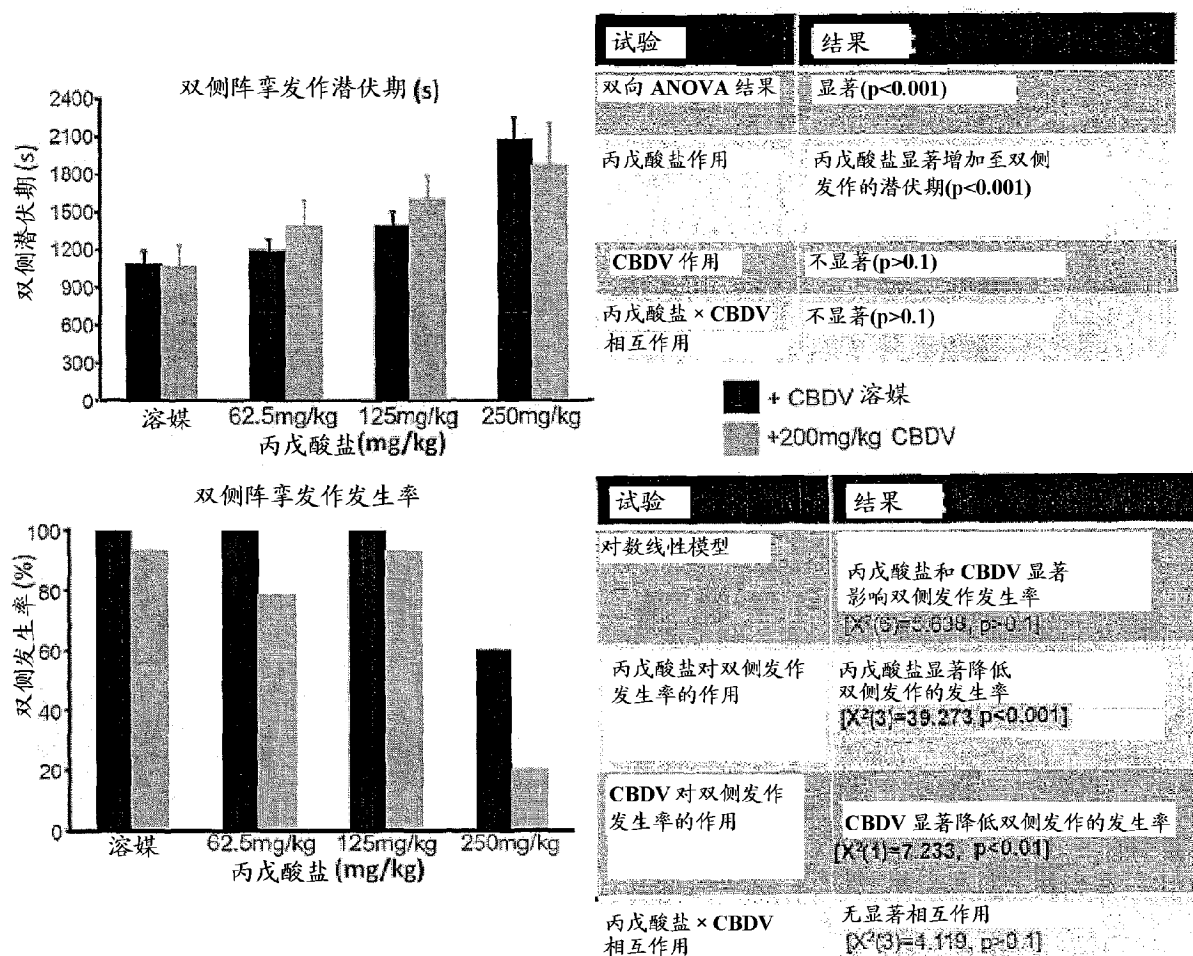


图 10

高剂量(200mg/Kg) CBDV 和丙戊酸盐在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中的作用(强直阵挛发生率和持续时间)

