

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: 2010.06.29	(73) Titular(es): GW PHARMA LIMITED PORTON DOWN SCIENCE PARK SALISBURY WILTSHIRE SP4 OJQ GB OTSUKA PHARMACEUTICAL CO. LIMITED JP
(30) Prioridade(s): 2009.07.03 GB 0911580	
(43) Data de publicação do pedido: 2012.05.09	
(45) Data e BPI da concessão: 2014.03.12 101/2014	(72) Inventor(es): BEN WHALLEY GB GARY STEPHENS GB CLAIRE WILLIAMS GB GEOFFREY GUY GB STEPHEN WRIGHT GB
	(74) Mandatário: ÁLVARO ALBANO DUARTE CATANA AVENIDA MARQUÊS DE TOMAR, Nº 44, 6º 1069-229 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **UTILIZAÇÃO DE UM FITOCANABINÓIDE OU DE UMA COMBINAÇÃO DE FITOCANABINÓIDES NO TRATAMENTO DA EPILEPSIA**

(57) Resumo:

A UTILIZAÇÃO DE TETRAHIDROCANABIVARINA (THCV) ISOLADAMENTE OU EM COMBINAÇÃO COM CANABIDIOL (CBD) NO TRATAMENTO DA EPILEPSIA E, MAIS ESPECIFICAMENTE, NO TRATAMENTO DE CRISES GENERALIZADAS. UMA MODALIDADE REFERE-SE À UTILIZAÇÃO DO CANABINÓIDE THCV COMO COMPOSTO PURO OU ISOLADO OU COMO EXTRACTO VEGETAL NO QUAL QUANTIDADES SIGNIFICATIVAS DE QUALQUER THC NATURALMENTE PRESENTE FORAM SELECTIVAMENTE REMOVIDAS. NUMA MODALIDADE ADICIONAL, A THCV, OU EXTRACTO QUE CONTÉM THCV, É MISTURADA COM CBD OU COM UM EXTRACTO RICO EM CBD PARA BENEFICIAR DA ACTIVIDADE ANTI-EPILÉPTICA DO CBD.

RESUMO

«UTILIZAÇÃO DE UM FITOCANABINÓIDE OU DE UMA COMBINAÇÃO DE FITOCANABINÓIDES NO TRATAMENTO DA EPILEPSIA»

A utilização de tetrahydrocannabinol (THCV) isoladamente ou em combinação com canabidiol (CBD) no tratamento da epilepsia e, mais especificamente, no tratamento de crises generalizadas. Uma modalidade refere-se à utilização do canabinóide THCV como composto puro ou isolado ou como extracto vegetal no qual quantidades significativas de qualquer THC naturalmente presente foram selectivamente removidas. Numa modalidade adicional, a THCV, ou extracto que contém THCV, é misturada com CBD ou com um extracto rico em CBD para beneficiar da actividade anti-epiléptica do CBD.

DESCRIÇÃO

«UTILIZAÇÃO DE UM FITOCANABINÓIDE OU DE UMA COMBINAÇÃO DE FITOCANABINÓIDES NO TRATAMENTO DA EPILEPSIA»

[0001] Esta invenção refere-se à utilização de canabidiol no tratamento da epilepsia e, mais particularmente, à utilização deste canabinóide no tratamento de crises parciais.

ANTECEDENTES

[0002] A epilepsia é um distúrbio neurológico crónico, que inclui um amplo espectro de doenças, que afecta aproximadamente 50 milhões de pessoas a nível mundial (Sander, 2003). Avanços na compreensão do sistema "endocanabinóide" interno do corpo levaram à sugestão de que alguns medicamentos à base de cânabís podem ter o potencial de tratar esta perturbação de hiperexcitabilidade no sistema nervoso central (Mackie, 2006, Wingerchuk, 2004, Alger, 2006).

[0003] Têm sido atribuídos à cânabís tanto efeitos pró-convulsivos (Brust *et al.*, 1992) como anti-convulsivos. Assim, continua por determinar se os canabinóides representam um anti-convulsivo terapêutico ainda por revelar ou, inversamente, um factor de risco potencial para utilizadores de cânabís com fins recreativos ou medicinais (Ferdinand *et al.*, 2005).

[0004] Em 1975, Consroe *et al.* descreveram o caso de um

jovem adulto cujo tratamento de referência (fenobarbital e fentoína) não controlava as crises. Quando começou a fumar canábis socialmente deixou de ter crises convulsivas. Contudo, quando passou a consumir apenas canábis as crises regressaram. Os autores concluíram que a "marijuana pode possuir um efeito anti-convulsivo na epilepsia humana".

[0005] Um estudo conduzido por Ng (1990) envolveu uma população de 308 doentes epiléticos que tinham sido admitidos ao hospital após uma primeira crise. Estes foram comparados com uma população de controlo de 294 doentes que não tinham tido convulsões e revelou que o consumo de canábis parecia reduzir a probabilidade de ter uma crise epilética. Contudo, este estudo foi criticado num relatório do Institute of Medicine (1999) que o considerou "fraco", porque "não inclui medições do estado de saúde anterior à admissão hospitalar e as diferenças no estado de saúde podem ter influenciado o uso da substância" e não o contrário.

[0006] Na publicação WO2/064109 é feita referência aos efeitos anti-epiléticos do canabinóide canabidiol (CBD).

[0007] WO 2006/054057 faz referência à utilização potencial da THCV para tratar a epilepsia entre uma gama de doenças.

[0008] A publicação WO2009/007697 divulga formulações contendo THCV e CBD.

[0009] Três ensaios controlados investigaram o potencial anti-epilepsia do canabidiol. Em cada um deles, foi

administrado canabidiol na forma oral a doentes com crises generalizadas ("grande mal") ou crises focais.

[0010] Cunha *et al.* (1980) reportaram um estudo de 16 doentes que padeciam de "grande mal" e não se estavam a dar bem com a medicação convencional. Estes receberam a sua medicação regular e, adicionalmente, 200-300mg de canabidiol ou um placebo. Dos doentes que receberam CBD, 3 revelaram uma melhoria completa, 2 melhoria parcial, 2 melhoria ligeira e 1 não apresentou melhoras. O único efeito indesejado foi uma sedação ligeira. Dos doentes que receberam o placebo, 1 melhorou e 7 não apresentaram melhorias.

[0011] Ames (1986) apresentou um estudo menos bem sucedido no qual 12 doentes epiléticos receberam 200-300mg de canabidiol por dia, para além dos fármacos anti-epiléticos de referência. Parece não ter havido qualquer melhoria significativa na frequência de crises.

[0012] Tremblay *et al.* (1990) reportaram um ensaio aberto com um único doente ao qual foi administrado 900-1200 mg de canabidiol por dia durante 10 meses. Este ensaio mostrou que a frequência de crises foi marcadamente reduzida no doente.

[0013] É talvez significativo que já tenham decorrido cerca de 20 anos desde estes ensaios e que não tenha havido desenvolvimentos posteriores. Isto pode dever-se a uma série de factores incluindo um preconceito geral contra medicamentos à base de cânabis. É igualmente possível que os níveis de dose usados nos ensaios não fossem óptimos e o requerente determinou que os

canabinóides podem produzir curvas dose-resposta em forma de sino.

[0014] Para além das divulgações que sugerem que o CBD pode ser benéfico, há um relato (Davis & Ramsey) de administração de tetrahydrocannabinol (THC) a 5 crianças institucionalizadas que não estavam a responder ao tratamento de referência (fenobarbital e fentoína). Uma ficou inteiramente livre de crises, uma ficou quase completamente livre de crises e a condição dos restantes três não se agravou.

[0015] Contudo, há mais de quarenta tipos reconhecíveis de síndrome epiléptica em parte devido ao facto de a susceptibilidade a crises variar de doente para doente (McCormick and Contreras, 2001, Lutz, 2004) e um desafio é descobrir substâncias que sejam eficazes contra estes diferentes tipos.

[0016] A actividade neuronal é um pré-requisito para a função cerebral normal. Contudo, a perturbação do equilíbrio excitatório-inibitório da actividade neuronal pode induzir crises epilépticas. Estas crises epilépticas podem ser agrupadas em duas categorias básicas: crises parciais e generalizadas. As crises parciais têm origem em regiões cerebrais específicas e localizam-se habitualmente nos lobos temporais (que englobam o hipocampo), ao passo que crises generalizadas aparecem em todo o prosencéfalo como uma generalização secundária de uma crise parcial (McCormick & Contreras, 2001, Lutz, 2004). Este conceito de classificação de crises parciais e generalizadas não se tornou prática comum até a Liga Internacional Contra a Epilepsia (ILAE -

International League Against Epilepsy) ter publicado um esquema de classificação das crises epilépticas em 1969 (Merlis, 1970, Gastaut, 1970, Dreifuss et al., 1981).

[0017] A Liga Internacional Contra a Epilepsia classificou ainda as crises parciais, distinguindo as simples das complexas, dependendo da presença ou da perturbação de um estado de consciência (Dreifuss et al., 1981).

[0018] A ILAE categorizou igualmente as crises generalizadas em numerosos tipos de crises clínicas, alguns exemplos das quais são referidos abaixo:

[0019] As crises de ausência ocorrem frequentemente, tendo um início súbito e interrompendo as actividades em curso. Adicionalmente, o discurso é lentificado ou impedido, com as crises a durar apenas alguns segundos (Dreifuss et al., 1981).

[0020] As crises tónico-clónicas, frequentemente conhecidas como "grande mal", são as mais frequentes das crises generalizadas (Dreifuss et al., 1981). Este tipo de crise generalizada tem duas fases: contracções musculares tónicas a que se sucede uma fase clónica de movimentos convulsivos. O doente permanece inconsciente durante a crise e por um período de tempo variável depois da crise.

[0021] As crises atónicas, também denominadas de "crises asiáticas", são resultado da perda súbita de tónus muscular num músculo específico, em grupos musculares ou em todos os músculos do corpo (Dreifuss et al., 1981).

[0022] O aparecimento de crises epilépticas pode ser potencialmente fatal, os doentes sofrendo igualmente de implicações de saúde de longa duração (Lutz, 2004).

Estas implicações podem assumir muitas formas:

- problemas de saúde mental (e.g. obstáculo ao desenvolvimento normal das sinapses glutamatérgicas na infância);
- défices cognitivos (e.g. redução da capacidade de circuitos neuronais no hipocampo para aprender e armazenar memórias);
- alterações morfológicas (e.g. perda selectiva de neurónios nas regiões CA1 e CA3 do hipocampo em doentes que apresentam epilepsia do lobo temporal mesial em resultado de excitotoxicidade) (Swann, 2004, Avoli et al., 2005).

[0023] É de referir que a epilepsia também afecta grandemente o estilo de vida do doente que pode viver no medo de lesão consequential (e.g. traumatismo craniano) resultante de uma crise de "grande mal", pela incapacidade de realizar tarefas diárias ou incapacidade de conduzir um carro a menos que tenha tido um período prolongado livre de crises (Fisher et al., 2000).

[0024] Três modelos de crise aguda bem estabelecidos e extensivamente usados *in vivo*, que mimetizam a actividade neuronal e sintomas físicos consequentes que se manifestam numa crise sofrida por alguém com epilepsia,

são:

- modelo de crises generalizadas induzidas por pentilenotetrazol (Obay et al., 2007, Rauca et al., 2004);
- modelo de crises do lobo temporal induzidas por pilocarpina (i.e. hipocampo) (Pereira et al., 2007); e
- modelo de crises parciais induzidas por penicilina (Bostanci and Bagirici, 2006).

[0025] Estes fornecem uma gama de modelos de crise e epiléptica epilepsia, essencial para a investigação terapêutica em humanos.