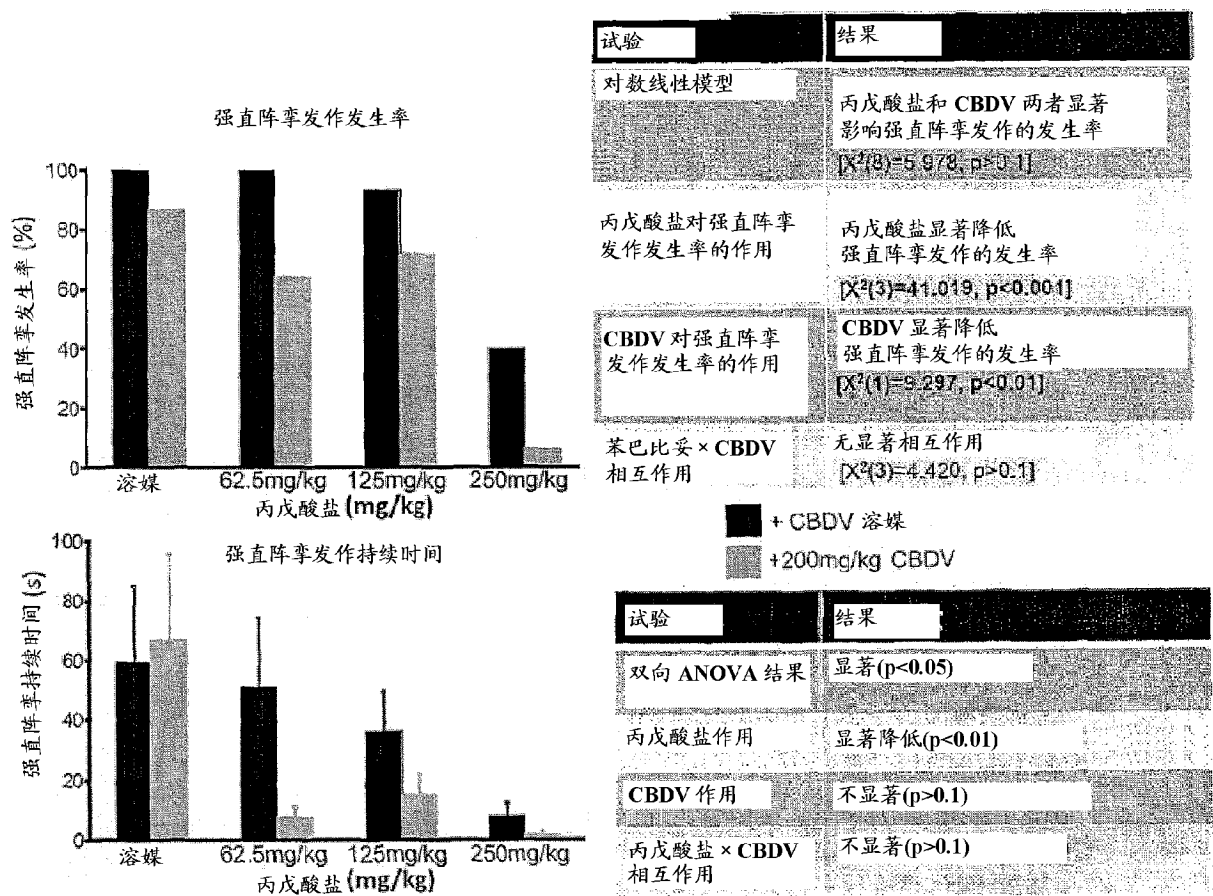
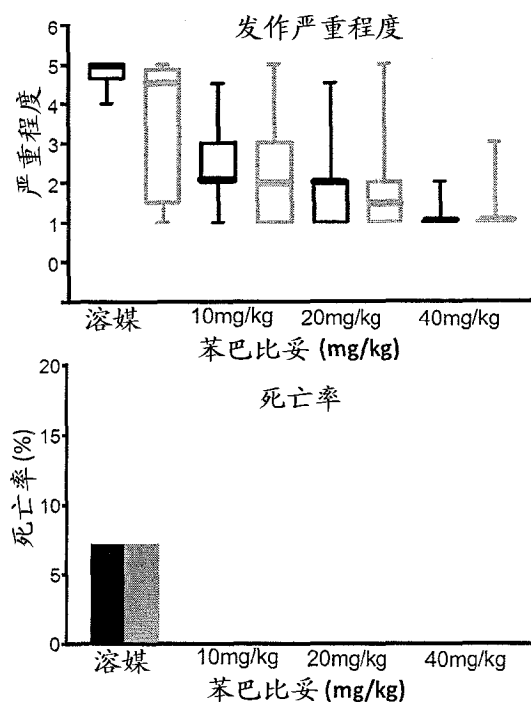


图 11

CBDV 和苯巴比妥在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中的作用

在毛果芸香碱模型中的苯巴比妥和 CBDV



试验	结果
双向 ANOVA 结果	显著 ($p < 0.001$)
苯巴比妥作用	显著降低 ($p < 0.001$)
CBDV 作用	显著降低 ($p < 0.05$)
苯巴比妥 × CBDV 相互作用	显著 ($p < 0.05$)