[0026] É um objectivo da presente invenção identificar fitocannabinóides ou combinações de fitocannabinóides que têm uso no tratamento de formas específicas de crises associadas à epilepsia.

[0027] É outro objectivo da presente invenção determinar intervalos de dosagem com maior probabilidade de serem eficazes e identificar combinações de cannabinóides (que podem ocorrer naturalmente em diferentes quimiotipos ou variedades de canábis) com maior probabilidade de serem benéficas devido a diferenças prováveis nos seus mecanismos de acção.

BREVE RESUMO DA DIVULGAÇÃO

[0028] De acordo com um primeiro aspecto da presente

invenção é fornecido canabidiol (CBD) para uso no tratamento de crises parciais em que este está presente numa quantidade que fornece uma dose diária de pelo menos 400 mg.

[0029] Preferencialmente, o CBD está presente numa quantidade que fornece uma dose diária de 400 a 800 mg.

[0030] Preferencialmente, a crise parcial evoluiu para uma crise mais grave.

[0031] Preferencialmente, o CBD é usado em combinação com tetrahydrocannabinol (THC), mais preferencialmente a THC está presente numa quantidade que fornece uma dose diária de pelo menos 1,5 mg, ainda mais preferencialmente a THC está presente numa quantidade que fornece uma dose diária de pelo menos 15 mg.

[0032] Os canabinóides podem estar presentes como canabinóides puros ou isolados ou sob a forma de extractos vegetais. Quando é usado um extracto vegetal, é preferível que o teor de THC seja inferior a 5% por peso do total dos canabinóides, mais preferencialmente inferior a 4% a 3%, 2% e 1%. O THC pode ser removido selectivamente dos extractos usando técnicas tais como a cromatografia.

[0033] Num segundo aspecto da presente invenção, é fornecida uma composição para uso no tratamento de crises parciais compreendendo canabidiol (CBD).

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[0034] Modalidades da invenção são ainda descritas adiante fazendo referência às Figuras 1 a 9 e 11 a 13 que se referem ao fitocanabinóide THCV e são incluídas apenas a título de comparação. As Figuras 10 e 14 a 20 referem-se ao fitocanabinóide CBD.

A Figura 1 mostra os tempos de latência para a gravidade das crises iniciais e posteriores. São apresentadas as latências médias para o primeiro abalo mioclônico (FMJ) e pontuações de $3,5 \pm$ EPM para veículo ou para doses reduzidas, moderadas ou elevadas de THCV BDS e 70 mg/kg de PTZ. $n = 8-10$;

A Figura 2 mostra a duração da crise e o tempo até à morte. As durações médias de crises em animais que sobreviveram e o tempo desde o primeiro sinal de crise até à morte no caso dos que morreram, são representados \pm EPM para veículo e para as doses reduzida, moderada ou elevada de THCV BDS e 70mg/kg de PTZ. $n = 3-10$ dependendo das proporções de animais que morreram nos grupos experimentais. \bar{f} = o grupo veículo não teve mortes, como tal não é apresentado qualquer valor aqui;

A Figura 3 mostra as pontuações medianas da gravidade. Pontuações medianas da gravidade para grupos de animais tratados com veículo ou com doses reduzidas, moderadas ou elevadas de THCV BDS antes de 70mg/kg de PTZ. $n = 10$ para todos os grupos;

A Figura 4 mostra as taxas de mortalidade. As taxas de mortalidade são expressas como percentagens para animais tratados com veículo ou com doses reduzidas, moderadas ou elevadas de THCV BDS e 70mg/kg de PTZ.

n = 10 para todos os grupos. f = o grupo veículo não teve mortes, como tal não é apresentado qualquer valor;

A Figura 5 mostra os tempos de latência para a gravidade das crises iniciais e posteriores. As latências médias para o primeiro abalo mioclónico (FMJ) e pontuações de 3,5 são representadas \pm EPM para veículo ou dose reduzida, moderada ou elevada de THCV BDS e 80 mg/kg de PTZ.

n = 7-10;

A Figura 6 mostra a duração da crise e o tempo até à morte. As durações médias das crises em animais que sobreviveram e o tempo desde o primeiro sinal de crise até à morte no caso dos que morreram, são representados \pm EPM para veículo ou dose reduzida, moderada ou elevada de THCV BDS e 80 mg/kg de PTZ. n = 3-7 dependendo das proporções de animais que morreram nos grupos experimentais;

A Figura 7 mostra as pontuações medianas da gravidade. Pontuações medianas da gravidade para grupos de animais tratados com veículo ou com doses reduzidas, moderadas ou elevadas de THCV BDS antes de 80 mg/kg de PTZ. n = 10 para todos os grupos;

A Figura 8 mostra as taxas de mortalidade. As taxas

de mortalidade são expressas como percentagens para animais tratados com veículo ou com doses reduzidas, moderadas ou elevadas de THCv BDS e 80 mg/kg de PTZ. n = 10 para todos os grupos;

As Figuras 9 A-D mostram o desenvolvimento e duração de crises induzidas por PTZ com THCv pura. A, B e C mostram a latência média (s) a partir da injeção de 80 mg/kg de PTZ até: o primeiro sinal de crise (A); o desenvolvimento de crises mioclónicas (B) e crises generalizadas tónico-clónicas (C) para grupos tratados com THCv ou veículo. N=5-16 dependendo da incidência de cada marcador dentro um grupo específico). (D) mostra a duração média das crises (s) em animais que sobreviveram após a crise. Todos os valores \pm EPM, *indica uma diferença significativa em relação ao grupo veículo ($P < 0,05$; teste U de Mann-Whitney);

As Figuras 10 A-B mostram o efeito do CBD em crises induzidas por PTZ, A: % de mortalidade resultante da injeção IP de 80 mg/kg de PTZ em animais que receberam veículo ou tratados com CBD (1, 10, 100 mg/kg de CBD) (n=15 para todos grupos). B: % de animais que receberam veículo e tratados com CBD (1, 10, 100 mg/kg de CBD) que experimentaram crises tónico-clónicas em resultado da injeção IP de 80 mg/kg de PTZ. * indica um resultado significativo ($p < 0,01$);

A Figura 11 mostra a falta de efeito da THCv na percentagem de mortalidade. Significância avaliada usando um teste binomial por comparação com controlo

e significância aceite a $P < 0,05$. Não foi encontrada uma diferença significativa vs controle em qualquer dose;

A Figura 12 mostra a falta de efeito da THCV na gravidade máxima média das crises. A significância foi avaliada por ANOVA unidireccional com teste *post-hoc* de Tukey; $P > 0,5$ para todas as comparações vs controle;

A Figura 13 A-D mostra a percentagem de animais em cada grupo que atingiu estados de crise especificados quando tratados com THCV. Usando um teste binomial foram encontradas diferenças significativas vs controle. $P \leq 0,05$.

A Figura 14 mostra a falta de efeito do CBD na percentagem de mortalidade. Significância avaliada pelo teste binomial; * mostra um aumento significativo na mortalidade ($P < 0,05$). Note-se que este efeito apenas surgiu a 10 mg/kg e perdeu-se a 100 mg/kg, o que é sugestivo de um efeito bifásico;

A Figura 15 mostra a gravidade máxima média das crises. A significância foi avaliada por ANOVA unidireccional com teste *post-hoc* de Tukey; $P > 0,5$ para todas as comparações vs controle;

A Figura 16 A-D descreve a percentagem de animais em cada grupo que atingiu estados de crise especificados. Usando um teste binomial foram avaliadas as diferenças significativas vs controle. $P \leq 0,05$ (*);

$P \leq 0,001$ (***) ;

A Figura 17 mostra os efeitos do CBD na frequência tónico-clónica média. A significância foi avaliada através de ANOVA unidireccional com teste *post-hoc* de Tukey. $P \leq 0,05$ (*) ; $P \leq 0,01$ (**);

A Figura 18 descreve a percentagem da duração de tempo decorrido num estado tónico-clónico comparativamente à duração total do período da crise. A significância foi avaliada através de ANOVA unidireccional com teste *post-hoc* de Tukey. $P \leq 0,05$ (*) ;

A Figura 19 A-B descreve os efeitos do CBD nas crises tónico-clónicas sem controlo postural. A: % de animais que experimentaram crises tónico-clónicas sem controlo postural. B: frequência na qual os animais apresentaram crises tónico-clónicas sem controlo postural no período de registo de duas horas (ou até à morte). A: teste estatístico binomial; B: ANOVA unidireccional seguida de teste de Tukey. **,*** e # indicam $p \leq 0,01$, 0,001 e 0,1 respectivamente; e

A Figura 20 A-C descreve o efeito do CBD na gravidade e mortalidade de crises induzidas por penicilina. A: Gravidade mediana das crises (linha cinzenta), são igualmente representados os percentis 25 e 75 (linhas pretas horizontais) e os valores máximo e mínimo (barras de erro ascendente e descendente, respectivamente). B: Percentagem de animais que se mantiveram sempre livres de crises. C: Percentagem de mortalidade. A: ANOVA unidireccional seguida de teste de Tukey. B e C: teste estatístico binomial; *,

*** e # indicam $p \leq 0,05$, 0,001 e 0,1.

DESCRIÇÃO DETALHADA

Modelo PTZ - Exemplos 1-3

Metodologia geral para o modelo PTZ

Animais

[0035] Foram usados ratos Wistar macho (P24-29; 75-110g) para avaliar os efeitos dos canabinóides: THCV (BDS e pura) e CBD no modelo PTZ de crises generalizadas. Os animais foram habituados ao ambiente de teste, gaiolas, protocolo de injeção e manuseamento antes da experimentação. Os animais foram alojados numa sala a 21°C num ciclo de luz/escuridão de 12 horas: (luzes a 0900) com humidade a 50% e livre acesso a alimentos e água.

Preparação experimental

[0036] Cinco tanques Perspex (RTM) de 6L com tampas foram colocados numa única bancada com divisórias entre si. Foram montadas câmaras em circuito fechado de televisão (CCTV) nas divisórias para observar o comportamento dos ratos. Câmaras CCD Sony Topica (Bluecherry, EUA) foram ligadas por cabos BNC a um PC silencioso via cartões Brooktree de captura digital (Bluecherry, EUA). Foi usado software Zoneminder (<http://www.zoneminder.com>) para monitorizar os ratos, começar e parar de gravar e gerir os ficheiros vídeo. Foram usados scripts Linux (RTM) internos para codificar

os ficheiros de vídeo num formato adequado para análise off-line posterior usando The Observer (RTM) (Noldus Technologies).

Dose

[0037] Foi usado um intervalo de doses de PTZ (50-100mg/kg de peso corporal) para determinar a melhor dose para indução de crises (ver abaixo). Em resultado, foram usadas doses de 70 e 80 mg/kg injectadas por via intraperitoneal (IP; solução stock 50 mg/ml em solução salina a 0,9%) para pesquisar canabinóides.

Protocolos Experimentais

[0038] No dia do teste, os animais receberam uma injeção IP de qualquer um dos canabinóides (dose reduzida, moderada ou elevada) ou um volume combinado do veículo dos canabinóides (1:1:18 etanol:Cremofor: solução NaCl a 0,9% p/v), que serviu como grupo de controlo negativo. Os animais foram então observados durante 30 minutos, após o que receberam uma injeção IP de 70 ou 80 mg/kg de PTZ. Os controlos de veículo negativo foram testados em paralelo com os sujeitos tratados com canabinóide. Depois de receberem uma dose de PTZ, os animais foram observados e filmados em vídeo para determinar a gravidade da crise e latência para vários tipos de comportamento de crise (ver análise *in vivo*, abaixo). Os animais foram filmados durante meia hora após o último sinal de crise e depois devolvidos às gaiolas.