+ CBDV 溶媒

+200mg/kg CBDV

试验	结果
对数线性模型	苯巴比妥和 CBDV 都不显著影响死亡率 [$\chi^2(14) = 5.935$, $p = 0.968$]
苯巴比妥对死亡率的作用	苯巴比妥对死亡率无显著作用 [$\chi^2(3) = 5.797$, $p > 0.1$]
CBDV 对死亡率的作用	CBDV 对死亡率无显著作用 [$\chi^2(1) > 0.000$, $p > 0.1$]
苯巴比妥 × CBDV 相互作用	无显著相互作用 [$\chi^2(3) = 0.034$, $p > 0.1$]
注意: 在 $\geq 10\text{mg/ml}$ 苯巴比妥时缺乏死亡而导致统计解释受阻	

图 12

CBDV 和苯巴比妥在毛果芸香碱-诱导的癫痫发作中的作用

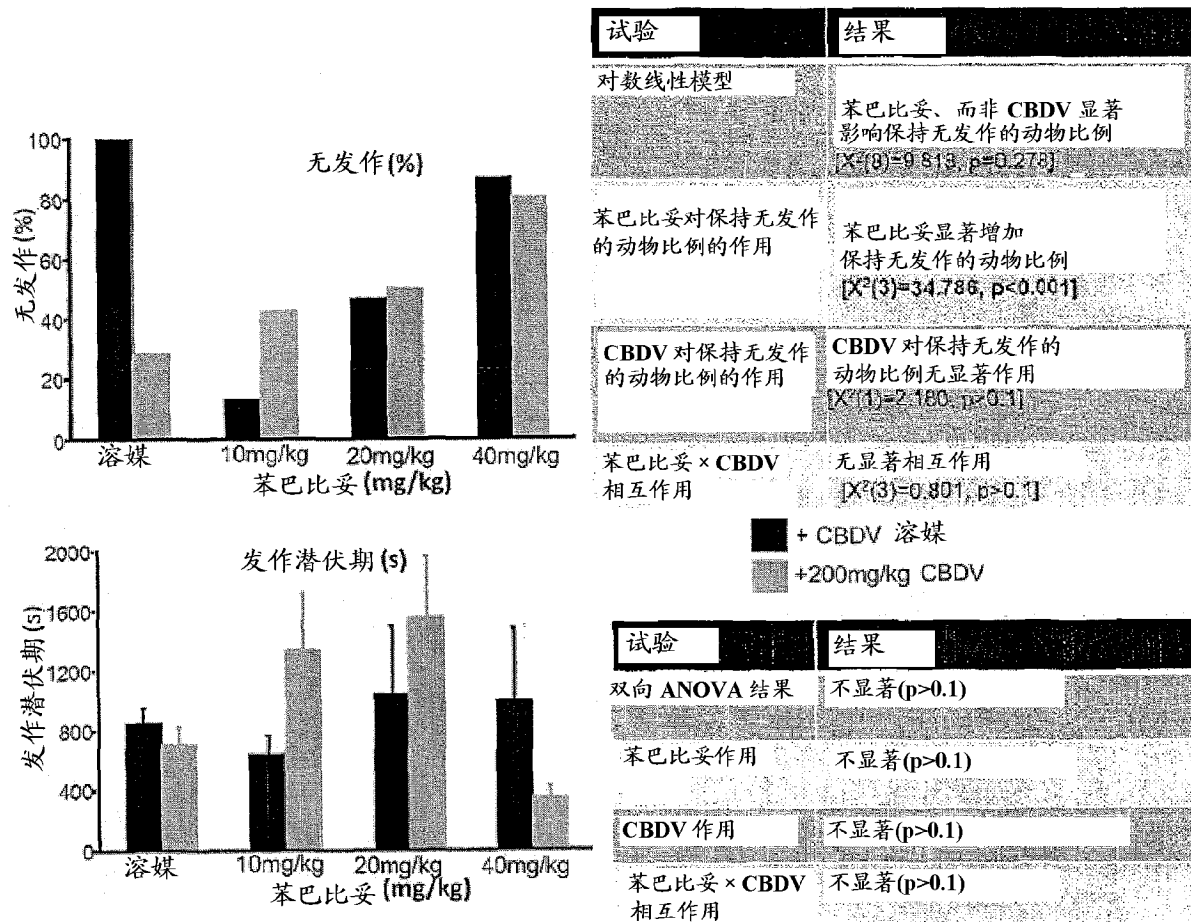


图 13

THCV BDS 和 70mg/kg PTZ 对至初次和后期癫痫发作严重程度的潜伏期的作用

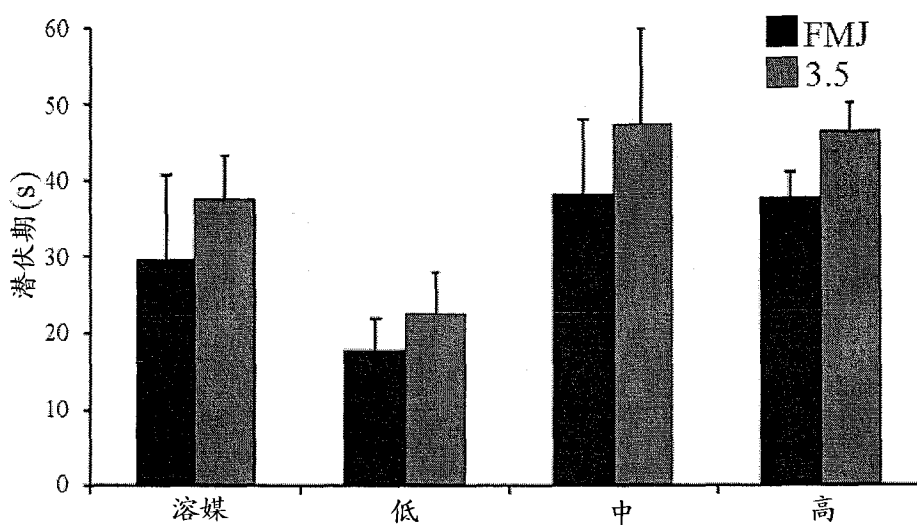


图 14

THCV BDS 和 70mg/kg PTZ 对癫痫发作持续时间和至死亡的时间的作用

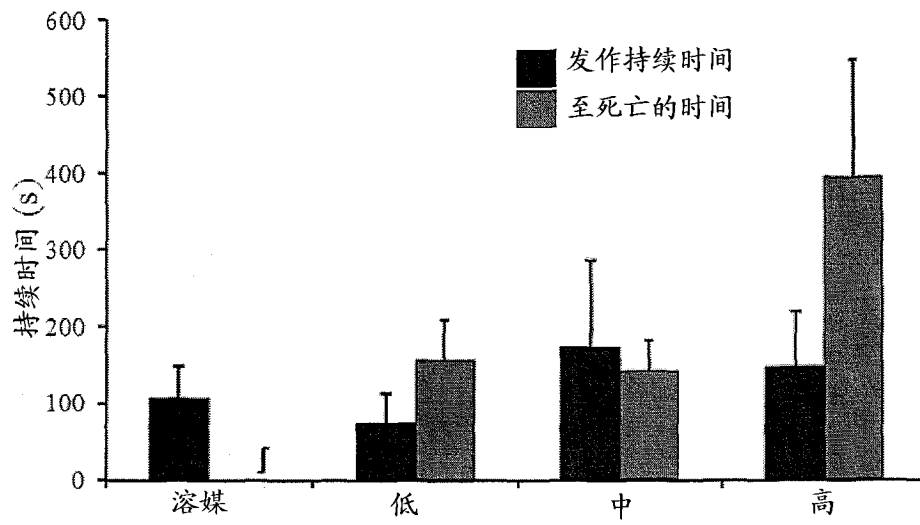


图 15

70mg/kg PTZ 之前 THCV BDS 和对中值严重程度评分的作用

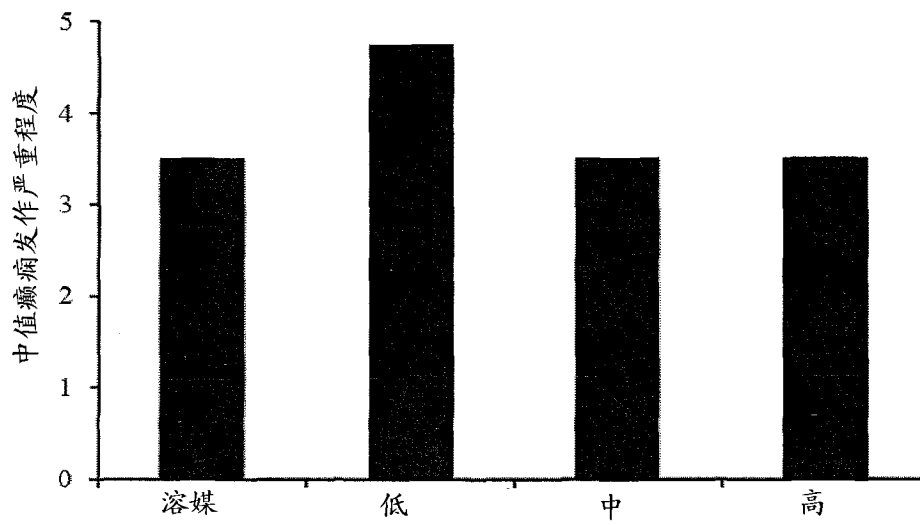


图 16

THCV BDS 和 70mg/kg PTZ 对死亡率的作用