Análise in vivo

[0039] Os animais foram observados durante procedimentos experimentais, mas toda a análise foi realizada off-line nos ficheiros de vídeo gravados usando o software de análise comportamental The Observer (Noldus, Países Baixos). Um sistema de classificação da gravidade das crises foi usado para determinar os níveis de crise experimentados pelos sujeitos (Pohl & Mares, 1987). Todos os sinais de crise foram detalhados para todos os animais.

Tabela 1 Escala de classificação da gravidade das crises, adaptada de Pohl & Mares, 1987.

Classificação da crise	Expressão comportamental	Reflexo de endireitamento
0	Nenhuma alteração ao comportamento	Preservado
0,5	Comportamento anormal (fungadelas, lavagem excessiva, orientação)	Preservado
1	Abalos mioclónicos isolados	Preservado
2	Crise clónica atípica	Preservado
3	Clónus bilateral dos membros dianteiros plenamente desenvolvido	Preservado
3,5	Clónus dos membros dianteiros com componente tónico e torção corporal	Preservado
4	Crise tónico-clónica com fase tónica suprimida	Perdido
5	Crise tónico-clónica plenamente desenvolvida	Perdido
6	Morte	

Latência desde a injeção de PTZ para indicadores específicos de desenvolvimento de crise:

[0040] O período de latência (em segundos) desde a

injecção de PTZ até ao primeiro abalo mioclónico (FMJ; pontuação de 1) e até o animal atingir o "clónus dos membros dianteiros com componente tónico e torção corporal" (pontuação de 3,5) foram registados. O FMJ é um indicador do início da actividade da crise, já que >90% dos animais desenvolveram pontuações de 3,5 e, como tal, é um bom marcador do desenvolvimento de crises mais graves. Os dados são apresentados como a média \pm EPM num grupo experimental.

Gravidade máxima da crise:

[0041] Isto é dado como o valor mediano para cada grupo experimental com base na escala de classificação abaixo.

Percentagem de mortalidade:

[0042] A percentagem de animais num grupo experimental que morreram em resultado de crise induzida por PTZ. Note-se que a maioria dos animais que desenvolveram crises tónico-clónicas (pontuações de 4 e 5) no estudo THCV (BDS) morreram em resultado disto, e que uma pontuação de 6 (morte) denota automaticamente que o animal também experimentou crises tónico-clónicas.

Duração da crise:

[0043] O tempo (em segundos) desde o primeiro sinal de crise (tipicamente FMJ) até ao último sinal de crise ou, no caso de sujeitos que morreram, o tempo de morte separado em animais que sobreviveram e que não sobreviveram. Isto é apresentado como a média \pm EPM para

cada grupo experimental.

Estatísticas:

[0044] As diferenças nas latências e durações foram avaliadas pela análise de variância unidireccional (ANOVA) com teste *post-hoc* de Tukey. $P \leq 0,05$ foi considerado significativo.

Exemplo 1 - THCV (BDS) Incluído apenas para comparação

[0045] A THCV BDS incluiu um extracto integral de um quimiotipo no qual a THCV foi o canabinóide predominante. (*i.e.* foi o principal canabinóide presente no extracto, 80% por peso do teor de canabinóide total). O THC foi o segundo canabinóide mais prevalente e estava presente em quantidades significativas. (*i.e.* compunha mais de 10% por peso do teor de canabinóide total, estando presente em cerca de 16%) e foram identificados vários canabinóides menores, cada um comendo menos de 2% por peso do teor de canabinóide total conforme determinado por HPLC. A razão de

[0046] THCV para THC neste extracto é de cerca de 5:1.

[0047] De facto, o teor de THCV foi de 67,5% por peso do extracto e o teor de THC foi de 13,6% por peso do extracto, sendo que os outros canabinóides identificados no total representam cerca de 3% por peso do extracto, os remanescentes 16% compreendendo não canabinóides.

Estudo piloto PTZ

[0048] As crises induzidas por um intervalo de concentrações de PTZ (50-100 mg/kg; o intervalo descrito na literatura) em ratos foram investigadas para determinar uma dose óptima anterior à investigação do efeito do canabinóide. Doses de PTZ de:

- 50 mg/kg e 60 mg/kg induziram muito pouca actividade de tipo crise (n=4);
- 70 mg/kg tipicamente induziram crises clónicas (pontuação de 3,5; 8 de 13 sujeitos);
- 80 mg/kg induziram regularmente crises tónico-clónicas (pontuações de 4 e 5; 6 de 10 sujeitos).

[0049] Adicionalmente, descobriu-se que a administração repetida de PTZ resultava no aumento da sensibilidade ao longo do tempo; assim, não foram realizadas experiências em animais que já tinham recebido uma dose de PTZ.

[0050] O efeito de THCV BDS nas crises induzidas por PTZ foi avaliado em primeiro lugar contra uma dose de PTZ de 70 mg/kg. Conforme descrito abaixo, isto produziu um grupo de controlo "veículo" que tipicamente não apresentou pontuações de crise grave. Assim, a THCV BDS também foi testada para uma dose de 80 mg/kg de PTZ. Considerou-se que o aumento da gravidade das crises experimentadas pelos animais de controlo com veículo expostos a 80 mg/kg de PTZ foi um teste mais apropriado da potencial actividade anti-convulsiva.

Efeito de THCV BDS em crises moderadamente graves induzidas por PTZ (70 mg/kg)

[0051] Três doses de THCV BDS foram avaliadas contra uma concentração de PTZ que se sabe induzir crises moderadas em ratos (70 mg/kg; ver estudo piloto, acima). As doses reduzidas, moderadas e elevadas de THCV BDS usadas foram 0,37, 3,70 e 37,04 mg/kg e produziram doses reais de THCV de 0,25, 2,5 e 25 mg/kg, respectivamente. Estas doses foram combinadas por teor de THCV com as que foram usadas para testar a THCV pura contra crises induzidas por PTZ.

[0052] A THCV BDS não teve quaisquer efeitos significativos na latência até ao primeiro abalo mioclónico ou na latência até atingir uma pontuação de gravidade de 3,5 na escala de gravidade da crise (Fig. 1). Deve ser referido que embora os valores para ambas as variáveis sejam mais elevados no caso de animais tratados com dose média e elevada de THCV BDS comparativamente ao controlo, tal não se revelou significativo ($P > 0,05$). Similarmente, não foi observado um impacto significativo na duração das crises (Fig. 2).

[0053] Os efeitos da THCV BDS na gravidade da crise (Fig 3) e na mortalidade (Fig 4) em animais que receberam doses de 70 mg/kg de PTZ não seguiram um padrão simples. Nenhum animal injectado apenas com veículo excedeu a pontuação de gravidade mediana de 3,5 para esse grupo e nenhum animal morreu ($n = 10$).

[0054] Em contraste, 70 mg/kg de PTZ induziram crises tónico-clónicas graves e morte em 50% dos animais

injectados com uma dose reduzida de THCV BDS, mostrando uma pontuação de gravidade mediana de 4,75. Este aumento na gravidade não foi significativo. Contudo, os animais injectados com doses moderadas e elevadas de THCV BDS exibiram uma pontuação de gravidade mediana inferior e taxas de mortalidade mais baixas do que os expostos a doses reduzidas (Figs 3 e 4). As taxas de mortalidade no caso de dose moderada e elevada foram superiores às do grupo veículo, mas não significativamente ($P > 0,05$; Fig. 4). Contudo, as pontuações de gravidade mediana foram idênticas para as doses moderada e elevada (Fig. 3). Este padrão de resultados sugeriu que era necessário outro conjunto de experiências, nas quais a THCV BDS fosse testada contra uma dose de PTZ que induzisse crises graves em animais de controlo (tratados com veículo).

Efeito de THCV BDS em crises graves induzidas por PTZ (80 mg/kg)

[0055] Foram avaliados os efeitos das mesmas três doses de THCV BDS em crises induzidas por 80 mg/kg de PTZ. Vale a pena referir que 80 mg/kg induziram crises significativamente mais graves do que 70 mg/kg nos grupos de controlo com veículo ($P = 0,009$), com pontuações medianas de gravidade de crise de 6 e 3,5, respectivamente. THCV BDS não teve um efeito significativo na latência até FMJ ou uma pontuação de gravidade de 3,5 (Fig. 5). Similarmente, não foi observado qualquer efeito na duração das crises (Fig. 6).

[0056] A dose reduzida de THCV BDS reduziu tanto a gravidade das crises (Fig. 7) como a mortalidade (Fig.

8) em animais que receberam doses de 80 mg/kg de PTZ. Os animais que receberam uma dose reduzida de THCV BDS tiveram uma pontuação de gravidade mediana inferior (3,5 comparado com 6) à dos controlos de veículo. Contudo, esta diferença não foi significativa ($P > 0,5$). O grupo de dose reduzida de THCV BDS também teve uma taxa de mortalidade de metade da do grupo de controlo com veículo (30% vs 60%).

[0057] Os grupos tratados com doses moderada e elevada de THCV BDS tiveram uma menor pontuação de gravidade da crise de 4,75 ($P > 0,5$ vs controlo) e uma menor taxa de mortalidade de 50%, comparativamente a 6 e 60%, respectivamente.

Resumo e conclusão *in vivo*

[0058] O teste de THCV BDS no modelo PTZ não pareceu ter um efeito significativo anti-convulsivo ou pró-convulsivo, tanto nas crises moderadas, como nas graves induzidas por PTZ. Contudo, uma tendência no sentido de uma menor gravidade e mortalidade foi observada em animais que receberam uma dose reduzida de THCV BDS antes da indução de crises graves (80 mg/kg PTZ), comparativamente a controlos de veículo.

[0059] É possível que este efeito seja mascarado em doses mais elevadas de THCV BDS por níveis mais elevados de outros constituintes canabinóides (como o THC) presente no conteúdo não-THCV da THCV BDS. Doses mais elevadas de THCV BDS irão conter doses crescentes de conteúdo não-THCV, como THC, que pode impedir quaisquer efeitos positivos potenciais da THCV.

Exemplo 2 - THCV (pura) Incluído apenas a título de comparação

Efeito da THCV pura contra crises induzidas por PTZ

[0060] Foram avaliadas doses reduzidas (0,025 mg/kg), moderadas (0,25 mg/kg) e elevadas (2,5 mg/kg) de THCV pura quanto aos seus efeitos sobre crises induzidas por PTZ. Importa referir aqui, para comparações com o Exemplo 1 (THCV BDS), que foram usadas doses diferentes de THCV pura comparativamente a THCV BDS. Consultar a Tabela 2 abaixo.

Tabela 2. Comparação das doses de THCV BDS e THCV pura usadas no modelo PTZ

Teste CB	Dose "reduzida" (mg/kg)	Dose "moderada" (mg/kg)	Dose "elevada" (mg/kg)
THCV BDS	0,25	2,5	25
THCV Pura	0,025	0,25	2,5

[0061] Os valores apresentados referem-se ao teor efectivo de THCV das doses (assim, as doses reais de THCV BDS são aproximadamente 1,5 vezes superiores).

[0062] 80 mg/kg de PTZ induziram com êxito crises de gravidades variáveis em animais de todos os 4 grupos experimentais (n=16 por grupo). As crises induzidas por PTZ levaram à morte 44% dos animais que receberam apenas o veículo. Os grupos que receberam uma dose reduzida, moderada e elevada de THCV exibiram todos taxas de

mortalidade inferiores a 41%, 33% e 38%, respectivamente; contudo, estes valores não foram significativamente diferentes dos do grupo veículo ($p > 0,05$, teste binomial).

[0063] Os valores médios da latência até ao primeiro sinal de crise e até pontuações de [3] e [5] na escala de classificação de crises usada, assim como a duração da crise para animais que sobreviveram, estão descritos nas Figs 9A-D.