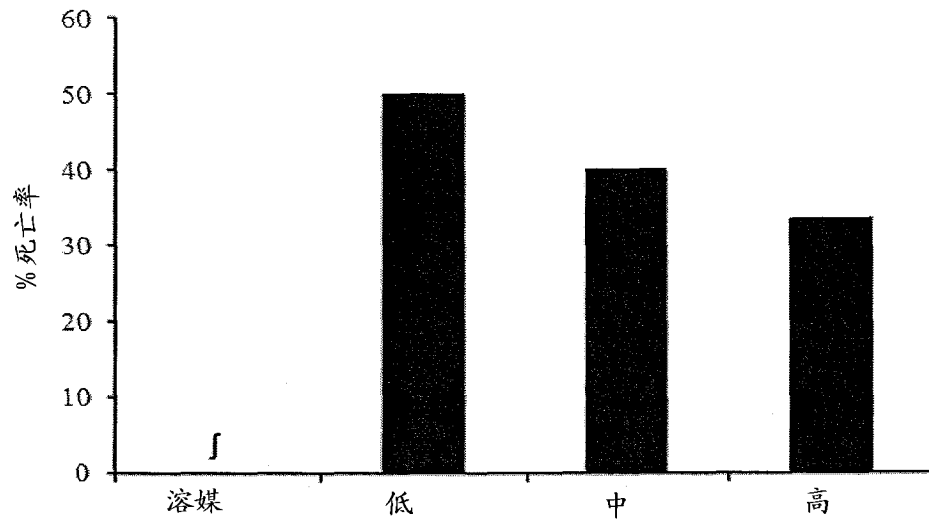


图 17

THCV BDS 和 80mg/kg PTZ 对至初次和后期癫痫发作严重程度的潜伏期的作用

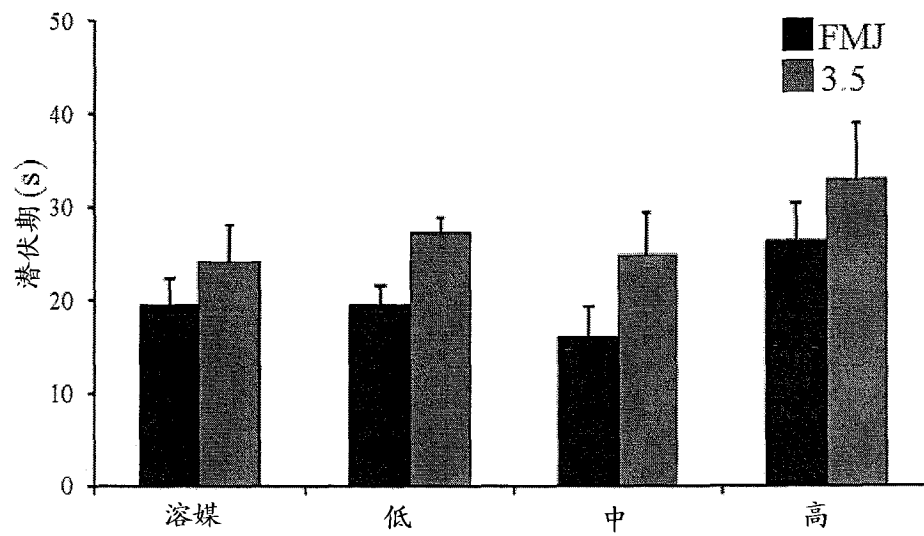


图 18

THCV BDS 和 80mg/kg PTZ 对癫痫发作持续时间和至死亡的时间的作用

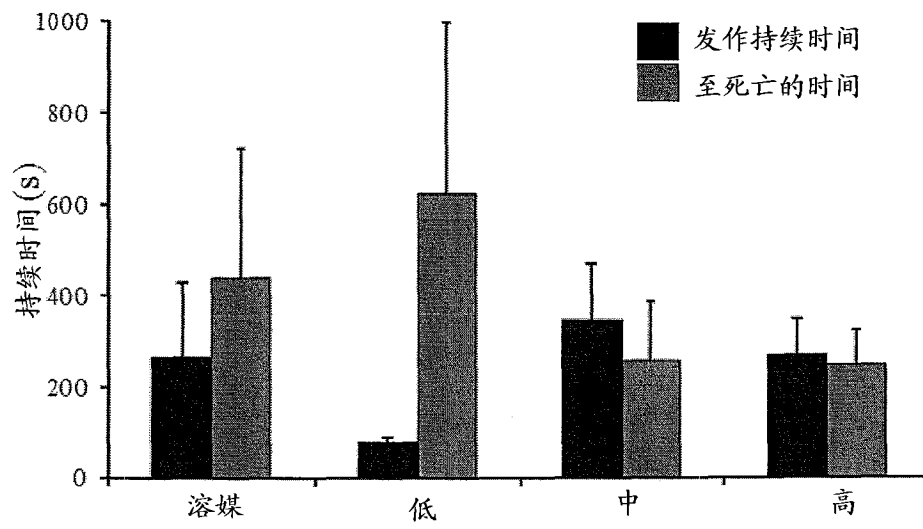


图 19

在 80mg/kg PTZ 之前 THCV BDS 对中度严重程度评分的作用

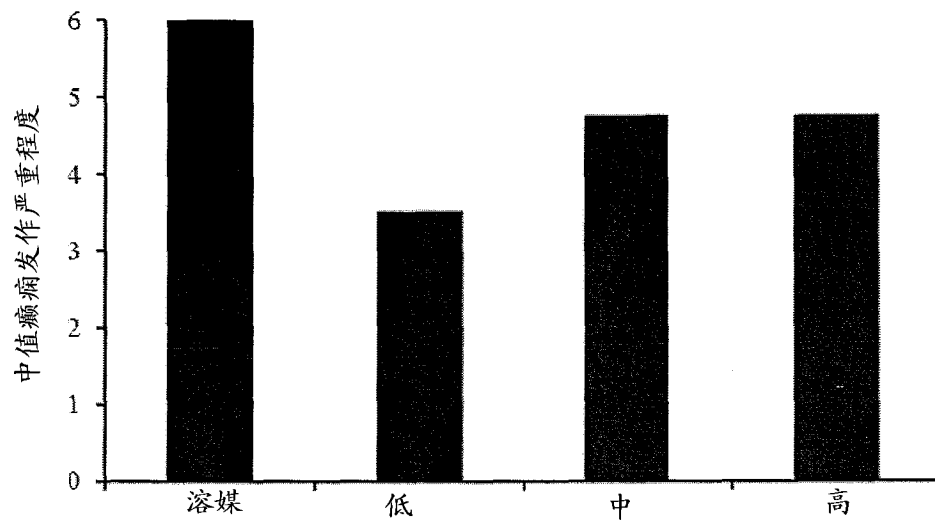


图 20

THCV BDS 和 80mg/kg PTZ 对死亡率的作用

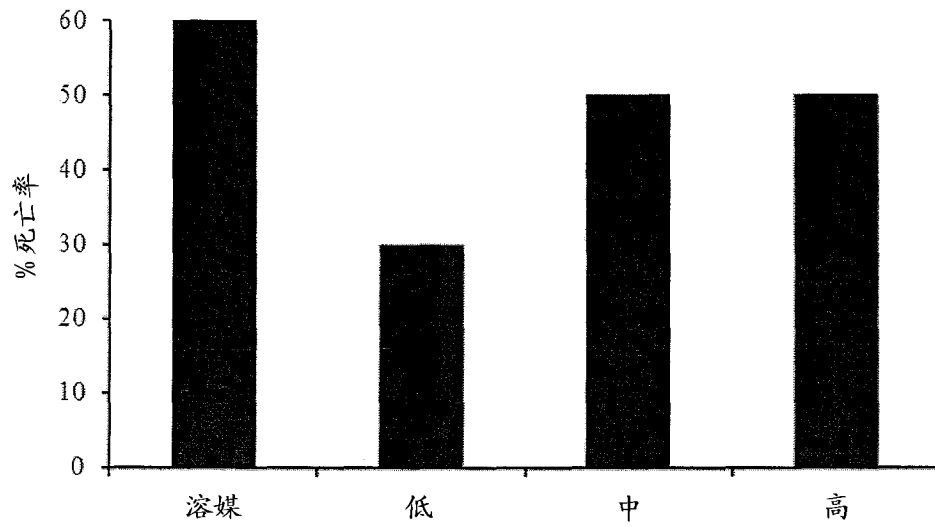


图 21

用纯 THCV 的 PTZ-诱导的癫痫发作的发展和持续时间