[0064] Pode ser observado que as crises começaram mais tarde, como mostra a latência maior até à primeira manifestação de comportamento de tipo crise (Fig. 9A) em animais que receberam THCV comparativamente a controlos veículo.

[0065] O atraso do início foi significativo na dose mais elevada de THCV ($p = 0,02$). Foi observado um padrão similar para latências até pontuações de [3] e [5] (Figs. 9B e 9C) com todas as doses de THCV a exibirem latências maiores, atingindo um nível significativo na dose mais elevada de THCV ($p = 0,017$ e $0,013$ para [3] e [5] respectivamente).

[0066] Também foi observado que a duração de crises induzidas por PTZ em animais que sobreviveram ao período experimental foi significativamente mais curta após administração da dose moderada de THCV, comparativamente a controlos veículo (Figura 9D; $p = 0,03$).

[0067] A Tabela 3 abaixo apresenta os valores para gravidade de crise mediana em cada grupo experimental.

Tabela 3. Gravidade e incidência da crise

	Veículo	0,025 mg/kg de THCv	0,25 mg/kg de THCv	2,5 mg/kg de THCv
Gravidade mediana	4,25	3,5	3,5	3,5
% sem crise	12,5	5,9	33,3*	18,8

[0068] São apresentadas as gravidades medianas máximas e % de animais que não experimentaram quaisquer sinais de crise para cada grupo experimental (n=16 para cada valor). *indica diferença significativa em relação ao grupo veículo (teste binomial de significância, $P < 0,05$).

[0069] Os animais de controlo com veículo exibiram uma gravidade de crise mediana de 4,25, ao passo que todos os grupos que receberam THCv tiveram uma pontuação de gravidade mediana de 3,5. Esta redução não foi significativamente diferente.

[0070] 12,5% dos animais de controlo com veículo não apresentaram quaisquer indicadores de crise, sugerindo que estes animais não desenvolveram crises após a administração de PTZ. Um número significativamente mais elevado de animais (33,3%) não exibiu sinais de crise no grupo que recebeu 0,25 mg/kg (Tabela 3; $p = 0,031$). Estes dados sugerem que a dose moderada de 0,25 mg/kg de THCv protegeu contra o desenvolvimento de crises.

Resumo e conclusão *in vivo*

[0071] Os efeitos da dose elevada de THCv nos valores de latência sugerem que a THCv pode retardar tanto o início como o desenvolvimento de crises, enquanto os efeitos significativos da dose moderada na incidência de crise em

doses moderadas (0,25 mg/kg) de THCV sugerem uma acção significativa anti-convulsiva em crises induzidas por PTZ.

Exemplo 3 – CBD (puro)

[0072] Em adição a THCV, CBD foi também testado no modelo PTZ. Os resultados indicam fortemente que CBD (a níveis de 100mg/kg) neste modelo é anti-convulsivo, já que reduz significativamente a taxa de mortalidade e incidência das crises mais graves, comparativamente a animais de controlo com veículo.

Efeito do CBD puro contra crises induzidas por PTZ

[0073] CBD puro foi injectado por via intraperitoneal (IP) no veículo padrão (1:1:18 etanol: Cremofor: NaCl a 0,9% p/v) a doses de 1, 10 e 100 mg/kg juntamente com animais que receberam o veículo isoladamente num volume correspondente (n=15 para cada grupo). 60 minutos mais tarde foi administrado PTZ (80mg/kg, IP).

[0074] 46,7% dos animais de controlo que receberam o veículo isoladamente morreram no prazo de 30 minutos da administração de PTZ (Fig. 10). Em contraste, apenas 6,7% (apenas 1 de 15) dos animais que receberam 100 mg/kg de CBD morreram, uma redução marcada que revelou ser significativa ($p<0,001$).

[0075] Adicionalmente, apenas 6,7% de animais que receberam 100 mg/kg de CBD experimentaram as crises mais

graves (pontuação de 5) em comparação com 53,3% de animais de controlo com veículo, uma redução que foi igualmente significativa ($p < 0,001$; Fig. 10 *in vivo*).

[0076] Em contraste com a THCV pura, não foram observados aumentos significativos na latência do desenvolvimento de crise. Contudo, as reduções marcadas e significativas indicam um efeito anti-convulsivo notável nas crises induzidas por PTZ.

[0077] O teste e a análise do CBD puro no modelo PTZ em dose elevada (100 mg/kg) de CBD nos níveis de mortalidade e incidência das crises mais grave sugerem que o CBD pode atenuar a gravidade das crises induzidas por PTZ.

Modelo de pilocarpina - Exemplos 4 e 5

Exemplo 4 - THCV pura Incluído apenas a título de comparação

Efeito da THCV pura contra crises induzidas por pilocarpina

[0078] THCV pura foi injectada por via intraperitoneal (IP) no veículo padrão (1:1:18 etanol:Cremofor:NaCl a 0,9% p/v) em doses de 0,025, 0,25 e 2,5mg/kg, juntamente com animais que receberam o veículo isoladamente num volume correspondente ($n \geq 14$ para cada grupo). 15 minutos depois foi administrada metilscopolamina (1 mg/kg; para reduzir os efeitos muscarínicos periféricos da pilocarpina) seguido, 45 minutos mais tarde, pela administração de pilocarpina (380 mg/kg, IP).

Resultados

[0079] Não foi observado qualquer efeito significativo da THCV em qualquer dose sobre a latência até ao início da crise ($P > 0,5$ para todas as doses vs controlo; ANOVA unidireccional com teste *post-hoc* de Tukey). Não foi observada uma alteração significativa na percentagem de mortalidade vs controlo para qualquer dose de THCV (Figura 11).

[0080] Adicionalmente, a THCV não teve qualquer efeito na gravidade máxima média da crise alcançada por grupo de animais (Figura 12).

[0081] A percentagem de animais em cada grupo que atinge um estado de crise específico (clónus unilateral de membro dianteiro, clónus bilateral dos membros dianteiros, clónus bilateral dos membros dianteiros com empinamento, queda e expressão tónico-clónica) foi igualmente avaliada (Figura 13A-D).

[0082] A THCV não causou alterações significativas na percentagem de animais que apresentam clónus unilateral de membro dianteiro, clónus bilateral dos membros dianteiros ou crises tónico-clónicas em qualquer dose. Curiosamente, 0,25 mg/kg de THCV causaram um aumento significativo na percentagem de animais que apresentam clónus bilateral dos membros dianteiros com empinamento e queda, embora este efeito não tenha sido observado em qualquer outra dose.

Exemplo 5 - CBD Puro

Efeito do CBD puro contra crises induzidas por pilocarpina

[0083] CBV puro foi injectado por via intraperitoneal (IP) no veículo padrão (1:1:18 etanol:Cremofor:NaCl a 0,9% p/v) em doses de 1, 10 e 100 mg/kg, além de animais que receberam o veículo isoladamente num volume correspondente ($n \geq 14$ para cada grupo). 15 minutos mais tarde foi administrada metilscopolamina (1 mg/kg; para reduzir os efeitos muscarínicos periféricos da pilocarpina) seguido, 45 minutos mais tarde, pela administração de pilocarpina (380 mg/kg, IP).

Resultados

[0084] Não foi observado qualquer efeito significativo do CBD em qualquer dose sobre a latência até ao início da crise ($P > 0,5$ para todas as doses vs controlo; ANOVA unidireccional com teste *post-hoc* de Tukey). Um aumento significativo na percentagem de mortalidade vs controlo foi observado para a dose de 10 mg/kg de CBD como representado na Figura 14.

[0085] A Figura 15 especifica que o CBD não teve qualquer efeito na gravidade máxima média da crise alcançada por grupo de animais.

[0086] As Figuras 16 A-D apresentam a percentagem de animais em cada grupo que atingiu estados de crise específicos (clónus unilateral de membro dianteiro, clónus

bilateral dos membros dianteiros, clónus bilateral dos membros dianteiros com empinamento, queda e expressão tónico-clónica).

[0087] O CBD causou reduções significativas na percentagem de animais que apresentam clónus unilateral de membro dianteiro a doses de CBD >1 mg/kg. Curiosamente, embora não tenham sido encontradas diferenças significativas na percentagem de animais que exibem clónus bilateral dos membros dianteiros, a percentagem de animais que manifestam clónus bilateral dos membros dianteiros com empinamento e queda foi significativamente reduzida em todas as doses de CBD >1 mg/kg. A percentagem de animais que exibiu crises tónico-clónicas foi significativamente reduzida com doses de CBD de 1 mg/kg e 100 mg/kg, mas não de 10 mg/kg (c.f. Figura 14).

[0088] Os efeitos do CBD nos eventos de crise tónico-clónica, através do exame da frequência média de eventos tónico-clónicos, são apresentados na Figura 17. O CBD causou uma redução significativa na frequência tónico-clónica média em todas as doses testadas. Os efeitos do CBD sobre a frequência média de todas as outras pontuações de crise foram igualmente avaliados do mesmo modo, mas não foram encontradas diferenças significativas vs controlo ($P > 0,5$ para todos).

[0089] Foi examinada a percentagem da duração de tempo decorrido num estado tónico-clónico comparativamente à duração total do período da crise (Figura 18). O CBD reduziu significativamente a percentagem de duração com doses de 1 mg/kg e 100 mg/kg, mas não de 10 mg/kg.

Exemplo 6

Modelo de penicilina - Exemplo 6 (apenas)

Exemplo 6 - CBD Puro

Efeitos do CBD puro sobre crises induzidas por penicilina

[0090] CBD (1, 10 e 100 mg/kg) ou veículo de CBD (1:1:18 etanol:Cremofor: NaCl a 0,9% p/v) foi administrado *i.p.* a ratos Wistar macho adultos (>250g). Uma semana antes disto, foi implantada cirurgicamente uma cânula no ventrículo lateral direito dos animais sob anestesia. Uma hora após a administração de CBD, foram infundidas 150 UI de penicilina no ventrículo lateral direito em 1,5 ml de solução salina ao longo de um minuto e o comportamento de crise foi registado em vídeo durante duas horas.

[0091] Após um exame detalhado das respostas do animal à penicilina isoladamente (usando dados obtidos dos grupos de controlo com veículo) foi derivada uma escala final de classificação das crises para crises parciais induzidas por penicilina. O sistema de classificação que se segue, que foi derivado de vários sistemas de classificação existentes e publicados para este modelo, será assim usado para análise dos efeitos da substância nessas crises.

Escala de classificação de crises para crises parciais induzidas pela penicilina.

[0092]

0	Período de latência
1	Correr/saltar descontroladamente
2	Fase mioclónica
3	Clónus unilateral de membro dianteiro
4	Clónus bilateral dos membros dianteiros
5	Crise tónico-clónica com controlo postural
6	Crise tónico-clónica com controlo postural

[0093] Sete dos doze animais tratados com veículo desenvolveram as crises mais graves (crises tónico-clónicas sem controlo postural; Figura 19 A), ao passo que a administração de 100 mg/kg de CBD impediu completamente o desenvolvimento destas crises, de um modo significativo ($p=0,001$). Foram observadas reduções quase significativas no desenvolvimento destas crises em animais tratados com 1 e 10 mg/kg de CBD (Figura 16A, $p=0,076$ para ambos). A frequência com a qual os animais sofreram crises mais graves também foi significativamente afectada (ANOVA, $p=0,009$; Figura 19 B), com uma redução significativa comparativamente com o grupo veículo a 100 mg/kg de CBD ($p=0,006$) e um efeito quase significativo a 10 mg/kg ($p=0,071$).