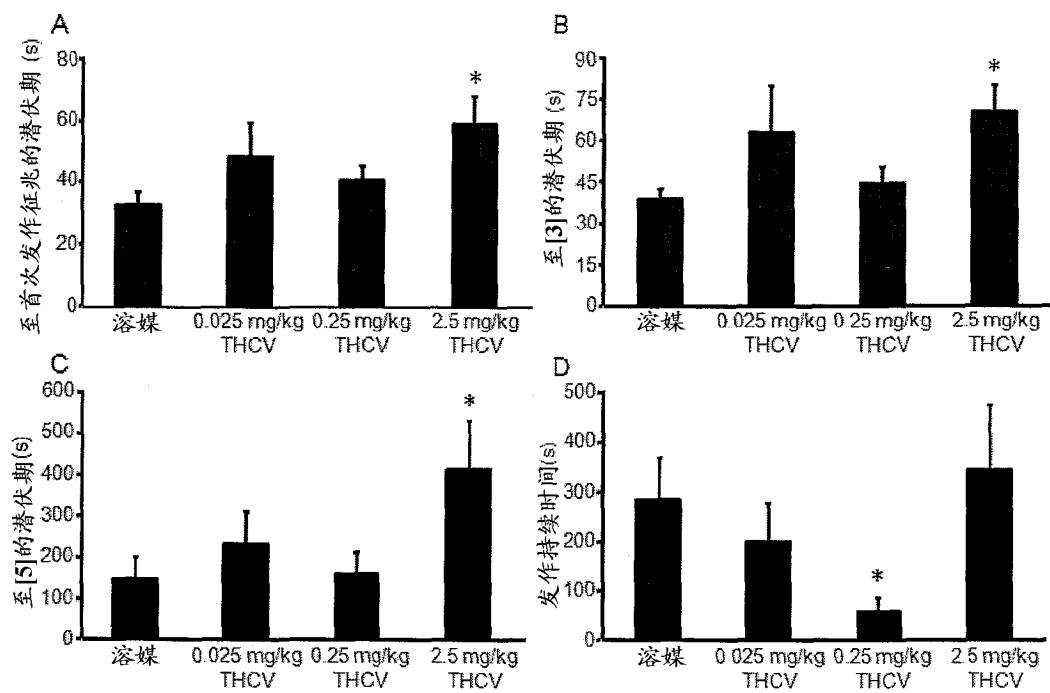


图 22A-D

CBD 对 PTZ-诱导的癫痫发作的作用

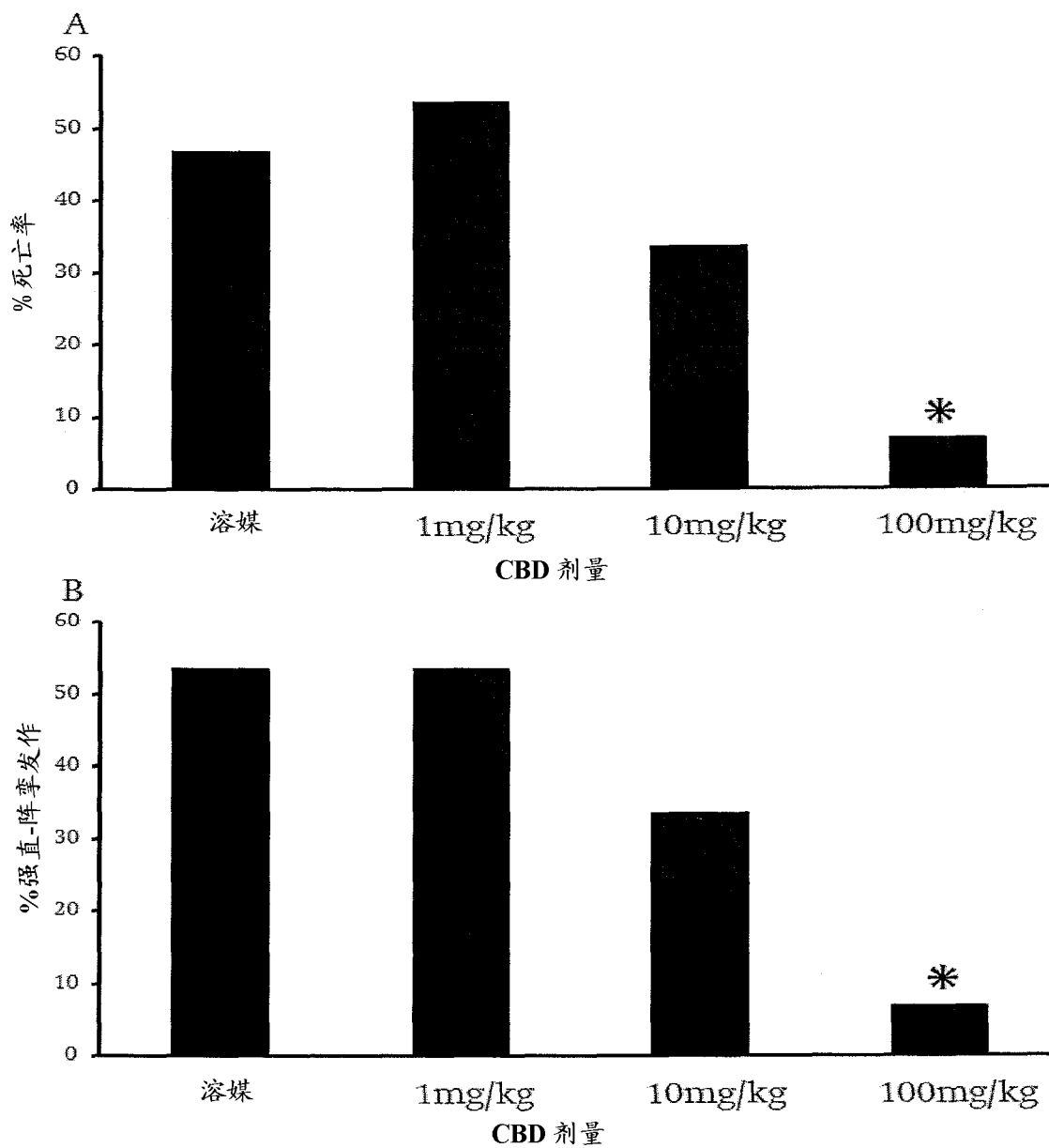


图 23A-B

溶媒对转棒仪表现的作用

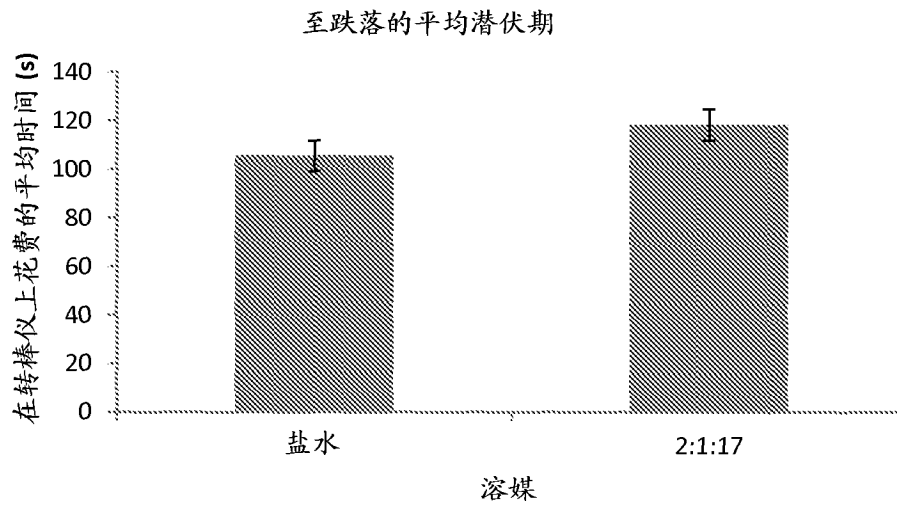


图 24

CBDV 对转棒仪表现的作用

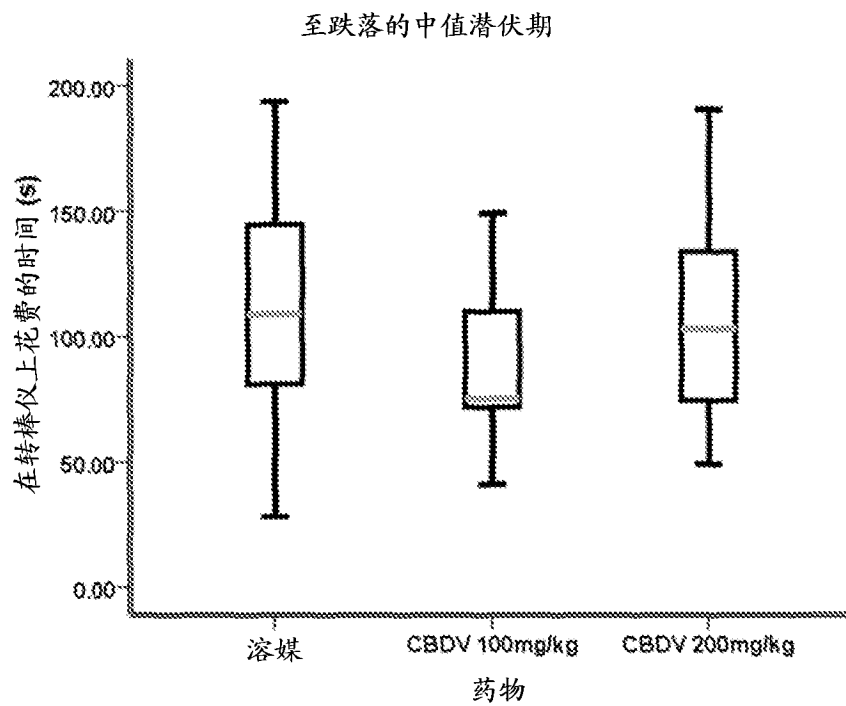


图 25