[0094] O efeito do tratamento com CBD na gravidade das crises e mortalidade animal é descrito na Figura 20 A-C. Uma dose de 100 mg/kg de CBD reduziu significativamente a gravidade mediana de crises induzidas por penicilina comparativamente a animais tratados com veículo (ANOVA $p=0,024$; diferença entre veículo e 100 mg/kg de CBD $p=0,012$; Figura 20 A). Sugestivamente, todas as doses de CBD (1, 10 e 100 mg/kg) aumentaram significativamente a proporção de animais que se mantiveram livres de crise

($p < 0,001$ para todas as doses; Figura 20 B). Finalmente, 100 mg/kg tiveram um efeito quase significativo na mortalidade comparativamente ao veículo ($p = 0,057$).

Conclusão geral

[0095] Estes estudos sugerem que tanto a THCV (pura) como o CBD (puro) são prometedores como anti-epilépticos para crise generalizadas, particularmente crises tónico-clónicas. Os dados gerados para um extracto rico em THCV, que contém outros canabinóides incluindo quantidades significativas de THC, sugerem que o THC pode estar a contrariar o efeito da THCV e que seria desejável para o tratamento da epilepsia um extracto de canabinóide que contenha THCV como canabinóide principal ou predominante, mas que contenha igualmente apenas uma quantidade mínima de THC ou substancialmente nenhum THC.

[0096] Além disso, os resultados com CBD puro sugerem que um extracto que contenha quantidades significativas tanto de THCV como de CBD, mas novamente quantidades mínimas de THC ou sem THC, pode fornecer uma combinação óptima. Deste modo, pode revelar-se desejável preparar um extracto predominante de THCV no qual o THC é selectivamente, e substancialmente, removido (para níveis inferiores a uma percentagem reduzida). Este extracto poderia ser misturado com um extracto rico em CBD (que contém níveis muito menores de THC) em que o CBD é o canabinóide principal e predominante (igualmente com níveis reduzidos de THC) para produzir um extracto com níveis claramente definidos e significativos tanto de THCV como de CBD, mas com níveis insignificantes de THC. Este extracto pode conter outros canabinóides e componentes não

canabinóides que resultam da extracção, por exemplo, dióxido de carbono como divulgado em W004/016277, cujos componentes podem suportar um efeito de "entourage" no sistema endocanabinóide.

[0097] Quanto à dosagem, um factor de conversão rato/humano (x6) sugere uma dose diária de CBD de pelo menos 600 mg (e opcionalmente entre 400 mg e 800 mg) e para a THCV pelo menos 1,5 mg (dose moderada) até, preferencialmente, pelo menos 15 mg (elevada).

[0098] Quando se pretende usar um extracto fitocanabinóide, é desejável um extracto com níveis reduzidos ou negligenciáveis de THC e níveis terapeuticamente eficazes de THCV e/ou CBD.

[0099] Os dados descritos nos Exemplos acima mostram claramente que embora o CBD demonstre algumas propriedades anti-convulsivas em todos os três modelos testados, parece melhor no tratamento de crises generalizadas ou parciais. Em contraste, a THCV só foi eficaz no modelo PTZ. Esta descoberta sugere que os dois canabinóides podem ter diferentes mecanismos de acção e que a combinação pode permitir tratamentos mais gerais. A este respeito, a THCV parece ser selectiva para crises generalizadas, mais particularmente crises tónico-clónicas, e o CBD parece ser mais eficaz em crises generalizadas e parciais.

BIBLIOGRAFIA

[0100]

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, J P., & RAMSEY, H.H. (1949) *Antiepileptic Action*

of Marijuana-active Substances. Federation Proceedings 8
284-285.

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.

INSTITUTE OF MEDICINE (1999) Marijuana and medicine:
Assessing the science base. National Academy Press.

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 Ver 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 pentylenetetrazole-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.

POHL and MARES (1987) *Epilepsy Res* 1: 302-305.

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. *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 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.

Lisboa,

REIVINDICAÇÕES

1. Canabidiol (CBD) para uso no tratamento de crises parciais em que o CBD está presente numa quantidade que fornece uma dose diária de pelo menos 400 mg.

2. CBD para uso no tratamento de crises parciais como reivindicado na reivindicação 1, em que o CBD está presente numa quantidade que fornece uma dose diária de 400 a 800 mg.

3. CBD para uso no tratamento de crises parciais como reivindicado em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a crise parcial evoluiu para uma crise mais grave.

4. CBD para uso no tratamento de crise parciais como reivindicado em qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o CBD é usado em combinação com THCV.

5. CBD para uso no tratamento da crise parcial como reivindicado na reivindicação 4, em que a THCV está presente numa quantidade que fornece uma dose diária de pelo menos 1,5 mg.

6. CBD para uso no tratamento da crise parcial como reivindicado na reivindicação 5, em que a THCV está presente numa quantidade que fornece uma dose diária de pelo menos 15 mg.

7. CBD para uso no tratamento da crise parcial como reivindicado em qualquer uma das reivindicações 1 a 3, ou

em combinação com THCV como reivindicado em qualquer uma das reivindicações 4 a 6, em que o CBD isoladamente ou em combinação com THCV está presente como um extracto vegetal.

8. CBD para uso no tratamento da crise parcial como reivindicado na reivindicação 7, em que o extracto vegetal compreende menos de 5% por peso de tetrahydrocannabinol (THC) como uma percentagem de quaisquer canabinóides presentes no extracto vegetal.

9. CBD para uso no tratamento da crise parcial como reivindicado na reivindicação 8, em que o extracto vegetal compreende menos de 1% por peso de tetrahydrocannabinol (THC) como uma percentagem de quaisquer canabinóides presentes no extracto vegetal.

10. CBD para uso no tratamento da crise parcial como reivindicado em qualquer uma das reivindicações 1 a 3, isoladamente ou em combinação com THCV como reivindicado em qualquer uma das reivindicações 4 a 6, em que o CBD isoladamente ou em combinação com THCV está presente como um canabinóide puro ou isolado.

11. Uma composição para uso no tratamento da crise parcial compreende canabidiol (CBD).

12. A utilização de canabidiol (CBD) para o fabrico de um medicamento para o tratamento da crise parcial.

Lisboa,

Fig. 1

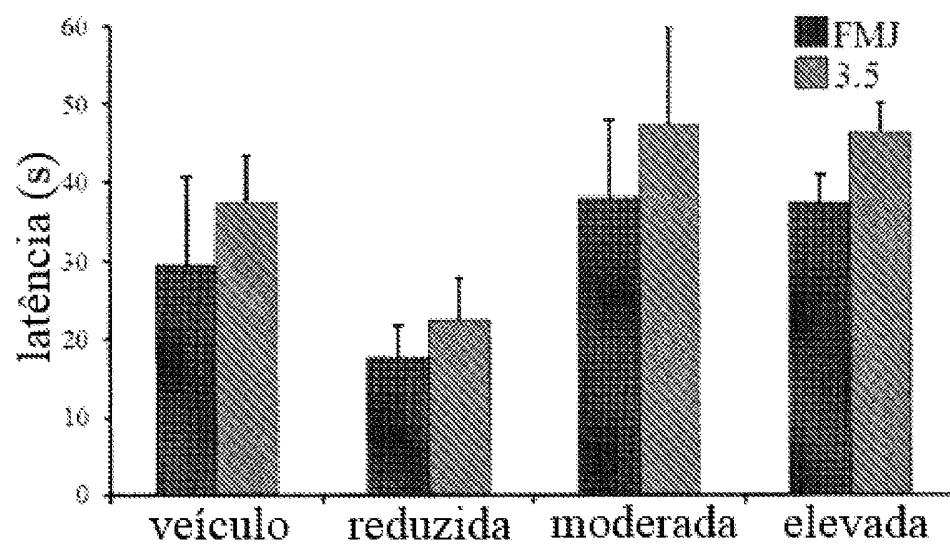


Fig. 2

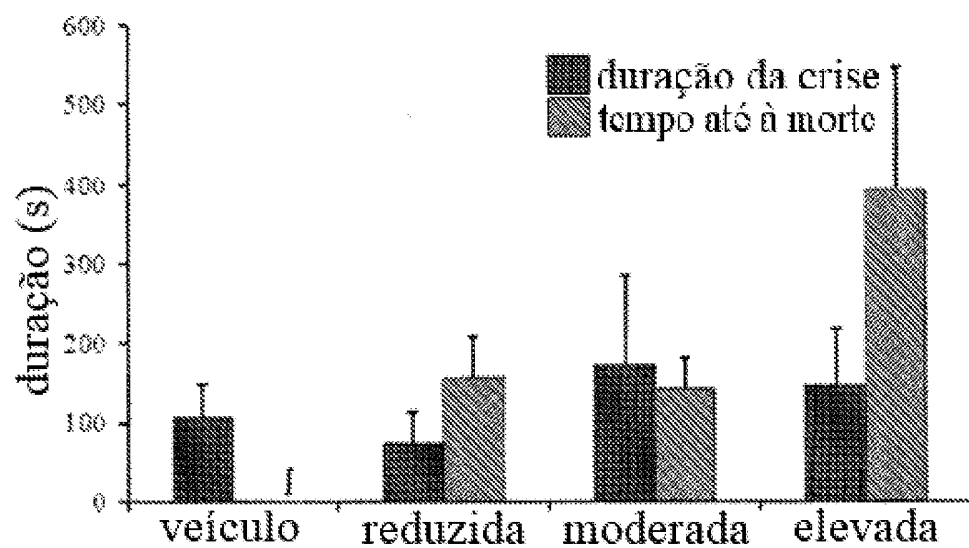


Fig. 3

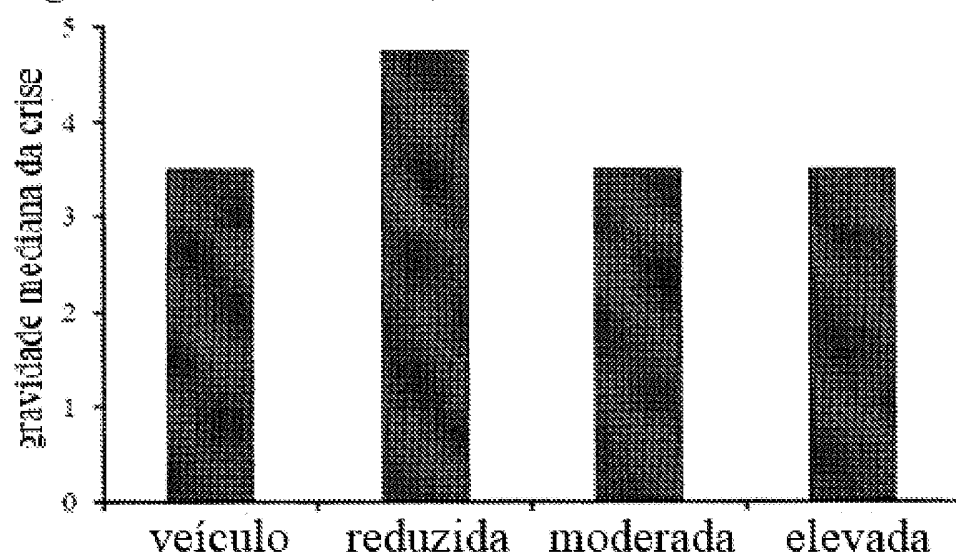


Fig. 4

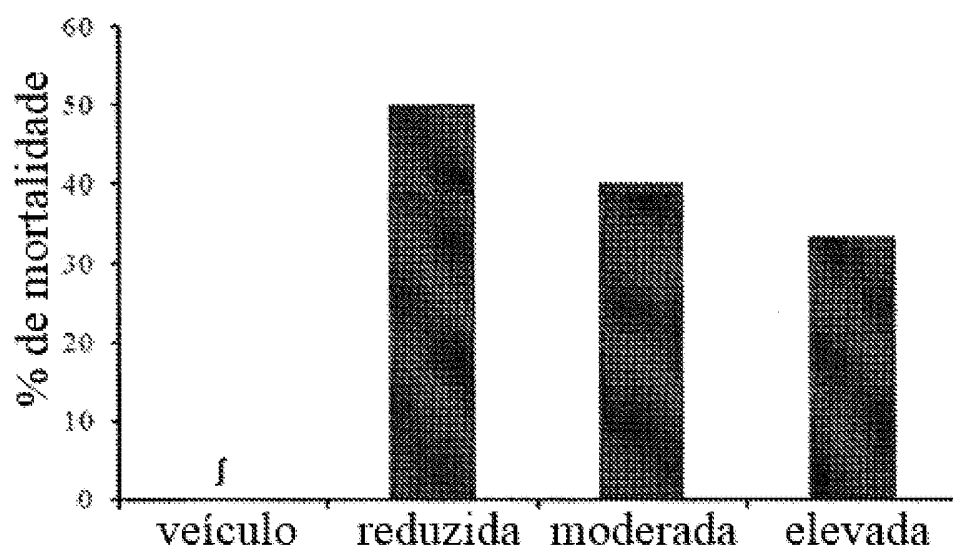


Fig. 5

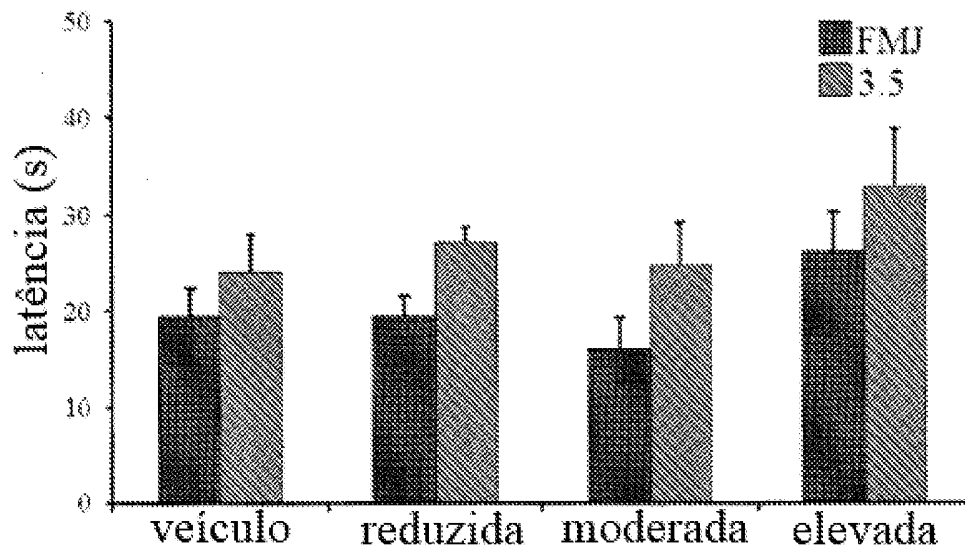


Fig. 6

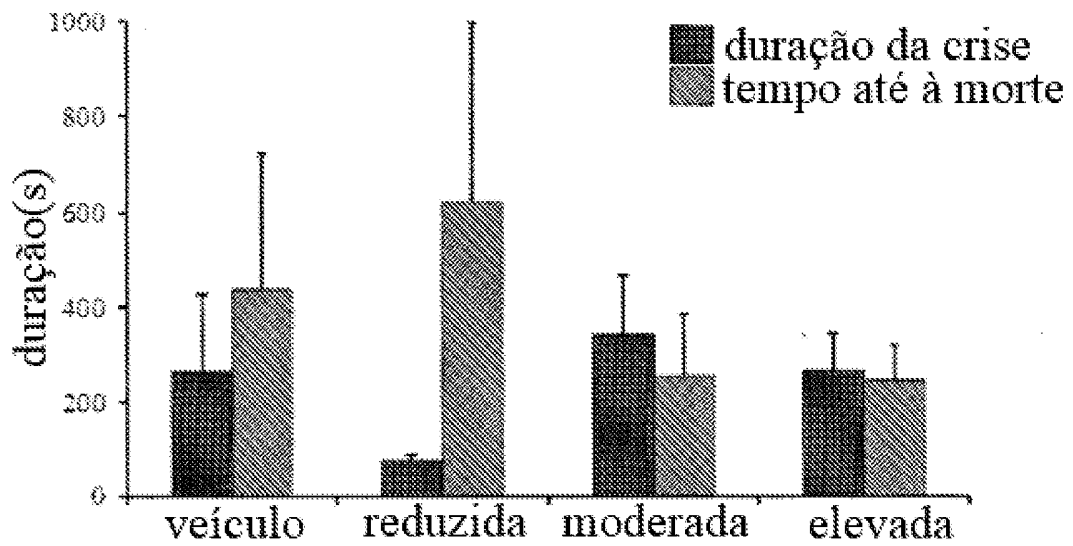


Fig. 7

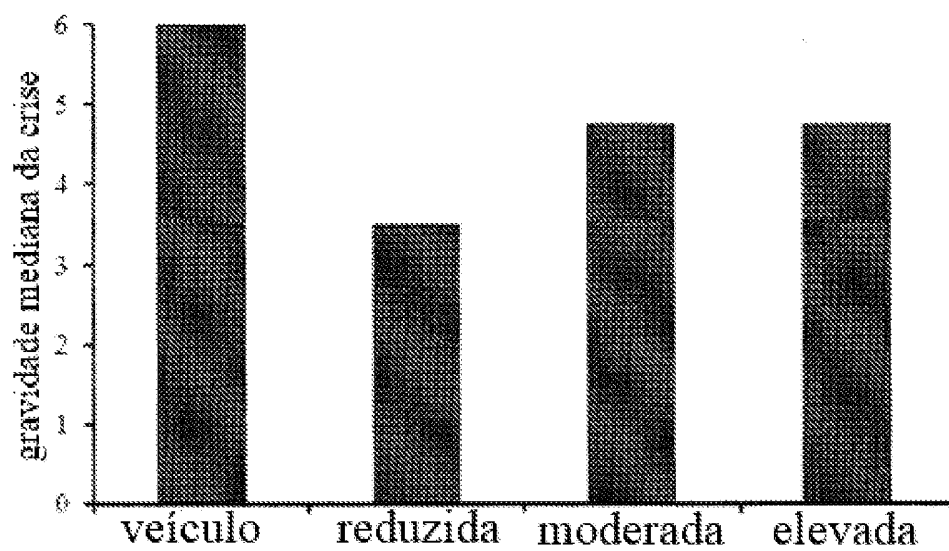


Fig. 8

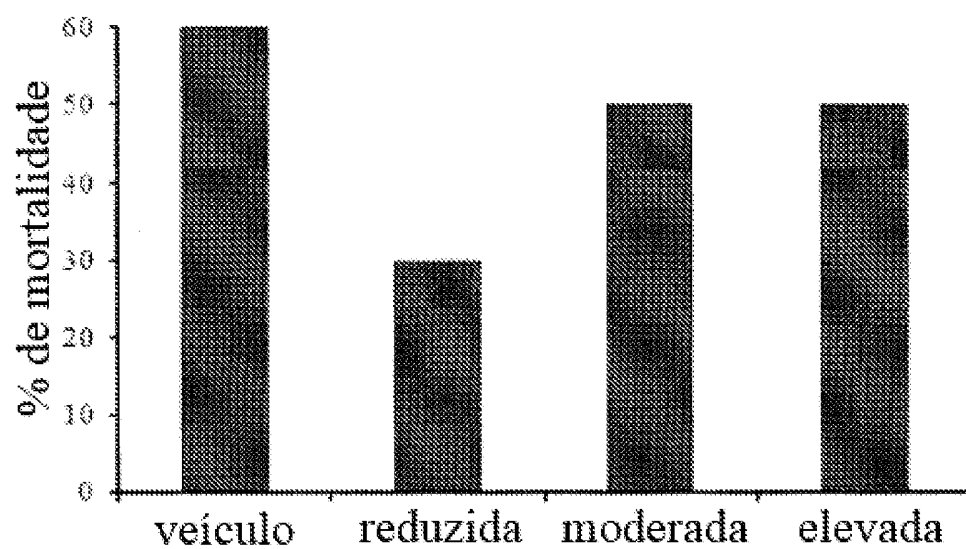


Fig. 9 A-D

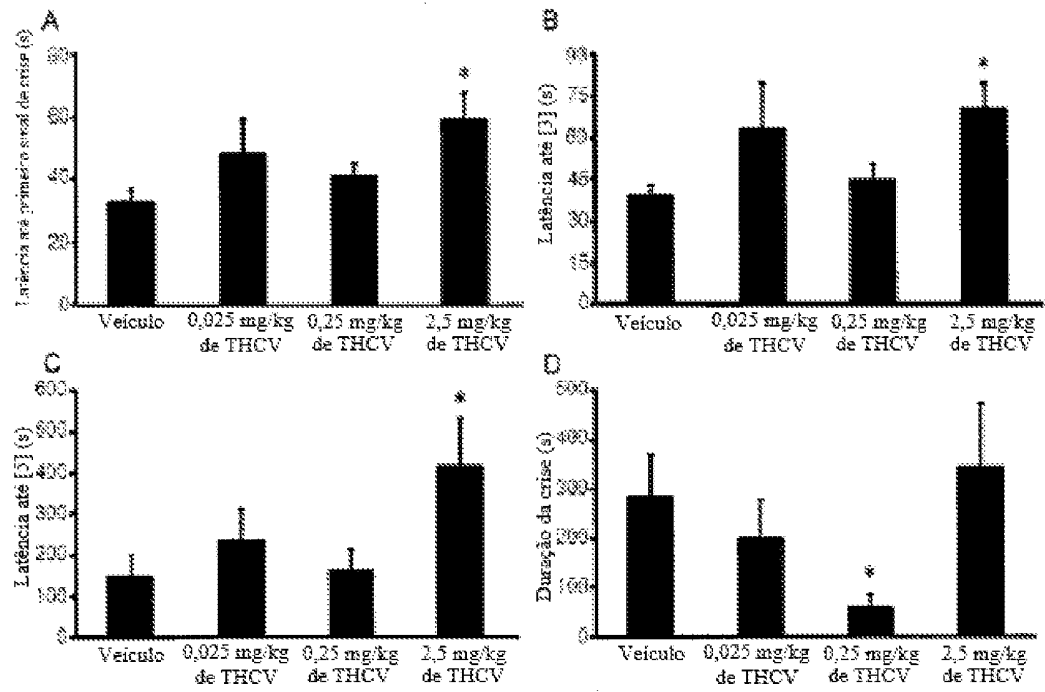


Fig 10 A-B

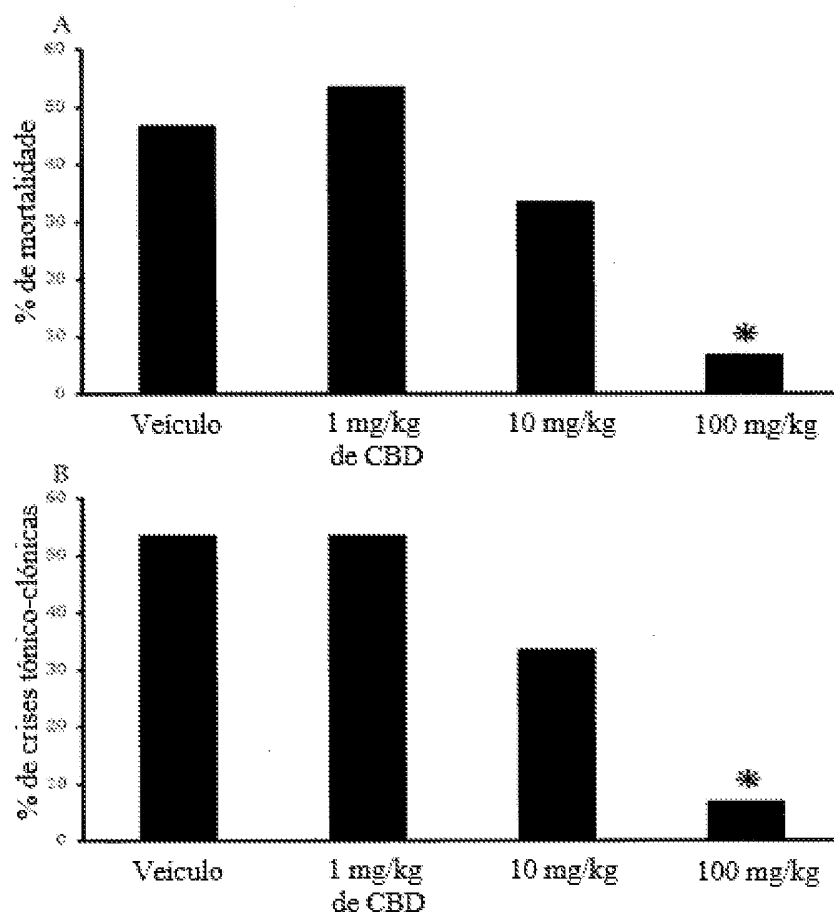


Fig. 11

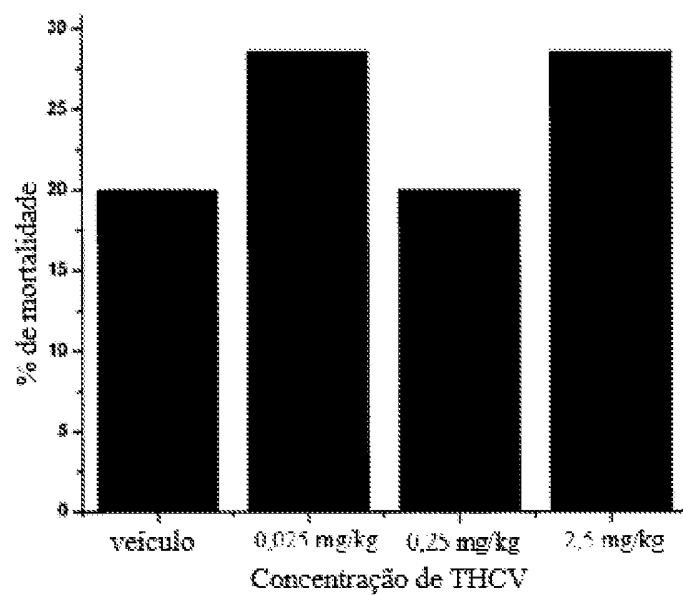


Fig. 12

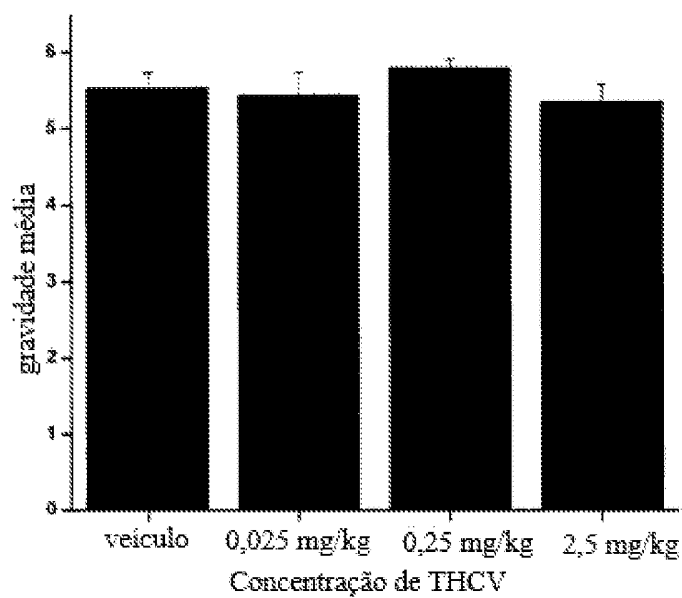
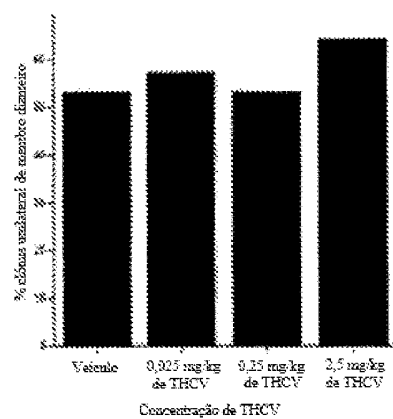
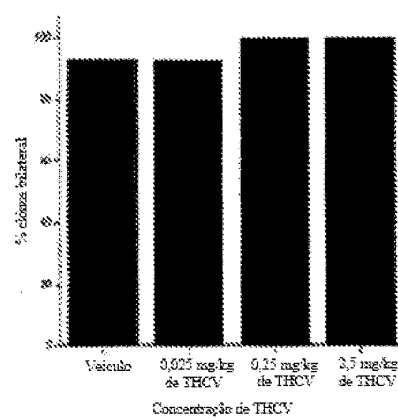


Fig. 13 A-D

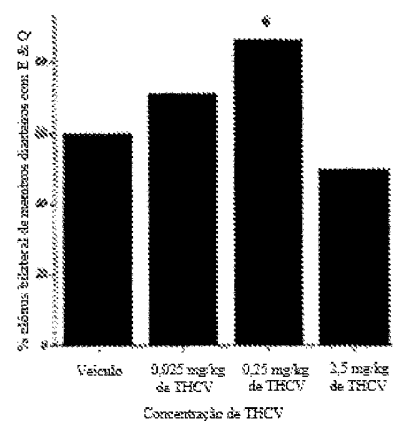
A



B



C



D

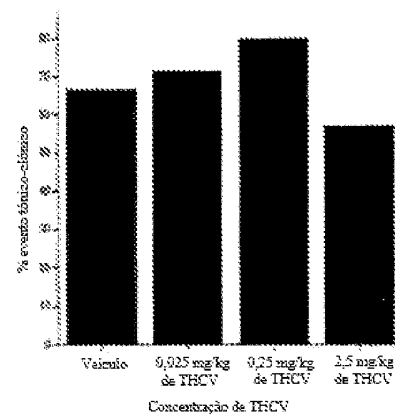


Fig. 14

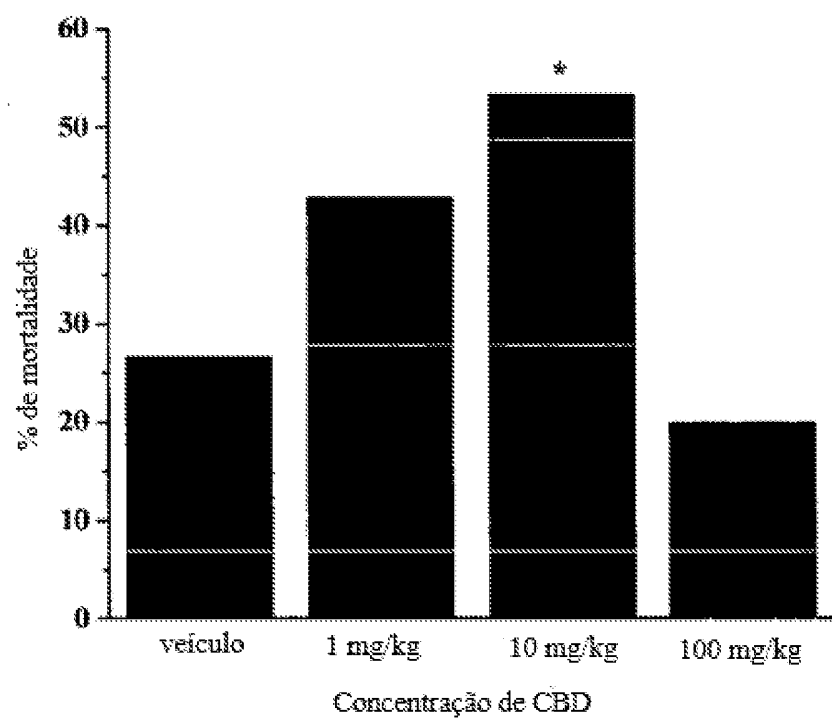


Fig. 15

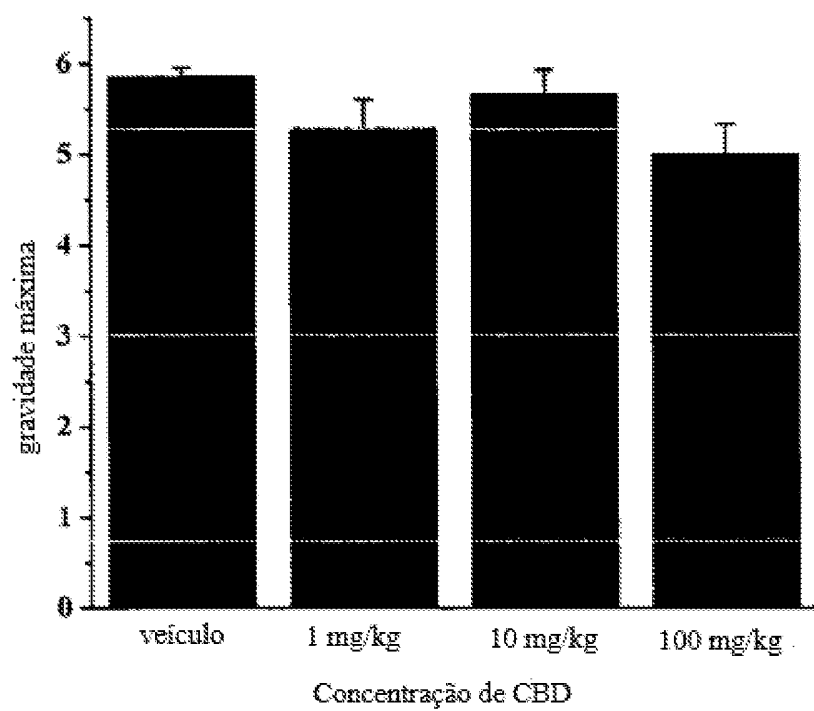
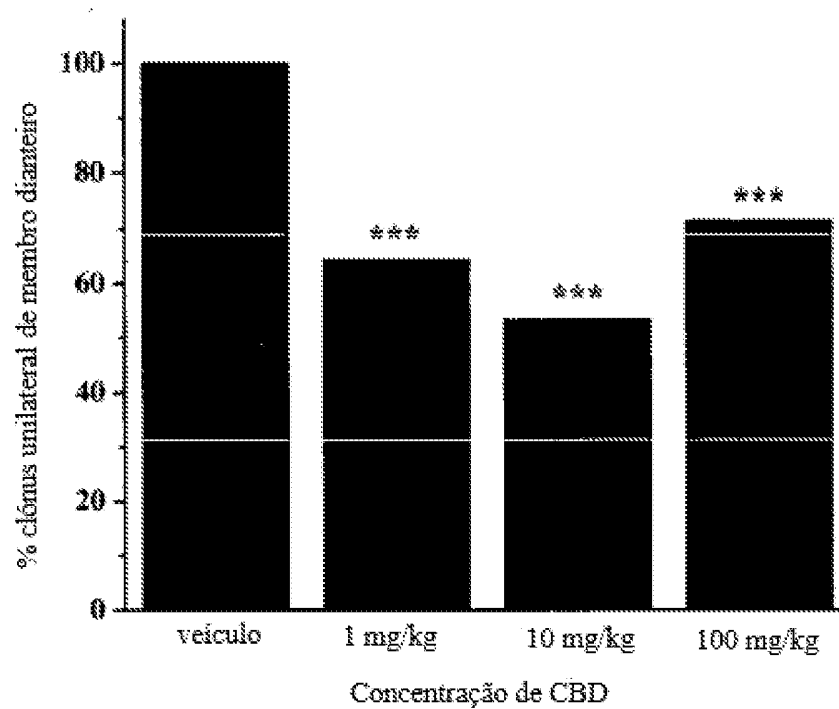
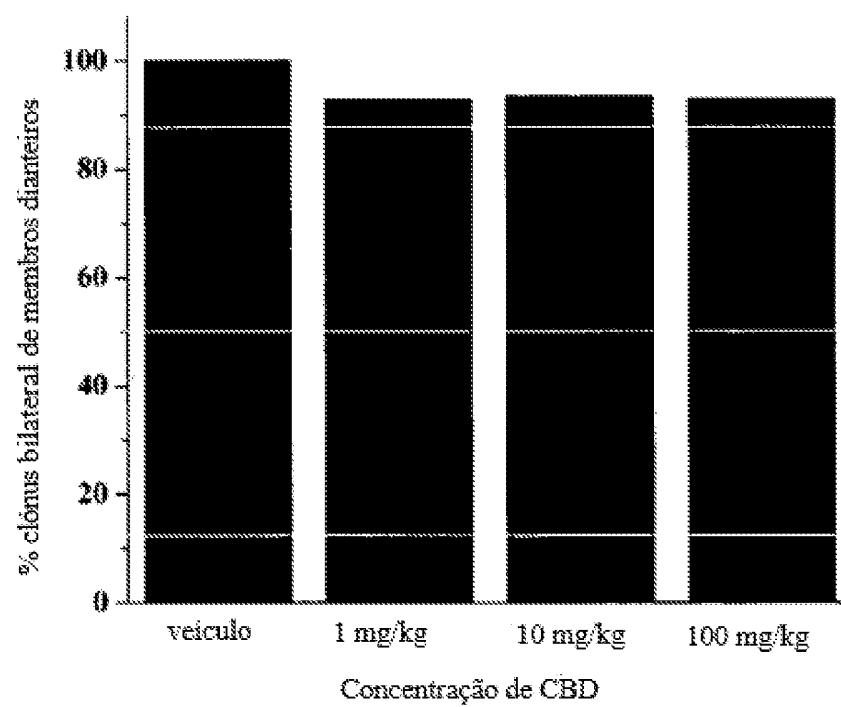


Fig. 16 A-D

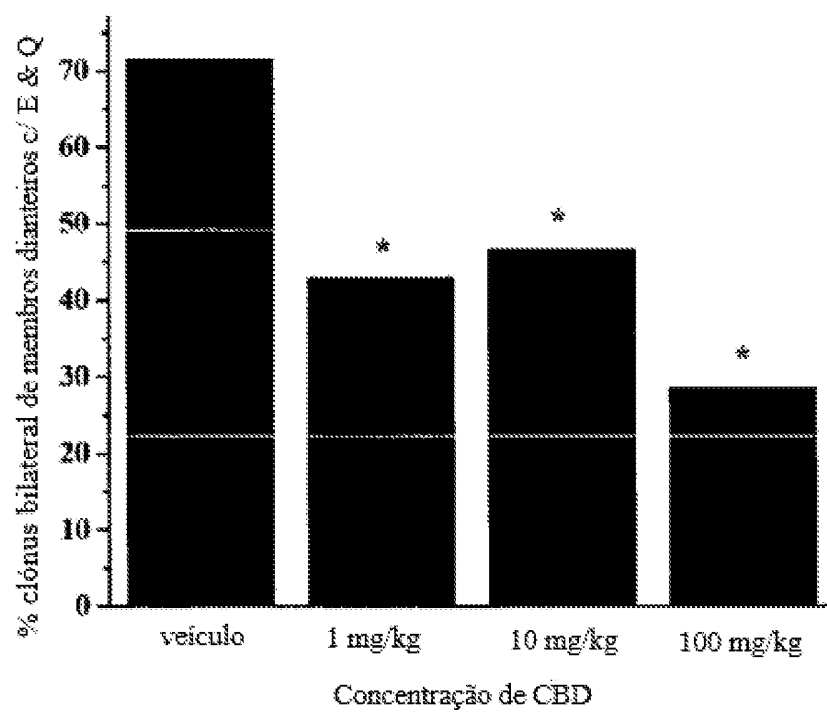
A



B



C



D

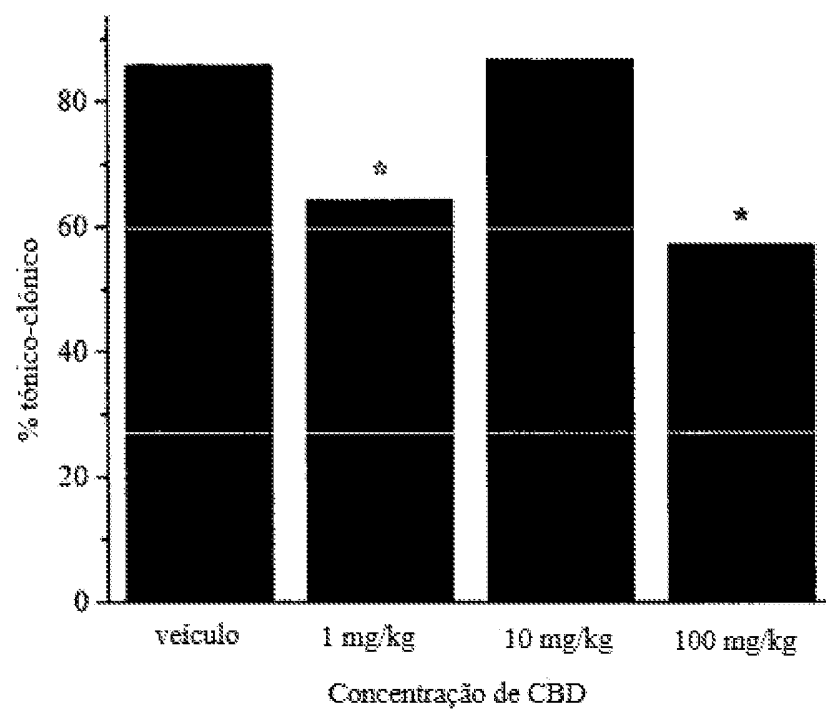


Fig. 17

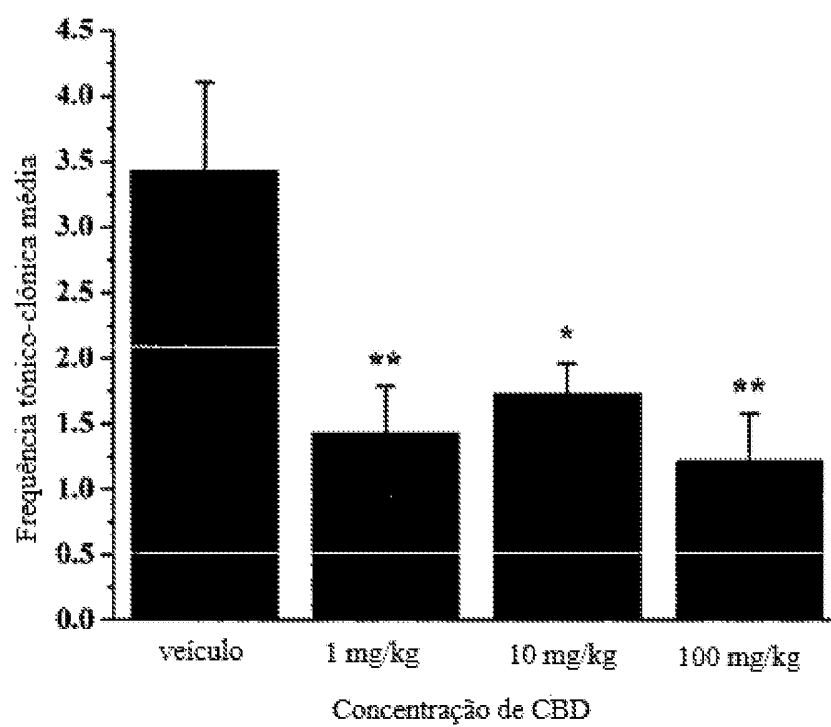


Fig. 18

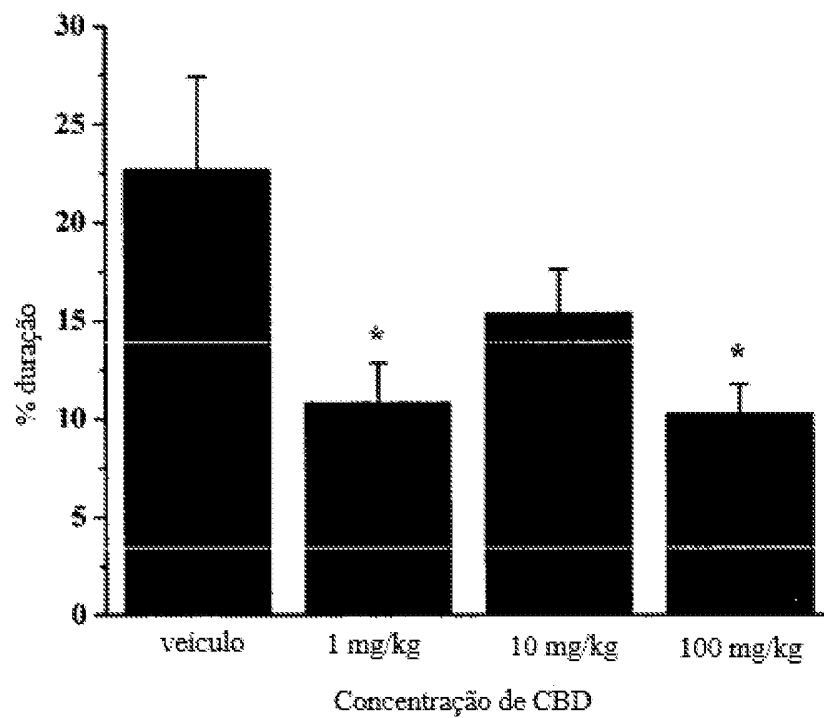


Fig. 19 A-B

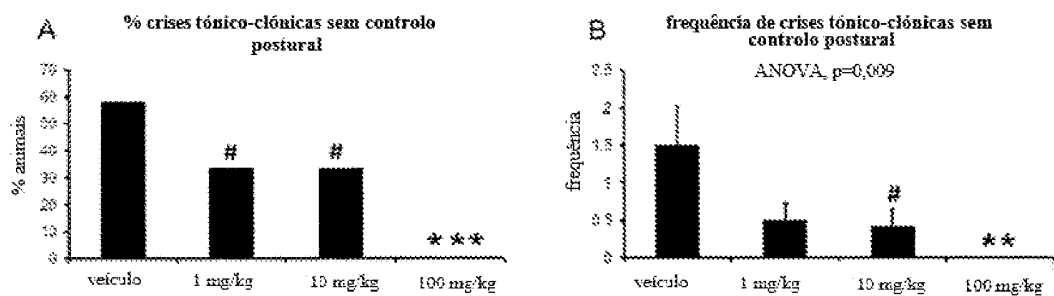


Figure 20 A-C

